

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

ՀԱՏՈՐ LXXII, 4, 2020



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

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԵՍ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

ՀԱՏՈՐ LXXII, 4, 2020

ՀՀ ԳԱԱ «Գիտություն» հրատարակչություն

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

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԿՈԼԵԳԻԱ

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

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԽՈՐՀՈՒՐԴ

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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. Маурапетян, 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, Trchounian A.H., 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 •

Սայադյան Յ.Յ., Հարությունյան Ն.Ա., Վարդանյան Է.Ա., Ավետիսյան Գ.Դ. Լանդշաֆտային պլանավորման կիրառումը Իջևանի պետական արգելավայրի սահմանազատման համար Հայաստանի Տավուշի մարզի անտառային լանդշաֆտներում.....	6
Պիպոյան Ս.Խ. Ձկների կլիմայավարժեցման և ձկնաբուծական միջոցառումները Հայաստանում ու դրանց ազդեցությունը բնիկ ձկնաշխարհի վրա.....	12
Հակոբյան Ն.Ռ., Յավրոյան Ժ.Վ., Հովհաննիսյան Ա.Գ., Սարգսյան Է.Գ., Գևորգյան Է.Ս. Ցիսպլատինի և էստրադիոլի առանձին ու համատեղ ազդեցությունը առնետների երիկամային բջիջներից ստացված բրոմատինի ֆոսֆոլիպիդների ընդհանուր պարունակության վրա.....	18
Չապանյան Ե.Ն. Զայթաված վուշե գործվածքի քանակությունը անտառային դարչնագույն հողերում <i>Bacillus thuringiensis</i> տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ցողումից հետո.....	25
Յանկո Ռ.Վ. Ինտերվալային նորմորարիկ թթվածնաթաղցի և մելատոնինի համակցված ազդեցության սեզոնային տարբերությունները հիպերտենզային առնետների վահանաձև գեղձի մորֆոֆունկցիոնալ վիճակի վրա.....	32
Վարդանյան Ա.Պ., Սարգսյան Է.Դ., Ղալաջյան Լ.Ս. Նեղատերև նարդոսի աճեցման ագրոկենսատեխնոլոգիայի մշակումը կլոնալ միկրոբազմացման և հիդրոպոնիկական մեթոդներով.....	40
Սիմոնյան Ռ.Մ., Չախյան Ս.Գ., Չավուշյան Վ.Ա., Սիմոնյան Կ.Վ., Իսոյան Ա.Ս., Բաբայան Մ.Ա., Սիմոնյան Գ.Մ., Սիմոնյան Մ.Ա. Սուպերօքսիդ-գոյացնող ատոցիատ ՆԱԴՔԻ օքսիդազի և ՆԱԴՔԻ պարունակող լիպոպրոտեինի (ՆՊԼ) միջև մարդկային արյան էրիթրոցիտների ու լեյկոցիտների թաղանթներից. իմունային բջիջների ակտիվացում ՆՊԼ-ով.....	47
Մկրտչյան Լ.Վ., Չաթոյան Ա.Ա., Սարգսյան Ա.Ա., Պարոնյան Մ.Հ., Գյուլխանդանյան Գ.Վ. pH-ը որպես պորֆիրինների ցերուկալազմիկ հետ կոմպլեքսագոյացման կարևոր գործոն ուռուցքների ֆոտոդինամիկ թերապիայի համար.....	55
Անտոնյան Ա.Պ., Շահինյան Մ.Ա., Պետրոսյան Ն.Հ., Վարդանյան Պ.Հ. Մարդու շիճուկային ալբումինի հետ մեթիլ մանուշակագույնի և մեթիլենային կապույտի փոխազդեցության համեմատությունը.....	61
Թադևոսյան Ա.Հ., Ալեքսանյան Զ.Ս., Թովմասյան Ա.Հ., Դարյադար Մ.Խ., Ստեփանյան Ա.Ս. Տնկարկի խտության ազդեցությունը չինական կաղամբի (<i>Brassica Rapa</i> Subsp. <i>Chinensis</i>) բերքավետության վրա բացօթյա հիդրոպոնիկայում	67
Զալանթարյան Ն.Զ., Հարությունյան Բ.Ա., Մինասյան Է.Վ., Ծատուրյան Ա.Հ., Մլադեն Պավլենչիչ, Նենադ Մարդետկո, Գոգիկյան Վ.Բ. <i>Parachlorella kessleri</i> և <i>Chlorella vulgaris</i> միկրոօրգանիզմների միջոցով զարեցրի արտադրության թափոնաջրերի մաքրման հեռանկարների համեմատական գնահատումը.....	72
Շիրվանյան Ա.Հ., Կարապետյան Յ.Ս., [Թադևոսյան Ա.Ա.] Անֆազային ակտիվության և լիպիդների գերօքսիդացման մակարդակի փոփոխությունները երկարատև սակավաշարժության պայմաններում.....	80
Գրիգորյան Մ.Մ. Ծառաբույսերի պարտիզային ձևերի բազմացման առանձնա- հատկությունները Երևանի բուսաբանական այգու պայմաններում.....	85
Գևորգյան Է.Ս., Վարդանյան Պ.Հ. Պրոֆեսոր Գ.Հ. Փանոսյանի հիշատակին.....	92

СОДЕРЖАНИЕ

•Экспериментальные и теоретические статьи•

<i>Саядян О.Я., Арутюнян Н.А., Варданян Е.А., Аветисян Г.Д.</i> Применение ландшафтного планирования для разграничения Иджеванского государственного заказника в лесных ландшафтах Тавушского региона Армении.....	6
<i>Пипоян С.Х.</i> Мероприятия по акклиматизации и рыбоводству в Армении и их влияние на нативную ихтиофауну.....	12
<i>Акопян Н.Р., Явоян Ж.В., Оганесян А.Г., Авагян Г.А., Саргсян Э.Г., Геворгян Э.С.</i> Раздельное и совместное влияние цисплатина и эстрадиола на содержание фосфолипидов хроматина клеток почек крыс.....	18
<i>Чапаян Е.Н.</i> Количество разложившейся льняной ткани в коричневых лесных почвах после опрыскивания бактериальными инсектицидами вида <i>Bacillus thuringiensis</i>	25
<i>Янко Р.В.</i> Сезонные различия сочетанного воздействия интервальной нормобарической гипоксии и мелатонина на морфофункциональное состояние щитовидной железы гипертензивных крыс.....	32
<i>Варданян А.П., Саргсян Э.Д., Калачян Л.М.</i> Разработка агrobiотехнологии выращивания лаванды узколистной методами клонального микроразмножения и гидропоники.....	40
<i>Симонян Р.М., Чахляян С.Г., Чавушян В.А., Симонян К.В., Исоян А.С., Бабалян М.А., Симонян Г.М., Симонян М.А.</i> Супероксид-продуцирующий ассоциат между NADPH оксидазой и NADPH содержащим липопротеином (НСЛ) из мембран лейкоцитов и эритроцитов крови человека: активирование клеток иммунной системы НСЛ-ом.....	47
<i>Мкртчян Л.В., Закоян А.А., Саргсян А.А., Паронян М.Г., Гюльханданян Г.В.</i> pH как важный фактор для комплексообразования порфиринов с церулоплазмином для фотодинамической терапии опухолей.....	55
<i>Антонян А.П., Шагинян М.А., Петросян Н.Р., Вардеванян П.О.</i> Сравнение взаимодействия метильного фиолетового и метиленового синего с сывороточным альбумином человека.....	61
<i>Тадевосян А.О., Алексанян Дж.С., Товмасын А.О., Дарядар М.Х., Степанян А.С.</i> Влияние густоты посадки на урожайность китайской капусты (<i>Brassica Rapa subsp. Chinensis</i>) в открытой гидропонике.....	67
<i>Калантарян Н.К., Арутюнян Б.А., Минасян Э.В., Цатурян А.О., Младен Павлечич, Ненад Мардетко, Гогинян В.Б.</i> Сравнительная оценка возможности очистки сточных вод пивоваренных заводов микроводорослями <i>Parachlorella kessleri</i> и <i>Chlorella vulgaris</i>	72
<i>Ширванян А.А., Карапетян А.М., Грчунян А.А.</i> Изменение АТФазной активности и перекисного окисления липидов в условиях длительной гипокинезии.....	80
<i>Григорян М.М.</i> Особенности размножения садовых форм древесных растений в условиях Ереванского Ботанического сада.....	85
<i>Геворгян Э.С., Вардеванян П.О.</i> Памяти профессора Г.А. Паносяна.....	92

CONTENTS

•Experimental and theoretical articles•

<i>Sayadyan H.Y., Harutyunya N.A., Vardanyan E.A., Avetisyan G.D.</i> Application of landscape planning for the delineation of Ijevan state sanctuary in the forest landscapes of Tavush region, Armenia.....	6
<i>Pipoyan S.Kh.</i> Acclimatization and fish farming activities in Armenia and their impact on native ichthyofauna.....	12
<i>Hakobyan N.R., Yavroyan Zh. V., Hovhannisyan A.G., Sargsyan E.G., Gevorgyan E.S.</i> Cisplatin and estradiol separate and joint action on phospholipids content of chromatin preparation from rat kidney cells.....	18
<i>Chapanyan E.N.</i> The quantity of the decomposed flax fiber in the brown forest soils after spraying with insecticide of <i>Bacillus thuringiensis</i>	25
<i>Yanko R.V.</i> Seasonal differences of the combined effects of interval normobaric hypoxia and melatonin on the morphofunctional state of the thyroid in hypertensive rats.....	32
<i>Vardanyan A.P., Sargsyan E.D., Ghalachyan L.M.</i> Elaboration of agrobiotechnology cultivation of narrow-leaved lavender by clonal micropropagation and hydroponic methods.....	40
<i>Simonyan R.M., Chailyan S.G., Chavushyan V.A., Simonyan K.V., Isoyan A.S., Babayan M.A., Simonyan G.M., Simonyan M.A.</i> Superoxide producing associate between NADPH oxidase and NADPH containing lipoprotein (NCL) from human blood erythrocytes and leukocytes membranes: activation of immune cells by NCL.....	47
<i>Mkrtchyan L.V., Zakoyan A.A., Sargsyan A.A., Paronyan M.H., Gyulkhandanyan G.V.</i> pH as the important factor for the complexation of porphyrins with ceruloplasmin for photodynamic therapy of tumor.....	55
<i>Antonyan A.P., Shahinyan M.A., Petrosyan N.H., Vardevanyan P.O.</i> Comparison of interaction of methyl violet and methylene blue with human serum albumin.....	61
<i>Tadevosyan A.H., Alexanyan J.S., Tovmasyan A.H., Daryadar M.Kh., Stepanyan A.S.</i> The influence of planting density on the yield of the chinese cabbage (<i>Brassica Rapa</i> subsp. <i>Chinensis</i>) in open-air hydroponics.....	67
<i>Kalantaryan N.K., Harutyunyan B.A., Minasyan E.V., Tsaturyan A.H., Pavlečić M., Mardetko N., Goginyan V.B.</i> Comparative Assessment of Brewery Wastewater Treatment Potential by Microalgae <i>Parachlorella kessleri</i> and <i>Chlorella vulgaris</i>	72
<i>Shirvanyan A.A., Karapetyan H.M., Trchounian A.H.</i> Changes of ATPase activity and lipid peroxidation in conditions of long-term hypokinesia.....	80
<i>Grigoryan M.M.</i> Characteristics of breeding of woody plants' garden forms in conditions of Yerevan Botanical garden.....	85
<i>Gevorgyan E.S., Vardevanyan P.H.</i> In memory of professor G.H.Panosyan.....	92



Биолог. журн. Армении, 4 (72), 2020

ПРИМЕНЕНИЕ ЛАНДШАФТНОГО ПЛАНИРОВАНИЯ ДЛЯ РАЗГРАНИЧЕНИЯ ИДЖЕВАНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ЗАКАЗНИКА В ЛЕСНЫХ ЛАНДШАФТАХ ТАВУШСКОГО РЕГИОНА АРМЕНИИ

О.Я. САЯДЯН, Н.А. АРУТЮНЯН, Е.А. ВАРДАНЯН, Г.Д. АВЕТИСЯН

Ереванский госуниверситет, кафедра физической географии и гидрометеорологии
elmira.vardanyan22@mail.ru

Статья посвящена определению границ Иджеванского государственного заказника Тавушской области РА, методологической основой которой стала концепция ландшафтного планирования. За последние годы уникальные и разнообразные лесные ландшафты области, вследствие неустойчивого управления природными ресурсами, подверглись антропогенным изменениям. Тем не менее, эффективное управление заказником может способствовать сохранению биоразнообразия, а также содействовать устойчивому развитию туризма и органического сельского хозяйства в регионе.

Иджеванский заказник – ландшафтное планирование – биоразнообразие – лесные ландшафты

Հոդվածը նվիրված է ՀՀ Տավուշի մարզի էջևանի պետական արգելավայրի սահմանների առանձնացմանը, որի համար մեթոդաբանական հիմք է հանդիսացել լանդշաֆտային պլանավորման հայեցակարգը: Վերջին տարիների ընթացքում մարզի եզակի և բազմազան անտառային լանդշաֆտները բնական ռեսուրսների անկայուն կառավարման հետևանքով ենթարկվել են անթրոպոգեն փոփոխությունների: Այդուհանդերձ, արգելավայրի արդյունավետ կառավարումը կարող է նպաստել կենսաբազմազանության պահպանությանը, ինչպես նաև աջակցել տարածաշրջանի զբոսաշրջության և օրգանական գյուղատնտեսության կայուն զարգացմանը:

Էջևանի արգելավայր – լանդշաֆտային պլանավորում – կենսաբազմազանություն – անտառային լանդշաֆտներ

The article dedicated to delineation of Ijevan state sanctuary borders in the forest landscapes of Tavush region of Republic of Armenia through the application of landscape planning tool and methodology. In recent years the unique and diverse forest landscapes of Tavush region are undergone anthropogenic changes due to un-sustainable management of natural resources. However, effective management of Ijevan state sanctuary can contribute to biodiversity conservation as well as contribute to the sustainable development of the region's tourism and organic agriculture.

Ijevan sanctuary – landscape planning – biodiversity – forest landscapes

Тавушский регион расположен в северо-восточной части Армении, его площадь составляет 2704 км². Основными видами землепользования по целевым категориям являются: лесные ландшафты, занимающие 42 % от общей площади, сельхозугодья-41 %, особо охраняемые территории-12 %, населенные пункты-3,7 % (рис. 1). Земли, отведенные под нужды промышленности, энергетики, транспорта,

водных объектов и т.п. составляют чуть больше 2 %-ов [1]. Население региона составляет 124,5 тысячи человек, из которых 42,2 % проживают в городских районах, а 57,8 % – в сельских общинах. Плотность населения составляет 46 человек / км² (средняя плотность РА – 100,6 человек / км²). Почти половина (48,6 %) населения региона живет на высоте до 800 м над ур. моря, затем плотность населения уменьшается до высоты 1800 м. [2].

Материалы и методы. Основными факторами изменения природных ландшафтов являются населенные пункты, инфраструктуры, промышленность, сельское и лесное хозяйство.

Ландшафт **населенных пунктов** является одной из основных разновидностей антропогенных ландшафтов, происхождение которых связано с существующими в природных ландшафтах радикальными преобразованиями, такими как естественная трансформация растительности, изменения в почве, жизни животных, воды, топографии и микроклимата.

Ведущей отраслью **транспорта** в Тавушском регионе является автотранспорт. Негативное влияние автомобильного транспорта на экологическое состояние ландшафтов региона выражается также при строительстве дорог. Инженерные работы во время строительства приводят к увеличению процессов на склонах, разрушению почвенного покрова, накоплению отходов, изменению водоснабжения и т. д.

Ведущая отрасль Тавушского региона – **перерабатывающая пищевая промышленность и деревообработка**. Пищевая промышленность представлена производством вина, консервов, сыра, хлебобулочных изделий, минеральной воды. Крупные деревообрабатывающие предприятия области находятся в Иджеване, Дилижане, Ноемберяне. Определенную степень развития имеют следующие отрасли промышленности: точное машиностроение, производство строительных материалов, в частности фельзитового туфа (Ноемберянский район), мрамора, бентонитовой глины и извести (Иджеванский район). Ковровая промышленность в регионе занимает лидирующее место по объему производства.

Изучение влияния добычи и обработки бентонитовой глины, извести, литографического камня, доломита и фельзита имеет практическое значение для изменения биологических и абиотических компонентов ландшафтов. В частности, отчуждаются сельскохозяйственные угодья, удобные для земледельца. В атмосферу выбрасывается огромное количество пыли и химикатов, которые ослабляют прозрачность атмосферы. Накопленные минеральные отходы увеличивают силу селевых потоков и степень возможного повреждения. Для восстановления и поддержания баланса естественных процессов требуются большие объемы мелиоративных мероприятий.

Сельское хозяйство является одной из форм землепользования, которое приводит к очевидному взаимодействию человека и природы с его отрицательными и положительными сторонами [2], в Тавушском регионе преобладают аграрные ландшафты. Географическое положение и климатические условия региона благоприятны для развития растениеводства и животноводства. Ведущими отраслями в растениеводстве являются зерновые и виноградарство. В 2016 году сельскохозяйственные земли были 110751,5 га [2]. Природно-климатические условия региона благоприятны для садоводства, особенно для косточковых плодов, бобовых, субтропических плодов, ягод и винограда. Перспективы развития включают производство табака и производство кормов.

Реформы, проведенные в сельскохозяйственном секторе в советское время, все еще отрицательно влияют на экологическое состояние ландшафтов. Позднее проблемы, возникшие в годы независимости, обострили экологическую ситуацию: транспортная блокада, энергетический кризис, негативные последствия быстрой приватизации земли, разрыв прежних экономических отношений и крайне тяжелое социальное положение у сельского населения (особенно приграничных и горных общин) привели к опустыниванию приватизированных земель и т. д. Таким образом, существуют серьезные проблемы в области развития сельского хозяйства региона, шаги по их преодолению пока не обеспечивают эффективность сельскохозяйственного производства, рациональное использование земель сельскохозяйственного назначения [2].

Особенности распределения лесного фонда. Общая площадь лесов в Тавушском регионе составляет 118087 га, из которых 103957,6 га или 88% покрыто лесами. Управление лесами осуществляется через лесхозы “ГНКО Айянтар” – “Иджеван” – 25512 га, “Севкар” – 20484 га, “Ноемберян” – 29254 га и “Арцваберд”, 42837 га [1]. Сложная политическая и социально-экономическая ситуация в 1990-х годах оказала огромное давление на лесные ресурсы. По оценкам, 50 % тепловой энергии, потребляемой соседними с лесом общинами, было использовано на дрова [2]. Нерегулярные рубки продолжают сегодня. Они особенно опасны при перевозке на склонах с уклоном более 30°, в водоохранных буферных зонах рек, а также на южных экспозициях, где растительность наиболее уязвима и деградирована от перевыпаса. В настоящее время деградация лесных ландшафтов в регионе обусловлена нерегулярными рубками и плохой практикой ведения лесного хозяйства.

Основной целью разграничения Иджеванского государственного заказника в лесных ландшафтах Тавушского региона Армении на основе консолидации, существующих разорванно, сильно фрагментированных трех заказников-“Медвежий орешник”, “Иджеванский” и “Гандзакарский”-является сохранение уникального биоразнообразия лесных ландшафтов и улучшение природных условий развития растительного покрова и животного мира. Такая целевая программа полностью совпадает с приоритетными направлениями стратегического развития Тавушского региона. Согласно программме по социально-экономическому развитию регионам, приоритетными направлениями являются развитие устойчивого туризма и органического сельского хозяйства [2]. Основная цель данной работы также совпадает с решением Правительства Армении N1029-У от 25.09.2014 “Стратегия особо охраняемых природных территорий, государственная программа в области охраны природы и мери по утверждению Республики Армения”. В частности в приложении 3, под пунктом 3 представлен план государственных мероприятий на 2014-2020 период, включая подпункт 3.3 “Создание Иджеванского государственного заказника с целью сохранения целостности экосистем”.

Метод ландшафтного планирования использовался при представлении предложений по разграничению и зонированию для сохранения биоразнообразия “Иджеванского государственного заказника”, правового обеспечения использования природных, культурных и земельных ресурсов и управления другими компонентами. Основным принципом этого метода является оценка результатов инвентаризации по категориям “**значимость**” и “**чувствительность**”, конечным результатом которых является концепция комплексного освоения территории[3-6].

Под “значимостью” по определенным критериям оценивается степень экологического состояния использования природных компонентов, необходимых для реализации целей “Иджеванского государственного заповедника”, что определяется конкретными критериями для каждого компонента.

“Чувствительность” оценивается для природных процессов, которые изменяются или трансформируются в основном из-за антропогенных факторов. Критерии чувствительности для каждого компонента были выбраны на основе использования функций целевого использования.

Исходя из специфики ландшафтов региона и их охраны была проведена оценка почв и биоразнообразия, как основных характеристик для разграничения территории “Иджеванского государственного заказника” (в соответствии с Законом об особо охраняемых природных территориях Армения от 2005 г.). В рамках исследования были проведены оценка и картирование современного землепользования, что позволило обосновать пути и средства целевого использования территории, на которых можно будет разрабатывать дальнейшие мероприятия по развитию, которые должны быть включены в план управления заповедниками (рис.1).

Результаты и обсуждение. Оценка значимости почв проводилась на основе целевого использования. В качестве критерия значимости для естественного растительного покрова была использована био-продукционная эффективность растительных сообществ. Для лесных ландшафтов использовался комплексный показатель-бонитет леса. Оценка проводилась на историко-генетической основе. Плодородие было учтено для сельскохозяйственных земель.

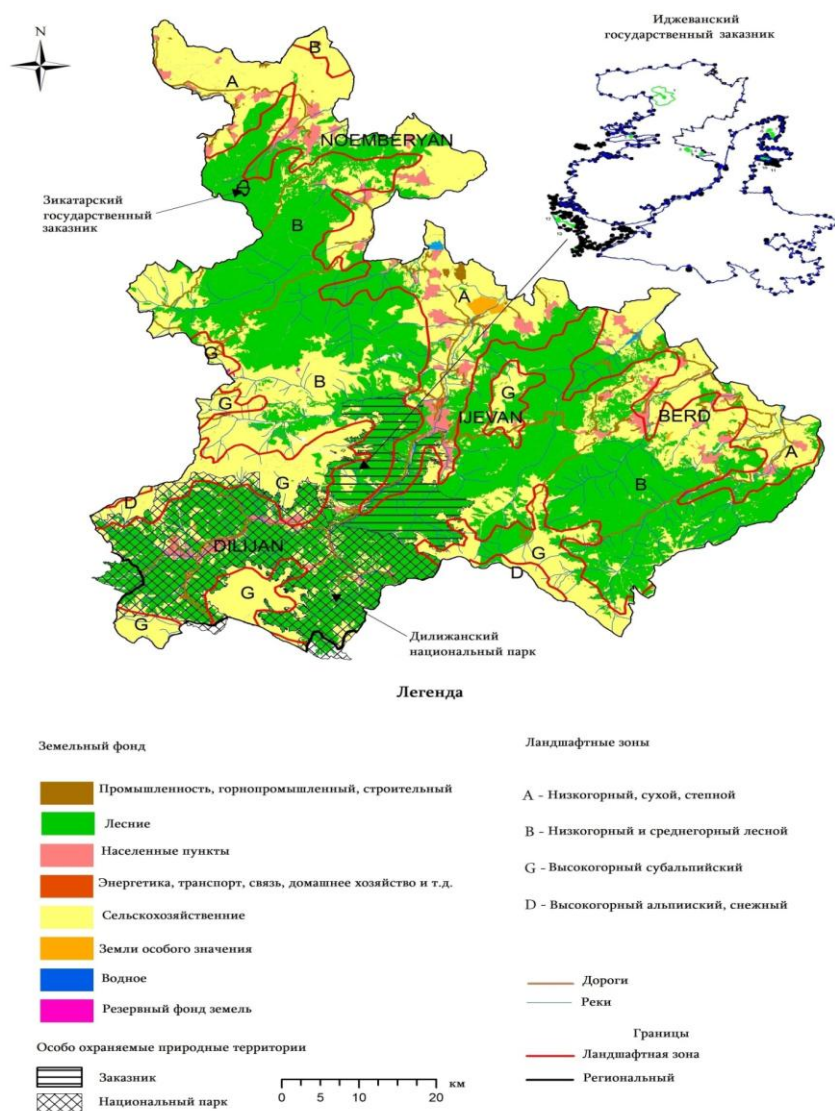


Рис. 1. Современное землепользование и особо охраняемые территории Тавушского региона

Для оценки почвенных условий были также использованы топографические характеристики, водно-термические условия, минерализация и механический состав почвы. На основе этих характеристик были выделены 3 группы: Почвы высокой значимости, которые подходят для лесных районов, где присутствует развитый гумусовый слой и ценный ландшафт; почвы среднего значения включают сельскохозяйственные районы, которые имеют определенное плодородие и конкретную цель использования, низкое значение уделяется каменистым, эрозийным и загрязненным территориям.

Чувствительность почвы оценивается по критериям, отражающим современные экзогенные процессы, которые нарушают состав и структуру земель. В некоторых случаях деградация почвенного покрова вызвана чрезмерной туристичес-

кой нагрузкой, лесными пожарами, нелегальными рубками, обезлесием, чрезмерным выпасом скота и так далее.

Чувствительность почвы выражается тремя качественными уровнями. Высокая степень чувствительности была установлена в районах, где экзогенные процессы полностью разрушили естественную структуру почвы. Средняя степень чувствительности наблюдается на отдельных участках, где произошли частичные изменения в структуре почвы и ее элементах. Низкий уровень чувствительности был установлен в районах, где сохраняются их естественный состав и структура, плодородие и другие свойства.

Оценка биотопов была проведена на основе данных о местонахождении редких, реликтовых и эндемичных видов растений и животных с учетом структурных особенностей растительности, представленность и размещения соответствующих участков в данном районе, а также состава животных и их динамики.

По значимости биотопы были разделены на три группы: высокое значение, где потенциал и существующие условия почти совпадают; среднее значение, при котором текущее состояние природной среды приближается к своему потенциалу и низкое значение, когда текущее состояние окружающей среды не соответствует потенциалу.

Высокая чувствительность биотопов предопределяется сильной фрагментацией между ареалами распространения видов, перевыпасом пастбищ и сенокосов и деградацией некоторых жизненных форм. Средняя чувствительность биотопов относится к территориям, где состав и структура биоценозов может восстановиться, благодаря миграцию животных и распространению семян. Низкая чувствительность наблюдается в ареалах, где плохие условия для развития пожаров и деградации биотопов.

Интеграция оценки почвенных условий, биотопов, других компонентов ландшафтов по категориям значимости и чувствительности позволила определить **цели использования территории**. Были определены три основных типа целей: **сохранение, развитие и улучшение**.

Задача первого типа - поддерживать текущее состояние природной среды, когда территория не используется или используется экстенсивно. Второй тип целей - развитие, ориентирован на развитие области, которая обеспечивает как экстенсивное, так и интенсивное развитие в соответствии с действующим законодательством. В зависимости от типа развития, при реализации цели использования территории порядок ее поддержания (состояние окружающей среды) остается либо неизменным, либо снижается на один уровень. Третий тип цели предназначен только для комплексного улучшения местности. Это относится к областям, которые подвергались интенсивному использованию в прошлом.

Целевая концепция развития. Реализация целевой концепции развития позволяет ограничить использование территории для защиты природной среды или социально-экономического развития, определить районы с наиболее серьезными экологическими проблемами и показать пути их улучшения, определить направление и каркас развития территории.

Целевая концепция развития разработана для равномерного и устойчивого развития территории. В случае несовпадения ареалов, консолидация типов отраслевых целей была достигнута, благодаря приоритетности основных целей – сохранение, а затем улучшение. Территории, не включенные в эти две группы, предназначены для развития. В то же время как важный фактор было учтено целевое разграничение территории по социально-экономическим вопросам и особенностям ресурсов. В итоге получается как территориально-определяемые, так и определяемые по критериям границы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Sayadyan H.Y., Vardanyan E.A. and Avetisyan G.D.* The anthropogenic alterations of Tavush marz natural landscapes due to modern land-use, *Biolog. Journ. of Armenia*, 70, 3, pp.102-108. 2018.
2. <http://tavush.mtad.am/files/docs/3954.pdf>
3. Ландшафтное планирование: инструменты и опыт применения. А.Н. Антипов, В.В. Кравченко, Ю.М. Семенов и др. Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН, 165 с., 2005.
4. Ландшафтное планирование с элементами инженерной биологии. М., Того науч. Изданий КМК. 239 с., 2006.
5. Ландшафтное планирование для стран Южного Кавказа-Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН, 2008,-178с.
6. *Sayadyan H., Mamadov R., Elizbarashvili N., Garforth M.* Piloting of Landscape planning in the countries of the South Caucasus. Baku, Tbilisi, Yerevan, p.121, 2009.

Поступила 30.03.2020



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4 (72), 2020

ՁԿՆԵՐԻ ԿԼԻՄԱՅԱՎԱՐԺԵՑՄԱՆ ԵՎ ՁԿՆԱԲՈՒԾԱԿԱՆ ՄԻՋՈՑԱՌՈՒՄՆԵՐԸ ՀԱՅԱՍՏԱՆՈՒՄ ՈՒ ԴՐԱՆՑ ԱԶԴԵՑՈՒՅՑՈՒՆԸ ԲՆԻԿ ՁԿՆԱԾԵՆԱՐՅԻ ՎՐԱ

Ս.Խ. ՊԻՊՅԱՆ

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

Հայաստանում ձկների կլիմայավարժեցման և ձկնաբուծական աշխատանքների արդյունքում արժեքավոր ձկնատեսակների հետ միասին պատահաբար հայտնվել են նաև այլ տարածաշրջանների բնորոշ ձկնատեսակներ, որոնք ներկայում կլիմայավարժվել և լայնորեն տարածվել են Հայաստանի ջրակայներում: Արդյունքում հանրապետության ձկնաշխարհի կազմը 22 տեսակից հասել է մինչև 40-ի: Նման վիճակում Հայաստանի բնիկ ձկնաշխարհի տեսակային բազմազանության պահպանությունն անմիջականորեն շաղկապված է նաև ձկների կլիմայավարժեցումը և ձկնային տնտեսությունների շահագործումը գիտական հիմքերով իրականացնելու հետ:

Ձկնաշխարհ – կլիմայավարժեցում – ձկնաբուծություն – Հայաստան

При целенаправленных работах по акклиматизации рыб и рыбоводству вместе с ценными видами рыб случайно попадались отдельные рыбы-вселенцы, которые в настоящее время акклиматизировались и широко распространились по водоемам Армении. В результате состав ихтиофауны республики пополнился чужеродными видами рыб, достигая с 22-х видов до 40. В данной ситуации сохранение видового разнообразия нативной ихтиофауны Армении напрямую зависит также, от выполняемых на научных основах акклиматизационных и рыбоводческих мероприятий.

Ихтиофауна – акклиматизация – рыбоводство – Армения

As a result of fish acclimatization and fish farming activities in Armenia, along with valuable fish species, fish species typical of other regions have accidentally appeared, which are currently acclimatized and widely distributed in Armenian reservoirs. Correspondingly, the composition of the Republic's Ichthyofauna has increased from 22 species to 40. In such circumstances, the preservation of the species diversity of the native Ichthyofauna of Armenia is directly connected with the implementation of fish acclimatization and the operation of fish farms on a scientific basis.

Ichthyofauna – acclimatization fish farming – Armenia

Ձկները Հայաստանի Հանրապետության բնական էկոհամակարգերի անբաժանելի մասնիկն են և եական նշանակություն ունեն ջրակայների էկոլոգիական հավասարակշռությունն ու արդյունավետությունն ապահովելու գործում: Միաժամանակ այս կենդանիները զգալի նշանակություն ունեն հանրապետության պարենային անվտանգության ապահովման գործում՝ հանդիսանալով ազգաբնակչության սպիտակուցային սննդի կարևորագույն բաղադրիչ:

Այդ իսկ պատճառով առանձնակի կարևորություն է ձեռք բերում մի կողմից՝ ձկնային պաշարների պահպանումը և ավելացումը բնական ջրակալներում, մյուս կողմից՝ արհեստական պայմաններում արդյունավետ ձկնային տնտեսության ձևավորումը և շահագործումը՝ արդյունքում ապահովելով բարձր որակի և առավելագույն քանակի ձկնային ապրանք՝ ծախսերի և միջոցների նվազագույն վատման պայմաններում: Հայաստանում նման գործունեություն իրականացնելու համար անցած տարիների ընթացքում ընտրվել է երկու ճանապարհ՝ բնական ջրակալներում այլ վայրերից ներմուծված տեսակների կլիմայավարժեցումը և, երկրորդ, ձկնաբուծարանների ստեղծումն ու շահագործումը՝ արժեքավոր ձկնատեսակների բուծման համար: Այդ աշխատանքների իրականացման այս կամ այն չափով անդրադարձել են տարբեր հեղինակներ իրենց մենագրություններում և հոդվածներում [1-5, 9]: Սակայն դրանցում դեռևս ամբողջացված չէ Հայաստանում ձկների կլիմայավարժեցման ու ձկնաբուծության օբյեկտների մասին տեղեկատվությունը, ինչպես նաև համակողմանի գնահատված չէ դրանց ազդեցությունը Հայաստանի բնիկ ձկնաշխարհի վրա: Ելնելով դրանից՝ մենք ընդհանրացրել և համապարփակ ներկայացրել ենք Հայաստանում այլ տարածաշրջանների ձկների կլիմայավարժեցման ու ձկնաբուծության օբյեկտների մասին տեղեկությունները սկսած XX դարի 20-ական թվականներից: Միաժամանակ, փորձել ենք գնահատել, թե ինչ ազդեցություն կարող են ունենալ օտար ձկնատեսակները Հայաստանի բնիկ ձկնաշխարհի վրա, ինչն էլ այս աշխատանքի հիմնական նպատակն է:

Աշխատանքի կատարման համար նյութ են ծառայել ինչպես վերոնշյալ, այնպես էլ այլ գրական աղբյուրներ, որոնք նշված են Հայաստանի ձկնաշխարհին նվիրված մեր մենագրության մեջ [5]: Բացի այդ, օգտագործվել են նաև մեր հետագա ուսումնասիրությունների արդյունքները [6, 7, 10] և անմիջական դաշտային դիտարկումները՝ կատարված 1987-2020 թթ. Հայաստանի Հանրապետության ողջ տարածքում:

Արդյունքներ և քննարկում: Հայաստանում ձկների կլիմայավարժեցման պլանավորված աշխատանքները սկսվել են դեռևս 20-րդ դարի 20-ական թվականներից, երբ Ռուսաստանի հյուսիսային շրջաններում գտնվող Լադոգա և Չուդ լճերից Սևանա լիճ է ներմուծվել սիգը *Coregonus lavaretus*՝ նպատակ ունենալով մեծացնել լճի ձկնարդյունավետությունը և բավարարել բնակչության հարածուն կարիքները բարձրորակ ձկնամսով [1, 3, 4]: Ներկայումս սիգը դարձել է Սևանա լճի հիմնական ձկնարդյունագործական նշանակություն ունեցող տեսակը, որն էական տեղ է գրավում Հայաստանի բնակչության սննդակարգում [3]: Հետագայում փորձեր են կատարվել կլիմայավարժեցնել սիգը նաև Հայաստանի առանձին ջրամբարներում, մասնա-վորապես Կեչուտի ջրամբարում, սակայն այս նախաձեռնությունն էական հաջողություն չի ունեցել, և ներկայումս Սևանա լիճը այն միակ ջրակալն է, որտեղ սիգը հաջողությամբ կլիմայավարժվել է:

Մյուս ձկնատեսակը, որը 1930-ական թվականներին Հայաստանում մալարիա հիվանդության դեմ պայքարելու նպատակով փորձել են կլիմայավարժեցնել, Հոլբրուկի գամբուզիան *Gambusia holbrooki* է: Այս փորձիկ՝ 4-7 սմ երկարություն ունեցող ձկնիկի հայրենիքը Հյուսիսային Ամերիկան է, և նրա սննդակարգի էական մասնաբաժինն են կազմում մոծակների՝ ջրում բնակվող թրթուրները: Այդ նախաձեռնությունը հաջողությամբ է պսակվել, և կարճ ժամանակահատվածում գամբուզիան՝ որպես մալարիայի դեմ պայքարի կենսաբանական միջոց, կարողացել է նպաստել այդ հիվանդության տարածման կանխմանը Արարատյան հարթավայրում [1, 4]: Ներկայումս Հոլբրուկի գամբուզիան լայնորեն տարածված է Արարատյան հարթավայրի ամենատարբեր ջրակալներում՝ գետերում, ջրանցքներում, ջրամբարներում, ծանծաղ լճակներում և այլուր:

Հայաստանի ջրակալներում ձկների կլիմայավարժեցման հաջորդ փորձը կատարվել է 1960 թ., երբ Երևան քաղաքի Կոմսոմոլի լիճը (Թոխմախ-գյոլ) կանաչածածկումից և ճահճանալու վտանգից ազատելու նպատակով այստեղ է ներմուծվել Հեռավոր Արևելքի գետերի ու լճերի բնակիչ սպիտակ ամուրը *Ctenopharyngodon idella*:

Հետագայում, հաշվի առնելով այս ձկնատեսակի մսի համային բարձր արժեքը և ջրաբույսերով սնվելու հանգամանքը, ներմուծվել ու Հայաստանի ջրամբարներում բաց են թողնվել սպիտակ ամուրի մի քանի միլիոն մանրածուկ [1]: Սակայն, մինչ այժմ էլ այս

ձկնատեսակը չի կլիմայավարժվել Հայաստանի ջրակայներում, քանի որ չի բազմանում բնական պայմաններում, և նրա գլխաքանակն այստեղ պարբերաբար լրացվում է արհեստական պայմաններում բուծված մանրածկերի պարբերական ներմուծումների շնորհիվ: Սպիտակ ամուրի հետ միասին կլիմայավարժեցման նպատակով Կոմսոմոլի լիճ է ներմուծվել նաև սպիտակ հաստաճակատը *Hypophthalmichthys molitix*, որի հայրենիքը Նույնպես Յեռավոր Արևելքն է [1, 4]: Ինչպես և սպիտակ ամուրը, սպիտակ հաստաճակատը Նույնպես չի բազմանում Հայաստանի բնական ջրակայներում, և այստեղ և հիմնականում հանդիպում է պատահականորեն՝ ձկնային տնտեսություններից որևէ կերպ սպորդելու արդյունքում:

Տեսական և գործնական տեսանկյունից հետաքրքիր են նաև 1960-ական թթ. Սևանի իշխանի *Salmo ischchan* ենթատեսակներից մեկի՝ գեղարքունու *Salmo ischchan gegarkuni* կլիմայավարժեցման փորձերը բարձրեռնային, սեփական ձկնաշխարհի չունեցող լճերում (Քարի լիճ, Սև լիճ) և այլն, որոնք գտնվում են ծովի մակերևույթից 2800-3200 մ բարձրության վրա: Չնայած, գեղարքունին այստեղ չի բազմանում, սակայն ուներ աճի ավելի արագ տեմպեր, քան անգամ Սևանա լճում: Այս առումով հարկ է նշել, որ գեղարքունին 1930-ական թթ. հաջողությամբ կլիմայավարժվել է Ղրղզստանի տարածքում գտնվող Իսիկ-Կուլ լճում և դարձել այստեղ արդյունագործական նշանակություն ունեցող ձկնատեսակ [4, 5]:

Հայաստանի տարբեր գետերում և ջրամբարներում 1960-ական թթ. արհեստականորեն տարածել են նաև Սևանի կողակի *Capoeta capoeta sevangi* թրթուրներն ու մանրածկերը: Ներկայում այս ձկնատեսակը, բացի Սևանի ավազանից, հանդիպում է նաև Հայաստանի այլ գետերում և ջրամբարներում [5]:

Վերոնշյալ նպատակային կլիմայավարժեցման աշխատանքներից զատ հարկ է նշել նաև Հայաստանի ջրակայներում առանձին ձկնատեսակների պատահական կլիմայավարժման դեպքերը: Առաջին հերթին դա վերաբերում է արծաթափայլ կարասին *Carassius gibelio*, որը պատահականորեն 1960-ականների ընթացքում Արարատյան հարթավայրի ձկնաբուծարաններ է ներմուծվել կարպի *Cyprinus carpio* մանրածկերի հետ միասին: Լինելով ամենակեր, արտաքին միջավայրի նկատմամբ ոչպահանջկոտ ձկնատեսակ՝ արծաթափայլ կարասը կարճ ժամանակահատվածում լայնորեն տարածվել է Հայաստանի ողջ տարածքում՝ դառնալով այստեղ ամենաբազմաքանակ ձկնատեսակներից մեկը: 1980-ականներին պատահականորեն ներմուծվել և հետագայում կլիմայավարժվել է Սևանա լճում, Նույնպես դառնալով այստեղ բազմաքանակ ձկնատեսակ [3, 5]: Մյուս ձկնատեսակը, որը ինչպես և արծաթափայլ կարասը, պատահականորեն է ներմուծվել Հայաստան բերված սպիտակ ամուրի մանրածկերի հետ, ամուրյան նրբածուկն *Pseudorasbora parva* է: Հեռավոր Արևելքի ջրակայներին բնորոշ այս մանր՝ մինչև 10 սմ երկարություն ունեցող ձկնատեսակը ներկայում Հայաստանում լայնորեն տարածված է [5, 11] և, ինչպես որ արծաթափայլ կարասն է, ինվազիվ ձկնատեսակ է:

Այլ ձկնատեսակներից, որոնք նախկինում չեն հանդիպել Հայաստանի տարածքային ջրերում և այնուհետև հայտնվել են այստեղ, կարելի է նշել արծաթածուկը *Leucaspis delineatus*, դառնածուկը *Rhodeus amarus*, արդվինյան քառթակը *Gobio artvinicus*, ավազային ցլիկածուկը *Neogobius fluviatilis*, կովկասյան ցլիկածուկը *Knipowitschia caucasica*, գայլածկանման պերկեսը *Sander lucioperca*, սովորական պերկեսը *Perca fluviatilis* [5, 7, 10]:

Այժմ անդրադառնանք Հայաստանում ձկնաբուծության ոլորտին, որն այստեղ սկսել է ձևավորվել դեռևս 1920-ական թվականներից: Այսպես, 1923 թ. հիմնադրվել է Երևանի ձկնաբուծական կայանը, իսկ հետագայում կառուցվել են Գավառի (1924 թ.), Կարճաղբյուրի (1931 թ.), Սևանի (1959 թ.), Լիճքի (1971 թ.) ձկնային գործարանները: Դրանց հիմնական նպատակն է եղել Սևանի իշխանի ձկնկիթի ինկուբացումը և թրթուրների ու մանրածկերի հետագա ներմուծումը Սևանա լիճ՝ այդ ձկնատեսակի գլխաքանակի ավելացման ու կայուն պաշարների ձևավորման նպատակով:

1965 թ.-ից սկսած՝ Հայաստանում սկսել է ձևավորվել լճակային ձկնաբուծության համակարգը: Առաջին ապրանքային տնտեսություններից էին Եղեգնուտի կարպային և Ակնալճի ֆորելային տնտեսությունները, որոնք ստեղծվել են 1968 թ.-ին:

Հետագայում կառուցվել և շահագործման են հանձնվել Մասիսի ձկնային կոմբինատը (1971 թ.), Տաշիրի կարպային տնտեսությունը (1972 թ.), Անգեղակոթի (1974 թ.) և Ջերմուկի ձկնային գործարանները (1975 թ.), Արմաշի կարպային տնտեսությունը (1978 թ.), Եղեգնուտի զոնալ ձկնաբուծարանը (1978 թ.), Ագատի (1987թ.), «Խոսրովի» (1989 թ.) և Մեղրու (1991 թ.) ֆորելային տնտեսությունները [8]: 1990-ականների սկզբին՝ ԽՍՀՄ-ի փլուզումից հետո, Հայաստանում վերոնշյալ ձկնային տնտեսություններից շատերը դադարել են գործելուց, և դրանց փոխարեն ի հայտ եկել ու շարունակում են ստեղծվել բազմաթիվ մանր ու միջին ֆերմերային տնտեսություններ: Դրանց ընդհանուր քանակը ներկայում անցնում է 350-ից, և դրանց մի մասը տեղակայված է շատ թե քիչ ջրառատ գետերի՝ Արփայի, Աղստևի, Ագատի, Որոտանի, Դեբեդի, Ջորագետի, Մեծամորի, Որոտանի, Հրազդանի, Տավուշի, Խնծորուտի և այլ գետերի ավազաններում: Սակայն Հայաստանի ձկնաբուծարանների հիմնական մասը և առավել խոշորները կենտրոնացած են Արարատյան հարթավայրում՝ իրենց գործունեության համար ջուր հայթայթելով հիմնականում արտեզյան ջրերի հորերից: Առանձնահատուկ պետք է նշել նաև Հայաստանի ձկնային տնտեսությունների համար համեմատաբար նոր ձև հանդիսացող ցանցավանդակային ձկնաբուծությունը: Այն ստեղծվել է «Սևանի իշխանի պաշարների վերականգնման և ձկնաբուծության զարգացման» հիմնադրամի կողմից՝ սկսած 2013 թ.-ից և նպատակ ունի Սևանա լճի մեջ տեղադրված ցանցավանդակներում բուծել Սևանի իշխանի երկու ենթատեսակներ գեղարքունուն և ամառային իշխան *Salmo ischchan aestivalis*, իսկ բուծված իշխանների որոշ մասը բաց թողնել Սևանա լիճ՝ այստեղ իշխանի բնական պաշարներ ստեղծելու համար:

Որպես ձկնաբուծության օբյեկտներ՝ Հայաստան ներմուծված առաջին ձկներն են կարպը *Cyprinus carpio* և ծիածնախայտը *Oncorhynchus mykiss*: Կարպն առաջին անգամ ներմուծվել է Հայաստան 1966 թ.-ին Կրասնոսկից: Հետագա ներմուծումները կատարվել են Ռուսաստանի Բելգորոդի (1968 թ.), Օդեսայի (1969-1971 թթ.) և Լուգանսկի (1972թ.) շրջաններից, Կրասնոդարի երկրամասից (1972-1974, 1978, 1981, 1990, 1995թթ.), Կրասնոսկից (1969, 1973 թթ.), Մոլդովայից (1971թ.): Ծիածնախայտն իր հերթին ներմուծվել է Աբխազիայից (1967, 1968, 1972-1982 թթ.), Դանիայից (1970 թ.), Չեխոսլովակիայից (1971-1972 թթ.), Կալինինգրադից (1987 թ.), Դոնեցկից (1987թ.): 1987-1992 թթ. Աբխազիայից և Կալինինգրադից ներմուծվել է պողպատազլուխ սաղմոնը (ծիածնախայտ): Բուսակեր ձկնատեսակները (սպիտակ ամուրը, սպիտակ և խայտաբղետ հաստաճակատները) ներմուծվել են Չինաստանից (1961 թ.), Կրասնոդարից (1971, 1972, 1978, 1980, 1988 թթ.), Մոլդովայից (1972 թ.), Աստրախանից և Ուզբեկստանից (1974-1977 թթ.): Կրասնոդարից ներմուծվել են բուֆալոն *Ictiobus* sp. ցեղի երեք տեսակ (1978 թ.), թիակաքիթը *Polyodon spathula* (1990 թ.), սև ամուրը *Mylopharyngodon piceus* (1990 թ.), թառափայինների ընտանիքին *Acipenseridae* պատկանող առանձին տեսակներ (1990-1991 թթ.): Թառափայինների տեսակներ են ներմուծվել նաև ավելի վաղ Աստրախանից (1981-1985 թթ.) [8]:

2000-ականների սկզբներից պարբերաբար փորձեր են կատարվել բուծելու լեռկասաղմոնների *Salvelinus* sp. և *Clarius* ցեղին պատկանող լոբոներ, իսկ 2010-ականներից՝ օձաձկանը *Anguilla anguilla*: Սակայն, այդ բոլոր ձկնատեսակների բուծման գործընթացում մեծ հաջողություններ չեն գրանցվել, չնայած օձաձկների առանձին առանձնյակներ ձկնաբուծարանից հայտնվել են Արաքս գետում [6], իսկ լեռկասաղմոնների ոչ մեծ խմբաքանակներ վաճառվել են Հայաստանի ձկնային շուկայում:

Ներկայում Հայաստանի ձկնային տնտեսություններում բուծվում են հետևյալ հիմնական ձկնատեսակները՝ կարպի թեփուկավոր, հայելային, անթեփուկ, կոի ցեղատեսակները, սպիտակ հաստաճակատը և խայտաբղետ հաստաճակատը *Hypophthalmichthys nobilis* ու նրանց հիբրիդները, սպիտակ ամուրը, ծիածնախայտը, գեղարքունին, ամառային իշխանը, կարմրախայտը *Salmo trutta*, ստերլյադը *Acipenser ruthenus*, բելուզան *Huso huso*, սիբիրյան թառափը *Acipenser baeri*, ռուսական թառափը *Acipenser guldenstaedti*, սևրյուզան *Acipenser stellatus*, սեպադունչ թառափը *Acipenser nudiventris*, բելուզայի և ստերլյադի հիբրիդ բեստերը: Որոշ տեղերում փորձեր են կատարվում արհեստական պայմաններում բուծելու նաև սիգը և Սևանի կողակ: Առանձին դեպքերում կարպային լճակներում փորձում են աճեցնել բնական ջրակալներից այստեղ ներմուծված սովորական լոբո՝ *Silurus glanis* և ճանար *Luciobarbus capito*:

Հայաստանի ձկնային տնտեսություններում ներկայումս բուժվող հիմնական ձկնատեսակը ծիածանախայտն է: Բացի դրանից, առավել հաճախ բուժվում են նաև ստերյադը, կարպը, սպիտակ ամուրը և հաստաճակատները: Ընդ որում կարպը, սպիտակ ամուրը և հաստաճակատը հաճախ աճեցնում են համատեղ՝ հաշվի առնելով նրանց սննդառության առանձնահատկությունները՝ և ստանում ավելի մեծ արդյունք ձկնային տնտեսության մեկ միավոր մակերեսից:

Շատ դեպքերում Հայաստանում գործող ձկնաբուժական տնտեսությունները ձևավորվում են տարերայնորեն՝ հաճախ չունենալով գործունեության գիտական հիմքեր: Դեպքերի նման զարգացումը կարող է բացասական ազդեցություն գործել շրջակա միջավայրի, մասնավորապես տեղաբնակ ձկնատեսակների համակեցության վրա: Մասնավորապես, բնական ջրակայներում ձկնաբուժարաններից այս կամ այն պատճառով սպրդած ծիածանախայտերը մի կողմից վերածվում են տեղաբնակ կարմրախայտի կերային մրցակցի՝ դուրս մղելով նրան իր բնակության վայրերից, մյուս կողմից սնվում են տեղաբնակ մյուս արժեքավոր ձկների մանրաձկներով, ինչպես նաև այլ մանր ձկնատեսակներով: Հայաստանի գետերում, հատկապես Արաքսում, Ախուրյանում և ջրամբարներում հաճախակի են դարձել կարպի, հաստաճակատների, սպիտակ ամուրի հանդիպման դեպքերը: Եթե սպիտակ ամուրը և հաստաճակատներն էական ազդեցություն չեն թողնում տեղական ձկնաշխարհի վրա, ապա կարպերն արդեն տասնամյակներ շարունակ խաչասերվում են տեղաբնակ ծածանի հետ և տալիս խառնածիններ՝ փաստորեն գենետիկորեն կլանելով վայրի տեսակը:

Ձկնային տնտեսություններում ձկների մեծ կուտակումների և անասնապահական ու անասնաբուժական կանոններին չհետևելու պատճառով այստեղ հաճախ են նկատվում ձկների տարբեր հիվանդություններ (կարմրուկ, խոցային հիվանդություն, սնկերով և մակաբույծ որդերով վարակվածություն, իխտիֆտերիուս և այլն), որոնք տարածվում են նաև այդ ձկնային տնտեսություններին հարակից տարածքների ջրակայներում և վարակում տեղաբնակ ձկներին՝ դրանց զանգվածային վարակվածության և հետագա հնարավոր ոչնչացման պատճառ դառնալով: Մյուս կողմից, ձկնային տնտեսությունների լճակների ջուրը հաճախ տաքանում է, փոխվում է դրա ջերմաստիճանային, քիմիական կազմը և այդ վիճակով լցվելով գետեր՝ ազդում է վերջինների ջրակենսաբանական հատկությունների բնականոն փոփոխությունների վրա: Նման իրավիճակը չի կարող չազդել բնական ջրակայների կենդանական և բուսական աշխարհի, մասնավորապես ձկնային համակեցությունների վրա՝ դառնում, դրանցում բացասական փոփոխություններ առաջացնելով: Հաճախ դա պատճառ է հանդիսանում, որ տեղաբնակ ձկնատեսակներին փոխարինելու գան կլիմայավարժված և արտաքին պայմանների նկատմամբ ոչ պահանջկոտ ձկնատեսակներ, ինչպիսիք են արծաթափայլ կարասը և ամուրյան նրբաձուկը:

Այսպիսով, Հայաստանի ձկնաշխարհը, աչքի չընկնելով մեծ բազմազանությամբ և ունենալով ընդամենը 22 բնիկ ձկնատեսակ [2], անցած տարիներին հարստացել է կլիմայավարժված կամ պատահականորեն ներթափանցած շուրջ 20 տեսակով [5, 7]: Այս առումով Հայաստանի բնիկ ձկնաշխարհի տեսակային բազմազանության պահպանությունն անմիջականորեն շաղկապված է ինչպես Հայաստանի ջրակայների էկոլոգիական վիճակի բարելավման, այնպես էլ կլիմայավարժեցման աշխատանքները և ձկնային տնտեսությունների շահագործումը գիտական հիմունքներով իրականացնելու հետ:

Հեղինակն իր խորին երախտագիտությունն է հայտնում Է.Ա. Տիգրանյանին՝ աշխատանքի կատարման ընթացքում համակողմանի օժանդակություն ցուցաբերելու համար:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Ղադիկյան Ս.Գ.* Հայաստանի ձկները, ՀՍՍՀ ԳԱ հրատարակչություն, Երևան, 1971, 215 էջ:
2. *Барач Г.П.* Рыбы Армении. Тр. Севан. гидробиол. ст., 6, с. 5-70, 1940.
3. *Габриелян Б.К.* Рыбы озера Севан. Ереван, издательство “Гитутюн” НАН РА, 252 с. 2010.

4. *Дадикян М.Г.* Рыбы Армении. Ереван: АН АрмССР, 245 с, 1986.
5. *Пипоян С.Х.* Ихтиофауна Армении: этапы формирования и современное состояние. ISBN 978-3-8473-9977-3, 548 с., 2012.
6. *Пипоян С.Х.* Обнаружение речного угря *Anguilla anguilla* в водах Армении. Биолог. журн. Армении, 67, 3, с. 104-106, 2015.
7. *Пипоян С.Х.* Об обнаружении речного окуня *Perca fluviatilis* (Actinopterygii, Percidae) в изолированном водоеме Арагатской области (Армения). Биолог. журн. Армении, 72, 1-2, с. 30-34, 2020.
8. *Тигранян Э.А., Пипоян С.Х.* Рыбоводные хозяйства и прудовые рыбы Армении. Тезисы докладов республиканской научной конференции по зоологии (14, 15 мая 1998г.). Зоол. ин-т НАН Армении. Ереван. с.106, 1998.
9. *Gabrielyan B.K.* An Annotated Checklist of Freshwater Fishes of Armenia. Naga, The ICLARM Quarterly (24, Nos. 3 & 4) July-Desember, p. 23-29, 2001.
10. *Kuljanishvili T., Eptashvili G., Freyhof J., Japoshvili B., Kalous L., Levin B., Mustafayev N., Ibrahimov S., Pipoyan S., Mumladze L.* Checklist of the freshwater fishes of Armenia, Azerbaijan and Georgia// Journal of Applied Ichthyology. 2020.
<https://doi.org/10.1111/jai.14038>.
11. *Pipoyan S.Kh., Arakelyan A.S.* The distribution of Tapmout Gudgeon *Pseudorasbora parva* (Temminck et Shlegel, 1846) (Actonopterygii, Cyprinidae) in Water Bodies of Armenia // Russian Journal of Biological Invasions.,6, 3, p. 179-183, 2015.

Ստացվել է 11.08.2020



Biol. Journal of Armenia, 4 (72), 2020

CISPLATIN AND ESTRADIOL SEPARATE AND JOINT ACTION ON PHOSPHOLIPIDS CONTENT OF CHROMATIN PREPARATION FROM RAT KIDNEY CELLS

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

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

The current study presents the results of *in vivo* separate and joint action of chemotherapeutic drug cisplatin and sex hormone estradiol on content of total phospholipids and their individual fractions in chromatin preparation from female rat kidney cells. It was shown that the absolute quantities of all phospholipids individual fractions were decreased reliably after the *in vivo* action of cisplatin. Individual fractions of phospholipids of rat kidney cells chromatin preparations exhibit different sensitivity to estradiol alone treatment. The changes obtained in case of combination of cisplatin therapies with sex hormone estradiol have a positive effect and may be helpful for reducing the cisplatin toxicity.

Cisplatin – estradiol – chromatin from rat kidney cells – phospholipids

Տվյալ աշխատանքում ներկայացված են քիմիոթերապևտիկ դեղամիջոց ցիսպլատինի և սեռական հորմոն էստրադիոլի առանձին ու համատեղ *in vivo* ազդեցության ներքո եղ առնետների երիկամային բջիջներից ստացված բրոմատինի պատրաստուկներում առկա ֆոսֆոլիպիդների ընդհանուր պարունակության և դրանց առանձին ֆրակցիաների բնականական փոփոխություններին վերաբերող տվյալները: Պարզվել է, որ ֆոսֆոլիպիդների բոլոր առանձին ֆրակցիաների բացարձակ բնականները հավասար կրճատվում են ցիսպլատինի *in vivo* ազդեցության արդյունքում: Էստրադիոլի առանձին կիրառման նկատմամբ առնետի երիկամային բջիջներից ստացված բրոմատինի ֆոսֆոլիպիդները տարբերակված զգայունություն են ցուցաբերում: Ցիսպլատինի և սեռական հորմոն էստրադիոլի համատեղ կիրառման դեպքում գրանցված փոփոխությունները դրական բնույթի են և կարող են օգտակար լինել ցիսպլատինի տոքսիկության նվազեցման համար:

Ցիսպլատին – էստրադիոլ – առնետի երիկամի բջիջներից ստացված բրոմատին – ֆոսֆոլիպիդներ

В настоящем исследовании представлены результаты содержания общих фосфолипидов и их индивидуальных фракций в препаратах хроматина клеток почек крыс самок при отдельном и совместном *in vivo* применении цисплатина и полового гормона эстрадиола. Показано, что при отдельном *in vivo* применении цисплатина достоверно уменьшается абсолютное количество всех отдельных фосфолипидных фракций. Индивидуальные фракции фосфолипидов препаратов хроматина клеток почек крыс проявляют разную чувствительность к отдельному применению эстрадиола. Изменения, обнаруженные при совместном применении цисплатина и полового гормона эстрадиола, имеют положительный характер и могут быть полезны для снижения токсичности цисплатина.

Цисплатин – эстрадиол – хроматин клеток почек крыс – фосфолипиды

Cisplatin has been cited as being among the most used cytotoxic anticancer medication due to its broader efficacy in the treatment of various types of cancers [3, 20]. Cisplatin used to treat patients with bladder, ovarian, head and neck, lung, testicular, cervical, esophageal, breast and brain cancers [3].

The drug is also characterized by various toxic side effects including nephrotoxicity, cardiotoxicity, hepatotoxicity, neurotoxicity and nausea [9, 18]. Strong evidence from research has demonstrated higher efficacy of combination of chemotherapies of cisplatin together with other drugs in reducing toxic effects [11, 12].

Cisplatin, referred to by chemical name as cis-diamminedichloroplatinum (II), is anticancer and DNA destroying agent that is square planar platinum (II) complex and contains 2 ligands of chloride in a cis configuration orientation [3].

The mechanism of action of cisplatin is mediated by the interaction of this drug with DNA in order to form DNA adducts. While this interaction is the foundation for efficacy of cisplatin in the treatment of cancer, these platinum compounds, interaction is the route cause for cytotoxic effect of cisplatin [3]. Cisplatin treatment has been linked to various toxic side effects including nephrotoxicity, cardiotoxicity, hepatotoxicity, neurotoxicity and nausea [15]. Nephrotoxicity is major undesirable side effect caused by cisplatin treatment. High doses of cisplatin are linked to nephrotoxicity. It is therefore important to note that nephrotoxicity is a dose limiting side effect [3, 9, 18].

Kidney plays an important role as the main route of cisplatin excretion. Literature data has suggested that kidney has tendency of accumulating cisplatin to higher levels compared to any other organ in the body including the liver [8,14]. However, when concentration of cisplatin within the blood is lower than those in the kidney, it is an indication of toxicity [3]. It is also believed that the mechanism of cisplatin-induced nephrotoxicity is the same as the tumor cytotoxicity. Both mechanisms involve the formation of highly reactive equated platinum species that cross-link DNA and is highly dependent on the availability and the concentration of ambient chloride concentrations [1].

Literature data have demonstrated that when other compounds are combined with cisplatin chemotherapy, there is reduction of undesirable side effects [15]. At the same time it was shown that sex steroids are able to diminish some negative side effects of cisplatin [11].

At present it is well known that nuclear lipids are vital for cell life. The nuclear morphology and function of intranuclear lipids are dependent on the exact organization of the nuclear membrane, nuclear matrix and chromatin. Approximately 70–80% of polar lipids and CHO–CHO esters are present in the nuclear membrane; the remaining 20–30 % resides inside the nucleus, associated with the nuclear matrix, nucleolus and chromatin [2]. There are two pools of chromatin-bound lipids, namely loosely bound lipids and tightly bound lipids. The tightly bound lipids are important for the direct regulation of gene expression and RNA transcription [12, 13]. In some diseases, lipids are also key molecules in nuclear transport independently of their role in chromatin activity [2]. It seems impossible to exclude the significance of nuclear lipids including chromatin bound ones quantitative alterations for implementation of cisplatin antitumor effects as well as its involvement in molecular mechanisms of steroid hormones action.

This article will focus on cisplatin; one of the most commonly used chemotherapeutic drugs to date and female sex hormone estradiol separate and joint action on content of total phospholipids and their individual fractions in chromatin preparation from female rat kidney cells.

Materials and methods. The investigation was performed on adult female albino rats (120-150 g weight). The animals were kept in 20-22°C and 12 hours dark/light conditions with free

access to water and food (animals were fed with commercial rat feed) in the animal house of faculty of biology of Yerevan State University.

Experiences were fulfilled according to the “International Recommendations on Carrying out of Biomedical Researches with use of Animals” (CIOMS, 1985), to the “Human Rights and Biomedicine the Oviedo Convention” (CE, 1997), to the European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (CE, 2005) and approved by the National Center of Bioethics (Armenia).

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 after the anesthesia with chloroform. Then, animals were sacrificed, and the kidney was extracted from each group of animals and used for isolation of nuclear fraction and chromatin.

Nuclear fraction from kidney of each group of animals were isolated according to Blobel and Potter [6].

The preparations of pure nuclei (all 4 variants) were used for the isolation of chromatin [17]. Phospholipids of chromatin fraction from rat kidney cells were extracted by Bligh and Dayer [5]. The fractionation of phospholipids was performed by micro thin layer chromatography (microTLC) using 6x9 cm plates with silicagel L and chloroform – methanol – water in ratio 65:25:4 as a dividing mixture [16].

After the chromatography the plates with fractionated phospholipids 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 minutes [4].

The quantitative estimation of separated and specific died 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 and expressed as $M \pm m$ (m Standard error of the mean SEM) from 6 independent experiments. Statistical differences in the results between groups were evaluated by the Student's *t*-test.

Results and Discussion. The total quantities of phospholipids from rat kidney cells chromatin preparations in baseline and after the cisplatin and estradiol separate and joint *in vivo* action are provided in tab. 1.

The results confirm that cisplatin and estradiol were demonstrated opposite effects on total quantity of chromatin phospholipids. The total amount of phospholipids from rat kidney cells chromatin preparations decreased by 25% after the cisplatin *in vivo* action. On the contrary, the estradiol separate injection leads to increase in total amount of phospholipids in studied preparations by 18% (tab. 1).

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

*- $p < 0,05$

Variants	Phospholipids content mcg/g tissue
Baseline	288,0 $\pm$ 6,35
Cisplatin	*216,0 $\pm$ 5,48
Estradiol	*340,0 $\pm$ 11,77
Cisplatin+ Estradiol	*254,0 $\pm$ 8,54

The combined injection of cisplatin and estradiol decreased the quantity of chromatin total phospholipids by 12 % in comparison to baseline, while in comparison

with estradiol received group of animals, it was reduced by 25 % (tab 1). In comparison with cisplatin separate action increase of chromatin total phospholipids quantity by about 18 % was registered (tab.1). Consequently in case of joint action of these drugs there is competition, but the effect of estradiol is prevalent.

We've been fractioning lipids to identify individual phospholipid fractions responsible for the total phospholipids quantities alterations in rat kidney cells chromatin preparations. The fractionation of chromatin phospholipids from rat kidney cells by the microTLC method in baseline and after the cisplatin and estradiol separate and joint treatment showed the presence of five individual phospholipids (fig.1).

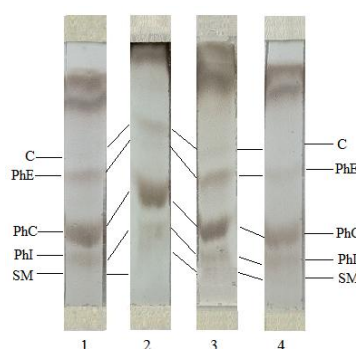


Fig. 1. Chromatograms of fractionation of chromatin phospholipids from rats kidney cells by microTLC method.

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

SM – sphingomyelin, PhI – phosphatidylinositol, PhC – phosphatidylcholine, PhE – phosphatidylethanolamine, C – cardiolipin.

Sphingomyelin, phosphatidylinositol, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and cardiolipin were obtained among the phospholipids of rat kidney cells chromatin preparations. The present results indicated that neither cisplatin nor estradiol separate nor combined action cause qualitative changes of phospholipids. The relative content of individual phospholipid fractions testified that phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine were the major components and formed about 59 % of total phospholipids amount in baseline, while the sum percent content of the other three fractions is about 41 % (tab.2). It must be mentioned that the relative percentage content of individual phospholipid fractions from rat kidney chromatin preparations undergo to negligible changes after the cisplatin and estradiol separate and joint action (tab.2).

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

*-p<0,05

N	Phospholipids	Baseline	*Cisplatin Injection	Estradiol injection	Cisplatin and estradiol joint injection
1	Sphingomyelin	14,50±0,35	15,70±0,60	9,70±0,61	12,56±0,66
2	Phosphatidylinositol	12,00±0,30	12,40±0,38	12,20±0,64	13,50±0,86
3	Phosphatidylcholine	32,50±0,58	30,80±0,44	39,35±0,85	39,60±0,85
4	Phosphatidylethanolamine	26,00±0,40	24,40±0,73	20,15±0,70	16,77±0,90
5	Cardiolipin	15,00±0,28	16,70±0,50	18,60±0,66	17,57±0,60
Total content		100	100	100	100

*Gevorgyan et al; 2016 [10]

Taking into consideration 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, the necessity arises to determine the changed in absolute quantities of individual fraction of lipids in all studied variants (tab.3 and fig. 2).

The absolute quantities of all individual fractions of phospholipids were decreased reliably after the in vivo action of cisplatin [10] (tab.3). Diminution of phospholipids in kidney chromatin preparations indicates the comprehensive action of cisplatin on lipid metabolism in intranuclear structures which may some serious prerequisites for alteration the functioning those processes where these lipids participate, regulate or act [10, 12, 13].

Individual fractions of phospholipids of rat kidney cells chromatin preparations exhibit different sensitivity to estradiol alone treatment. The quantity of three phospholipid fractions was significantly increased, while the sphingomyelin and phosphatidylethanolamine content was even decreased (tab.3).

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

*-p<0,05

N	Phospholipids	Baseline	**Cisplatin Injection	Estradiol injection	Cisplatin and estradiol joint injection
1	Sphingomyelin	41,76±1,00	*33,90±1,30	*33,00±2,07	*32,00±1,68
2	Phosphatidylinositol	34,56±0,86	*26,85±0,82	*41,46±2,18	34,30±2,19
3	Phosphatidylcholine	93,60±1,07	*66,55±1,00	*133,80±2,89	100,50±2,16
4	Phosphatidylethanolamine	74,88±1,15	*52,70±1,58	68,50±2,40	*42,60±2,30
5	Cardiolipin	43,20±0,81	*36,00±1,00	*63,24±2,26	44,60±1,52

**Gevorgyan et al; 2016 [10]

The absolute quantity of phosphatidylinositol, phosphatidylcholine and cardiolipin differed from their baseline content by 43 %, 46 % and 20 % correspondingly (fig. 2).

Though among the rat kidney cells chromatin preparations phospholipids, the phosphatidylcholine and cardiolipin exhibit great susceptibility to estradiol alone action (tab.3, fig.2), cisplatin and estradiol joint treatment restored the baseline value of phosphatidylinositol, phosphatidylcholine and cardiolipin (tab.3, fig.2). On the same time the absolute quantity of sphingomyelin and phosphatidylethanolamine decreased significantly after the joint action of cisplatin and estradiol correspondingly by 23,3 % and 43% in comparison with baseline (tab.3, fig 2). It is well known that chromatin phospholipids in dose dependent manner are capable of regulating DNA replication, transcription and gene expression [1, 7, 12, 19]. It has been shown the involvement of nuclear lipids in remodeling of chromatin and epigenetic regulation of gene expression [7, 12, 19].

In light of these findings our results obtained on quantitative changes of rat kidney chromatin phospholipids individual fractions take on considerable importance.

The data presented above indicated that in case of separate action cisplatin and estradiol demonstrated its own abilities suppress or stimulate metabolic processes. The quantitative changes in chromatin phospholipids in case of cisplatin alone action should be considered negative side effects. The changes obtained in case of combination of cisplatin therapies with sex hormone estradiol most likely have a positive effect and may be helpful in reduction of undesirable side effects.

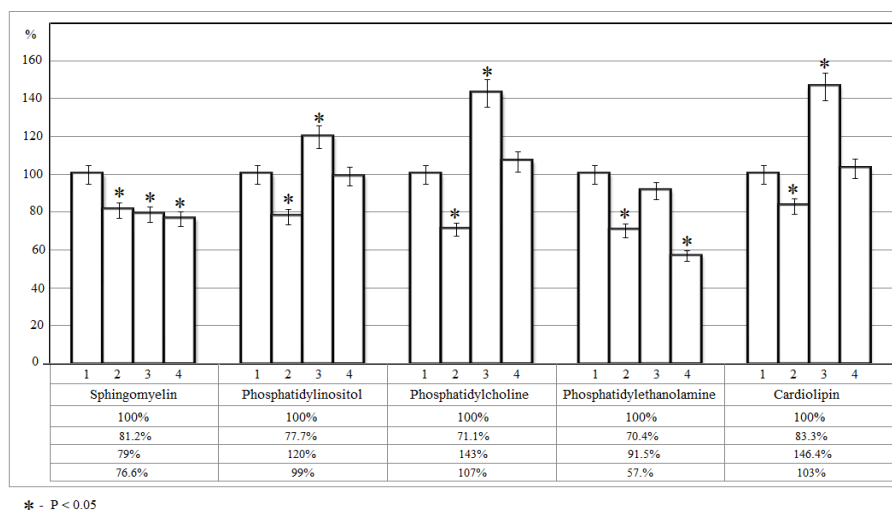


Fig.2. Changes (in %) of absolute quantities of individual phospholipids of chromatin from rat kidney cells.
 1 – baseline, 2 – after the cisplatin separate action (Gevorgyan E.S. et al, 2016) [10]),
 3 – after the estradiol separate action, 4 – after the cisplatin and estradiol joint action

Thus, it can be concluded that in the cell nucleus, lipids are not "a minor component" of the intranuclear environment, but are key elements for the correct functioning of nuclear processes [2].

REFERENCES

1. Ai D., Guan Y., Liu X.J., Zhang C.F., Wang P., Liang H.L., Guo Q.S. Clinical comparative investigation of efficacy and toxicity of cisplatin plus gemcitabine or plus Abraxane as first-line chemotherapy for stage III/IV non-small-cell lung cancer. *Oncotargets Ther.*, 9, 2, 5693- 5698, 2016. ISSN 1178- 6930 (Print) 1178-6930.
2. Albi E. Role of intranuclear lipids in health and disease. *Clinical Lipidology*, 6, 59-69, 2011.
3. Aldossary S.A. Review on pharmacology of cisplatin: Clinical use, toxicity and mechanism of resistance of cisplatin. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 12, 7-15, 2019.
4. Bitman J., Wood D.L. An Improved Copper Reagent for Quantitative Densitometric Thin-Layer Chromatography of Lipids. *Journal of Liquid Chromatography*, 5, 1155-1162, 1982. <https://doi.org/10.1080/01483918208067575>.
5. Bligh E.G., Dayer W.Y. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911-917, 1959.
6. Blobel G., Potter V.R. Nuclei from rat liver: Isolation method that combines purity with high yield. *Science*, 154, 76-79, 1966.
7. Castano E., Yildirim S., Fáberová V., Krausová A., Uličná L., Paprčková D., Sztachó M. & Hozák P., Nuclear Phosphoinositides - Versatile Regulators of Genome Functions. *Cells*, 8, 649, 1-19, 2019. Doi:10.3390/cells8070649.
8. Dulz S., Asselborn N.H., Dieckmann K.P., Matthies C., Wagner W., Weidmann J., Seidel C., Oing C., Berger L.A., Alsdorf W., Mankichian B., Meyer C., Vetterlein M.W., Gild P., Lidwig T.A., Soave A., Schriefer P., Beeker A., Ahyai S.A., Oechsle K., Bokemeyer C., Wagenfeld L., Fisch M., Hartmann M., Chun F.K., Kluth L.A. Retinal toxicity after cisplatin based chemotherapy in patients with germ cell cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 143, 1319-1325, 2017. ISSN 0171-5216.

9. Garcia S.L., Lauritsen J., Zhang Z., Bandak M., Dalgaard M.D., Nielsen R.L., Daugaard G., Gupta R., Prediction of Nephrotoxicity Associated With Cisplatin-Based Chemotherapy in Testicular Cancer Patients. *JNCI Cancer Spectrum*, 4, 1-8, 2020 .
10. Gevorgyan E.S., Yavroyan Zh.V., Hovhannisyan A.G., Hakobyan N.R., Sargsyan E.G. Cisplatin in vivo action on lipid content in chromatin from rat kidney cells. *Bilog. Journal of Armenia*, 3, 12-18, 2016.
11. Grott M., Karakaya S., Mayer F., Baertling F., Beyer C., Kipp M., Kopp H.G., Progesterone and estrogen prevent cisplatin-induced apoptosis of lung cancer cells. *Anticancer Res.*, 33, 791-800, 2013.
12. Kuvichkin V. The role of interactions of nucleic acids with lipids in nuclear pore assembly, genome expression and carcinogenesis. *MOJ Proteomics & Bioinformatics*, 7, 215-217, 2018.
13. Papsdorf K., Brunet A. Linking lipid metabolism to chromatin regulation in aging. *Trends Cell Biol.*, 29 , 97-116, 2019. doi:10.1016/j.tcb.2018.09.004.
14. Sarin N., Engel F., Rothweiler F., Cinatl J., Michaelis M., Frötschl R., Fröhlich H., Kalayda G.V. Key Players of Cisplatin Resistance: Towards a Systems Pharmacology Approach. *Int. J. Mol. Sci.*, 19, 767, 1-18, 2018. ISSN 1422-0067.
15. Singh L., Aldosary S., Saeedan A.S., Ansari M.N., Kaithwas G. Prolyl hydroxylase 2: a promising target to inhibit hypoxia-induced cellular metabolism in cancer cells. *Drug Discov Today*, 23, 11, 1873-1882, 2018: ISSN 1359-6446.
16. Skipski V.P., Peterson R.F., Barclay M. Quantitative Analysis of Phospholipids by Thin-Layer Chromatography. *Biochem. J.*, 90, 2, 374-378, 1964. doi: 10.1042/bj0900374
17. Umansky S.R., Kovalev J.J., Tokarskaya V.Y. Specific interaction of chromatin nonhistone proteins with DNA. *Biochem. Biophys. Acta*, 383, 242-248, 1975.
18. Volarevic V., Djokovic B., Jankovic M.G., Harrell C.R., Fellabaum C., Djonov V., Arsenijevic N. Molecular mechanisms of cisplatin-induced nephrotoxicity: a balance on the knife edge between renoprotection and tumor toxicity. *Journal of Biomedical Science*, 26, 25, 1-14, 2019.
19. Zhdanov R.I., Schirmer E.C., Venkatasubramani A.V., Kerr ARW, Rodrigues Blanco G., Kagansky A. Lipid Contribute to Epigenetic Control via Chromatin Structure and Functions, *Science Open Res.*, 10, 1-9, 2015.
20. Zhu H., Luo H., Zhang W., Shen Z., Hu X., Zhu X. Molecular mechanisms of cisplatin resistance in cervical cancer. *Drug Des Devel Ther*, 10, 1885-1895, 2016: ISSN 1177-8881.

Received on 12.08.2020



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4 (72), 2020

ՔԱՅՔԱՅՎԱԾ ՎՈՒՇԵ ԳՈՐԾՎԱԾՔԻ ՔԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՆՏԱՌԱՅԻՆ ԴԱՐՉՆԱԳՈՒՅՆ ՀՈՂԵՐՈՒՄ *BACILLUS THURINGIENSIS* ՏԵՍԱԿԻ ԲԱԿՏԵՐԻԱԿԱՆ ՄԻՋԱՏԱՍՊԱՆՆԵՐՈՎ ՑՈՂՈՒՄԻՑ ՀԵՏՈ

Ե.Ն. ՉԱՊԱՆՅԱՆ

Սևնդամթերքի անվտանգության ոլորտի ռիսկերի գնահատման և
վերլուծության գիտական կենտրոն
elene.chapanyan@mail.ru

2018-2019թթ. հետազոտություններով հաստատված է, որ *Bacillus thuringiensis* տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերում վուշե գործվածքի բայթայումը վեգետացիայի շրջանում (հունիսից սեպտեմբեր) կրում է դինամիկական փոփոխություն՝ առավելագույն և նվազագույն քանակություններ դրսևորելով համապատասխանաբար հուլիսին և հունիսին:

Ստյուդենտի $t_{\text{կրիտերիա}}$ -ով հաստատված է, որ վուշե գործվածքի բայթայումը վեգետացիայի շրջանում բակտերիական միջատասպաններով ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերում արժանահավատորեն միմյանցից չի տարբերվում: Վերոնշյալ հողերում արձանագրված է ցեյուլոզ բայթայող միջսոբակտերների երկու տեսակ (*Cytophaga aurantiaca* և *Cytophaga lutea*), ներկայացված են դրանց մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական որոշ առանձնահատկությունները:

Bt տեսակի միջատասպաններ – անտառային դարչնագույն հողեր – վուշե գործվածք –
ցողում – ցեյուլոզ բայթայող մանրէներ

Исследованиями, проведенными в 2018-2019гг., выявлено, что в неопрыснутых (контроль) и опрыснутых бактериальными инсектицидами вида *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) коричневых лесных почвах разложение льняной ткани в период вегетации (с июня по сентябрь) претерпевало динамические изменения: максимальное и минимальное количества отмечены соответственно в июле и июне. С помощью $t_{\text{критерия}}$ Стьюдента установлено, что в период вегетации разложение льняной ткани в неопрыснутых и опрыснутых *Bt* бактериями коричневых лесных почвах достоверно различалось.

В вышеупомянутых почвах зафиксированы два вида целлюлозоразрушающих миксобактерий (*Cytophaga aurantiaca* и *Cytophaga lutea*), представлены их некоторые морфологические и физиологические особенности.

*Инсектициды вида Bt – коричневые лесные почвы – льняная ткань – опрыскивание –
целлюлозоразрушающие микроорганизмы*

Upon the investigations conducted in 2018-2019, it has been proved that in the brown forest soils sprayed with the bacterial insecticide of *Bacillus thuringiensis* type and in those left unsprayed (control), dynamic changes are observed in the decomposition rate of the flax fiber throughout the vegetation period (from June to September) providing maximum and minimum quantities in July and June respectively. By the Student's t -test it has been stated that there isn't any significant difference between the unsprayed (control) brown forest soils and those sprayed with bacterial insecticides in terms of the decomposition rate of the flax fiber.

In the abovementioned soils two types of cellulose-decomposing myxobacteria (*Cytophaga aurantiaca* and *Cytophaga lutea*) are recorded and some of their morphological and physiological peculiarities are introduced.

*Insecticides of Bt type – brown forest soils – flax fiber – spraying –
cellulose-decomposing bacteria*

Ցեյուլոզը (թաղանթանյութ) բազմաշաքար է՝ կազմված β -D-գլյուկոզի շղթաներից [18, 22]: Այն բույսերի բջջապատի գլխավոր բաղադրամաս է և կազմում է բույսերի ընդհանուր զանգվածի 50-95 %-ը: Սինթեզման իր մասշտաբներով այն գերազանցում է բնական այլ միացությունների սինթեզը [21, 22, 24]: Հաստատված է, որ ֆոտոսինթեզի ճանապարհով տարեկան սինթեզվում է շուրջ 4×10^{10} տոննա ցեյուլոզ [15]:

Ցեյուլոզի մեծ քանակություն տեղաբաշխված է հողի մակերևույթին, որտեղ հողաբնակ աերոբ մանրէները՝ բակտերիաները, սնկերը, ակտինոմիցետները, առավել ակտիվորեն բակտերիաները, իրենց իսկ կողմից սինթեզված արտաբջջային ցեյուլազ ֆերմենտի ազդեցությամբ քայքայելով ցեյուլոզը, ներառում են այն ածխածնի շրջապտույտ [12]: Ցեյուլազը, պատկանելով հիդրոլազների դասին, կատալիզում է ցեյուլոզում β (1,4) գլիկոզիդային կապերի ճեղքումը՝ առաջացնելով գլյուկոզ կամ ցելոբիոզ [6]: Ցեյուլոզի ճեղքումից ձևավորված ջրում լուծելի շաքարներն աերոբ պայմաններում մանրէների կողմից փոխակերպվում են օքսիթթուների, որոնք ևս օքսիդանալով մեծ քանակությամբ էներգիայի անջատումով վերածվում են վերջնանյութերի [12]: Ձևավորված օքսիթթուներն էներգետիկ լավ նյութեր են նաև ազոտֆիքսող հողաբնակ մանրէների համար: Ցեյուլոզի քայքայման պրոցեսում սինթեզված ուրոնային թթուները, սպիտակուցի հետ միանալով, ձևավորում են ուրոնապրոտեիդային կոմպլեքս՝ դրանով իսկ մասնակցելով հումուսի սինթեզին [12, 19]:

Որոշ հեղինակների պնդմամբ ցեյուլոզի քայքայման ինտենսիվությունը համարվում է հողի բերրիության և կենսաբանական ակտիվության չափանիշ [10, 13]: Որպես բերրիության չափանիշ, նշված ցուցանիշը տարբեր հողային պայմաններում (կարտոֆիլով զբաղեցված սևահողեր, խնձորենիով զբաղեցված բաց շագանակագույն և կիսա-անապատային գորշ հողեր, անտառածածկ տիպիկ սևահողեր, Սևանա լճի ջրերից ազատված անտառածածկ հողագրունտ) առանձին հեղինակներ դիտարկել են իրենց հետազոտություններում [2, 5, 14, 16]: Ցեյուլոզի քայքայման ինտենսիվությունը անտառային դարչնագույն հողերում առաջին անգամ ուսումնասիրվել է մեր կողմից, որի արդյունքներն ամփոփված են ներկա աշխատանքում:

Գրական աղբյուրների համաձայն՝ վնասակար միջատների դեմ պայքարի նպատակով օգտագործված ինսեկտիցիդների աննշան մասն է խոցում վնասատուներին, իսկ հիմնական չափաբաժինը (60-99%) տարբեր ուղիներով՝ ցողելիս, անձրևաջրերով ցողված սաղարթը լվացվելիս [20, 23], մահացած թրթուրների և հարսնյակների մարմիններից [11] ի վերջո ընկնում է հող:

Մեր հետազոտություններով բացահայտված է, որ կենսացենոզից մեր կողմից անջատված *Bacillus thuringiensis* (Bt) տեսակի միջատասպան շտամները ցողման արդյունքում անտառային դարչնագույն հող ընկնելիս քանակության նվազման միտումով պահպանվում են 4 ամիս [3]: Ուստի, ելնելով վերոնշվածից, խնդիր ենք դրել երկամյա (2018-2019թթ.) հետազոտություններով բացահայտել ցողման արդյունքում հող ընկած բակտերիական միջատասպանների ազդեցությունը հողի բերրիության ցուցանիշ՝ վուշե գործվածքի քայքայման ինտենսիվության վրա:

Հետազոտության արդյունքները հնարավորություն կընձեռեն ընտրելու վնասակար միջատների դեմ կենսաբանական բարձր արդյունավետությամբ օժտված, էկոլոգիապես անվտանգ Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններ:

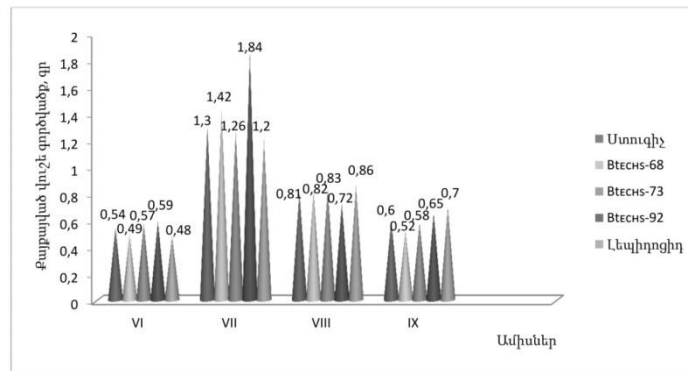
Bt տեսակի բակտերիական շտամների ($Bt_{ECHS-68}$, $Bt_{ECHS-73}$, $Bt_{ECHS-92}$) կենսաբանական արդյունավետության տվյալները ներկայացված են առանձին հրապարակումներում [4, 25]:

Լյուլթ և մեթոդ: Հետազոտության լյուլթ են հանդիսացել մեր կողմից կենսացենոզի առանձին տարրերից առանձնացված *Bacillus thuringiensis* (Bt) տեսակի միջատասպան $Bt_{ECHS-68}$, $Bt_{ECHS-73}$, $Bt_{ECHS-92}$ բակտերիաները, Ռուսաստանի Դաշնությանից ներկրված լեպիդոցիդ (ԿՄ 3000 ՍՄ/մգ փոշում) առևտրային պատրաստուկը, Արագածոտնի մարզի Ձորագուլուխ համայնքին հարակից կաղնուտ անտառների անտառային դարչնագույն հողերը (հողի A՝ 2-14 սմ ուղղաձիգ խորությունում հումուսի պարունակությունը կազմել է 6,3 %, pH-ը՝ 6,4), անտառային հողում տեղադրված ցեյուլոզային բնույթի վուշե գործվածքն ու ցեյուլոզ քայքայող հողաբնակ մանրէները:

Ցեյուլոզի քայքայման ինտենսիվությունը Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով առանձին ցողված և չցողված անտառային դարչնագույն հողերում որոշվել է ապիկացիայի եղանակով և արտահայտվել վուշե գործվածքի զանգվածի կորստով [9]: Անտառփորձատեղամասերում ցողված կուլտուրալ հեղուկի տիտրը (խտությունը) եղել է 600 մլ սպոր/մլ, իսկ աշխատանքային հեղուկի ծախսը՝ 1000 լ/հա: Անտառտեղամասերում ցողումները կատարվել են OBT-1A մակնիշի տրակտորային, առանձին դեպքերում՝ Ozdesan մակնիշի մեքի սրսկիչներով: Անտառային դարչնագույն հողերից առանձնացված ցեյուլոզ քայքայող բակտերիաների երկայնական չափերը, շարժունակությունը, սպորների և մորակների հայտնաբերումը ներկման եղանակով իրականացվել են ըստ ուսումնամեթոդական և գործնական ձեռնարկների [1, 17]: Գիտափորձերի արդյունքները ենթարկվել են վիճակագրական վերլուծության [7], իսկ վուշե գործվածքի քայքայված զանգվածի համեմատական գնահատականը Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով առանձին ցողված և չցողված (ստուգիչ) տարբերակների միջև տրվել է ըստ Ա. Բերնստայնի [8]:

Արդյունքներ և քննարկում: Երկամյա (2018-2019 թթ.) հետազոտություններով հաստատված է, որ Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ($Bt_{ECHS-68}$, $Bt_{ECHS-73}$, $Bt_{ECHS-92}$, լեպիդոցիդ) առանձին ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերում տեղադրված վուշե գործվածքի քայքայումը բուսաճական (վեգետացիայի) շրջանում կրում է շարժընթացիկ (դինամիկական) փոփոխություն (գծապատկեր 1):

Գծապատկեր 1-ի տվյալներից երևում է, որ վեգետացիայի շրջանում վուշե գործվածքը անտառային դարչնագույն հողերում համեմատաբար քիչ և շատ քանակություններով քայքայվել է համապատասխանաբար հունիսին և հուլիսին: Օգոստոսից սեպտեմբեր, հուլիսի համեմատ, արձանագրվել է վուշե գործվածքի քայքայման ինտենսիվության աստիճանաբար նվազում: Թվային ցուցանիշներով արտահայտված քայքայված վուշե գործվածքի քանակը քննարկված տարբերակներում հունիսին, հուլիսին, օգոստոսին և սեպտեմբերին տատանվել է համապատասխանաբար 0,48-0,59, 1,20-1,84, 0,72-0,86 և 0,52-0,70 գրամի սահմաններում:



Գծապատկեր 1. Քայքայված վուշե գործվածքի քանակության երկամյա (2018-2019 թթ.) միջին ցուցանիշները Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ցողված և չցողված անտառային դարչնագույն հողերում

Քայքայված գործվածքի երկամյա միջին ցուցանիշները հունիսին, հուլիսին, օգոստոսին և սեպտեմբերին միջին հաշվով կազմել են ելանյութային գործվածքի կշռի համապատասխանաբար 12,1; 31,5; 18,0 և 14,2 %-ը:

Աղ. 1-ի տվյալներից երևում է, որ անտառային դարչնագույն հողերում 2018 թ.-ին բայթայված վուշե գործվածքի զանգվածը Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ցողված և չցողված (ստուգիչ) տարբերակներում հունիսին, հուլիսին, օգոստոսին և սեպտեմբերին տատանվել է համապատասխանաբար 0,456-0,578, 0,980-1,206, 0,738-0,848 և 0,532-0,718 գրամի սահմաններում:

Աղյուսակ 1. Bt տեսակի միջատասպաններով ցողված և չցողված անտառային դարչնագույն հողերում վուշե գործվածքի բայթայված զանգվածի վիճակագրական ցուցանիշները (2018թ.)

Տարբերակներ	Հողանմուշների վերցնելու ժամկետը	Բայթայված վուշե գործվածքի միջին կշիռը, գ	Վիճակագրական ցուցանիշներ				
			Քառակուսային շեղումը	Տատանման գործակիցը, %	Միջին սխալը	Փորձի սխալը, %	Ստյուդենտի t-պահանջի հաշվարկային ցուցանիշները
BtECHS-68	Հունիս	0,480	0,046	9,58	0,021	4,4	1,478
	Հուլիս	1,206	0,063	5,22	0,028	2,3	0,665
	Օգոստոս	0,806	0,061	7,57	0,027	3,3	0,638
	Սեպտեմբեր	0,532	0,052	9,77	0,023	4,3	2,181
BtECHS-73	Հունիս	0,562	0,040	7,12	0,018	3,2	1,116
	Հուլիս	0,980	0,110	11,22	0,049	5,0	2,469
	Օգոստոս	0,822	0,060	7,30	0,027	3,3	0,990
	Սեպտեմբեր	0,574	0,050	8,71	0,022	3,8	1,245
BtECHS-92	Հունիս	0,578	0,047	8,13	0,021	3,6	1,516
	Հուլիս	1,100	0,067	6,09	0,030	2,7	1,077
	Օգոստոս	0,738	0,074	10,03	0,033	4,5	0,740
	Սեպտեմբեր	0,680	0,050	7,35	0,022	3,2	1,198
Լեպիդոցիդ	Հունիս	0,456	0,056	12,28	0,025	5,5	1,974
	Հուլիս	1,056	0,070	6,63	0,031	2,9	1,772
	Օգոստոս	0,848	0,057	6,72	0,025	2,9	1,579
	Սեպտեմբեր	0,718	0,045	6,27	0,020	2,8	2,140
Ստուգիչ (չցողված)	Հունիս	0,528	0,046	8,71	0,021	4,0	-
	Հուլիս	1,166	0,102	8,75	0,046	3,9	-
	Օգոստոս	0,776	0,071	9,15	0,032	4,1	-
	Սեպտեմբեր	0,628	0,071	11,31	0,032	5,1	-

Ծանոթագրություն. «<->» հաշվարկներն իրականացնելիս ստուգիչի տվյալները ներառված են Ստյուդենտի t-պահանջի բանաձևում, $P_{0,95} \ n=5$ -ի դեպքում Ստյուդենտի t-պահանջի աղյուսակային ցուցիչը հավասար է 2,571-ի:

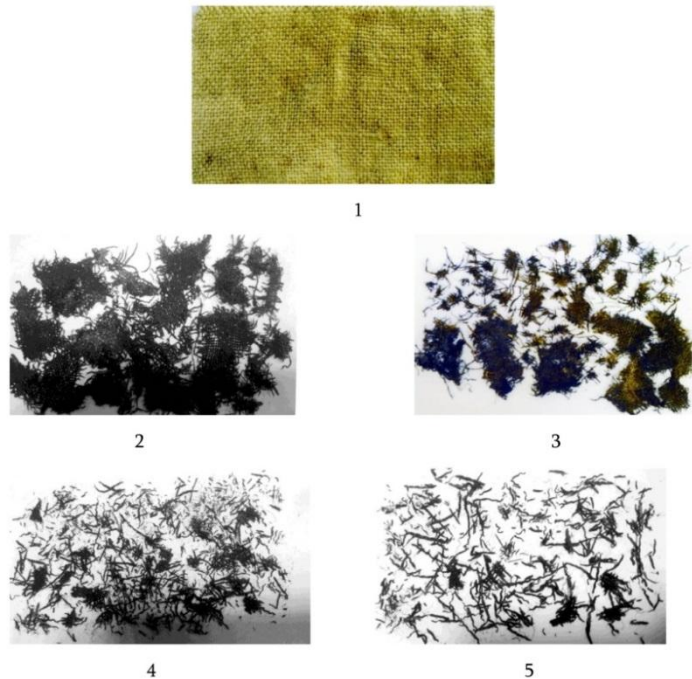
Աղ.1-ում ներկայացված փորձի սխալի (ընդհանուր առմամբ 2,3-5,5 %) և տատանման գործակցի (ընդհանուր առմամբ 5,22-12,28 %) ցուցանիշներով հաստատված է, որ գիտափորձերի արդյունքները հավաստի են: Ստորև ներկայացված է վուշե գործվածքի բայթայման գործընթացը վեգետացիայի շրջանում:

$P_{0,95}$ և $n=5$ պարամետրերի դեպքում լինելով փոքր Ստյուդենտի t-պահանջի աղյուսակային 2,571 ցուցիչից՝ հաստատել են, որ Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերում բայթայված վուշե գործվածքի կշռային ցուցանիշների միջև չկա արժանահավատ տարբերություն:

Հետզինտոնի հեղուկ սննդամիջավայրի և ֆիլտրե թղթի առկայությամբ Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերից, լաբորատոր պայմաններում մեր կողմից առանձնացվել են Myxobacteriaceae ընտանիքին պատկանող Նարնջագույն գուլանյուլթ սինթետոլ Cytophaga aurantiaca Winogr. և վառ դեղնավուն գուլանյուլթ սինթետոլ Cytophaga lutea Winogr.

ցեյուլոզ քայքայող տեսակները: Վերջիններիս բջիջները թեթև կորացած են և սրածայր (իլիկաձև): Դրանց բջիջների միջին երկարությունները կազմել են համապատասխանաբար 5,8 և 5,2 մկմ:

Դիտարկման արդյունքներից պարզվել է, որ *Cytophaga*-ները գունանյութի ակտիվ սինթեզն իրականացրել են հեղուկ սննդամիջավայրի և ֆիլտրե թղթի հպման տեղամասում: Վերոնշյալ մանրէների տարիքավոր առանձնյակները միկրոցիստ չեն առաջացնում. բջիջները բւեռներից չեն կարճանում և գնդաձև տեսքի չեն փոխարկվում:



Նկ. 1-5-ում ներկայացված են վուշե գործվածքի տեսքը մինչ անտառային հողում տեղադրելը (ելանյութային գործվածք) (1) և քայքայված վիճակը հունիսին (2), հուլիսին (3), օգոստոսին (4) և սեպտեմբերին (5) *Bt_{ECHS}-68* բակտերիական միջատասպանով ցողումից հետո

Մանրադիտակային հետազոտություններով հաստատված է, որ անտառային դարչնագույն հողերում առկա *Cytophaga aurantiaca* Winogr. և *Cytophaga lutea* Winogr. տեսակները ֆիլտրե թուղթը քայքայելիս բջիջները երկայնքով դասավորվել են ցեյուլոզային թելիկի առանցքին հորիզոնական:

Անտառային դարչնագույն հողերում արձանագրված *Cytophaga aurantiaca*-ն և *Cytophaga lutea*-ն աերոբ են, սպորներ և մտրակներ չեն առաջացնում: Սակայն նշված մանրէները շարժունակ են, և դրանց տեղաշարժը լորձում տեղի է ունենում բջջի կտրուկ ոլորումներով:

Այսպիսով, հետազոտության արդյունքներից եկել ենք հետևության, որ վուշե գործվածքի քայքայումը վեգետացիայի շրջանում կրում է դինամիկական փոփոխություն, և անտառային դարչնագույն հողերում ցեյուլոզն ակտիվորեն քայքայում են միքսոբակտերիաների երկու տեսակ:

Վիճակագրական վերլուծության արդյունքներով հաստատված է, որ գիտափորձերի արդյունքները հավաստի են, *Bt* տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ցողված և չցողված անտառային դարչնագույն հողերում քայքայված վուշե գործվածքի

զանգվածների, ինչպես նաև ցեյուլոզ քայքայող մանրէների ձևաբանական և ֆիզիոլոգիական առանձնահատկությունների միջև չկան տարբերություններ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Թռչունյան Ա.Յ., Փանոսյան Յ.Յ., Բազումյան Ի.Լ., Մարգարյան Ա. Ա., Պոպով Յու.Գ.* Մանրէաբանության լաբորատոր աշխատանքներ (Ուսումնամեթոդական ձեռնարկ): Երևան, ԵՊՀ, 314 էջ, 2014:
2. *Կարապետյան Ա. Մ.* Bacillus thuringiensis տեսակի միջատասպանների ազդեցությունը Սևանա լճի անտառածածկ հողագրունտների կենսաբանական ակտիվության վրա: Սեղմագիր ատենախոս. կենսաբ. գիտ. թեկն. հայց.: Երևան, 21 էջ, 2009:
3. *Չապանյան Ե.Ն.* Յոդոլմից հետո Bt տեսակի բակտերիական միջատասպանների քանակության դինամիկան անտառային դարձնագույն հողերում. ՀԱԱՀ տեղեկագիր, Երևան, N 3, էջ 76-80, 2019:
4. *Չապանյան Ե.Ն., Մարգարյան Մ.Ա.* Bacillus thuringiensis տեսակի հիմքով տեղական բակտերիական միջատասպանների կենսաբանական ակտիվությունը ձմեռային երկրաչափի թրթուրների դեմ. Հայաստանի կենսաբանական հանդես, Երևան, Հ. LXX, N 4, էջ 43-49, 2018:
5. *Մարգարյան Մ.Ա.* Հողային հերթիցիլների ազդեցությունը կարտոֆիլով զբաղեցված սևահողերի կենսաբանական ակտիվության վրա Գեղարքունիքի մարզի պայմաններում: Սեղմագիր ատենախոս. գյուղ. գիտ. թեկն. հայց.: Երևան, 25 էջ, 2013:
6. *Սեմերջյան Յ.Յ., Սեմերջյան Ի.Յ., Սեմերջյան Գ.Յ., Թռչունյան Ա.Յ.* Ելակյութի աղբյուրի և որոշ ֆիզիկաքիմիական գործոնների ազդեցությունը սնկերի ցեյուլոզի ակտիվության վրա. Հայաստանի կենսաբանական հանդես: Երևան, ՀՀ ԳԱԱ «Գիտություն», Հ. LXXII, N 1-2, էջ 152-158, 2020:
7. *Ашмарин И.П., Воробьев А.А.* Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л., Медгиз, 180 с, 1962.
8. *Бернштейн А.* Справочник статистических решений. М., Статистика, 162 с, 1968.
9. *Востров И.С., Петрова А.Н.* Определение биологической активности почвы различными методами. Микробиология, 30, В. 4, с. 665-672, 1961.
10. *Гаурят В.И., Наплекова Н.Н., Хмелев В.А.* Сравнительная оценка показателей биологической активности черноземов горного Алтая. Известия СО АН СССР, Сер. биол. и мед. наук, В. 3, 15, с. 31-35, 1977.
11. *Гукасян А.Б., Туранова Л.К., Саркисян М.А., Сорокина А.Г.* Продуктивность кристаллообразующих микроорганизмов в лесных биогеоценозах. В сб.: Микрофлора и перспективы ее использования в повышении продуктивности лесов. Красноярск, с. 3-18, 1978.
12. *Ежов Г.И.* Руководство к практическим занятиям по сельскохозяйственной микробиологии. М.: Высшая школа, с. 209-213, 1974.
13. *Имшенецкий А.А.* Микробиология целлюлозы. М.: АН СССР, 438 с. 1953.
14. *Казарян Н.П.* Влияние энтомопатогенов вида Bacillus thuringiensis на биологическую активность почв яблоневых садов Арагацотнской области: Автореф. дис. канд. биол. наук, Ереван, 21 с., 2007.
15. *Квеститадзе Г.И., Безбородов А.М.* Введение в биотехнологию. М., Наука, 347 с., 2002.
16. *Месроbian А.Р.* Влияние БТБ и лепидоцида на микрофлору и ферментативную активность облесенных типичных черноземов: Автореф. дис. канд. биол. наук. Ереван, 32 с., 2011.
17. *Нетрусов А.И., Егоров М.А., Захарчук Л.М.* Практикум по микробиологии. М., ИЦ Академия, 608 с, 2005.
18. *Титок В.В., Леонтьев В.Н., Дедоренко И.В., Кубрик С.В., Юренкова С.И., Грушецкая З.Е.* Биосинтез целлюлозы: современный взгляд и концепции. Труды Белорусского государственного университета, 2, Ч. 1, с. 54-64, 2007.
19. *Черемисинов Н. А., Боева Л.И., Семихатова О.А.* Практикум по микробиологии. М.: Высшая школа, с. 90-94, 1967.
20. *Чигарев Г.А., Старостин С.П., Калабина М.Н.* Снос пестицидов при их применении. Бюл. ВНИИЗР. Л., 27, с. 13-18, 1974.

21. Шарипов Ш.Р., Умаров Ш.И., Жулбоев Т.А., Алимкулов С.О. Целлюлоза- главный строительный материал растительного мира. Техническая целлюлоза и ее свойства. Молодой ученный, 86, 6, с. 250-253, 2015.
22. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, с. 348-352, 1972.
23. Яблоков А. Игра против вредителей. Правда, N 299, с. 3, 1987.
24. Berlioz S., Molina- Boisseau S., Nishiyama Y., Heux I. Gas-Phase Surface Esterification of Cellulose Microfibrils and Whiskers. Biomacromolecules, 10, p. 2144-2151, 2009.
25. Chapanyan E., Sargsyan M. The biological efficiency of the local bacterial insecticide of *Bacillus thuringiensis* species against the caterpillars of the brown-tail moth. Bulletin of National Agrarian University of Armenia, Yerevan, N 3, p. 5-8, 2018.

Ստացվել է 14.09.2020



Биолог. журн. Армении, 4 (72), 2020

СЕЗОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИНТЕРВАЛЬНОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И МЕЛАТОНИНА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС

Р.В. ЯНКО

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины
biolag@ukr.net

Целью данной работы было сравнение влияния комбинированного воздействия интервальной нормобарической гипоксии и мелатонина в разные сезоны года на морфофункциональное состояние щитовидной железы (ЩЖ) спонтанно-гипертензивных крыс. Исследование выполнено на 48 крысах-самцах линии SHR. Гипоксическую газовую смесь (12 % O₂ и 88 % N₂) ежедневно подавали подопытным животным в прерывистом режиме: 15 минут деоксигенация / 15 минут реоксигенация в течение 2 часов. Мелатонин вводили перорально в дозе 5 мг/кг в 10.00 ч. Общая продолжительность эксперимента составила 28 дней. Гистологические препараты готовили по стандартной методике. Гистоморфометрию цифровых изображений препаратов проводили с помощью компьютерной программы “Image J”. Показано, что ЩЖ крыс по-разному реагировала на комбинированное воздействие интервальной гипоксии и мелатонина в разное время года. Признаки активности железы усилились после воздействия гипоксии и мелатонина весной. Об этом свидетельствует меньшая площадь фолликулов и коллоида, большее количество тиреоцитов в фолликуле, меньшее количество межфолликулярной соединительной ткани по сравнению с контролем. Пролонгированное воздействие интервальной гипоксии и мелатонина осенью, наоборот, увеличило площадь фолликулов, коллоида, внутренний диаметр фолликулов, снизило фолликулярно-коллоидный индекс и увеличило индекс накопления коллоидов. Это свидетельствует о снижении активности ЩЖ. Таким образом, весной морфофункциональная активность ЩЖ умеренно повышается, а в осенний период, наоборот, снижается.

Интервальная гипоксия – мелатонин – щитовидная железа – гипертензивные крысы

Սույն աշխատանքի նպատակն է եղել համեմատել ինտերվալային նորմոբարիկ հիպոքսիայի և մելատոնինի համակցված ազդեցությունը հիպերտենզիվ առնետների վահանաձև գեղձի մորֆոֆունկցիոնալ վիճակի վրա՝ տարվա տարբեր եղանակներին: Հետազոտությունն իրականացվել է SHR գծային 48 արական սեռի առնետների վրա: Փորձակենդանիներին ամեն օր ընդհատվող կարգով տրվել է հիպոքսիկ /թթվածնաբաղադրյալի/ գազային խառնուրդ (12% O₂ և 88% N₂)՝ 15 րոպե դեօքսիգենացում / 15 րոպե ռեօքսիգենացում 2 ժամվա ընթացքում: Մելատոնինը տրվել է պերորալ եղանակով՝ 5 մգ / կգ չափաբաժնով՝ առավոտյան 10:00-ին: Փորձի ընդհանուր տևողությունը կազմել է 28 օր: Հյուսվածքաբանական պատրաստուկները պատրաստվել են ստանդարտ մեթոդով: Պատրաստուկների թվային պատկերների հիստոմորֆոմետրիան իրականացվել է Image J համակարգչային ծրագրով: Ցույց է տրվել, որ առնետների վահանաձև գեղձը տարբեր կերպ է արձագանքում տարվա տարբեր ժամանակահատվածներում ինտերվալային հիպոքսիայի և մելատոնինի համատեղ ազդեցությանը: Գեղձի գործունեության ակտիվացումը դիտվել է զարնանը՝ ֆոլիկուլների և հիպոքսիայի և մելատոնինի ազդեցությունից հետո: Այդ մասին էին վկայում փորձակենդանիների վահանաձև գեղձում ֆոլիկուլների և կոլոիդի ավելի փոքր մակերեսները, ֆոլիկուլում թիրոցիտների ավելի մեծ բնակությունը և միջֆոլիկուլային շարակցական հյուսվածքի ավելի փոքր բնակությունը ստուգիչ կենդանիների համեմատ: Աշնանը, հիպոքսիայի և մելատոնինի երկարատև ինտերվալային ազդեցության արդյունքում, ընդհակառակը, դիտվել է ֆոլիկուլ-

ների և կոլոիդի մակերեսի մեծացում, ֆոլիկուլների ներքին տրամագիծը մեծացել է, նվազել է ֆոլիկուլային-կոլոիդային ինդեքսը և աճել կոլոիդների կուտակման ինդեքսը: Այդ փոփոխությունները վկայում են վահանաձեւ գեղձի գործունեության ակտիվության նվազման մասին: Այսպիսով, գարնանը վահանաձեւ գեղձի մորֆոֆունկցիոնալ ակտիվությունը չափավոր ավելանում է, իսկ աշնանը, ընդհակառակը, նվազում:

Ինտերվալային թթվածնաբաղձ – մելատոնին – վահանաձեւ գեղձ – հիպերտենզիվ առնետներ

The aim of this work is to compare the effect of the combination influence of interval normobaric hypoxia and melatonin in different seasons of the year on the morphofunctional state of the hypertensive rats' thyroid gland. The study was carried out on 48 male rats of the SHR line. The hypoxic gas mixture (12 % O₂ and 88 % N₂) was daily given to experimental animals in intermittent mode: 15 minutes deoxygenation / 15 minutes reoxygenation for 2 hours. Melatonin was administered orally in a dose of 5 mg / kg at 10.00 a.m. The total duration of the experiment was 28 days. Histological preparations were prepared according to a standard methodic. Histomorphometry of the digital images of preparations was carried out using the computer program "Image J". It was shown that the thyroid gland of rats reacted differently to the combined effects of intermittent hypoxia and melatonin at different seasons. So the signs of the gland activity were increased after influence of hypoxia and melatonin in spring. It was evidenced by a smaller area of follicles and colloid, a more thyrocytes in the follicle, less interfollicular connective tissue compared to control. The prolonged exposure to interval hypoxia and melatonin in autumn, on the contrary, increased the area follicles, internal diameter of the follicles, decreased the follicular-colloidal index and increased the colloid-accumulation index. This indicated a decrease in the activity of the thyroid gland. Thus, in the spring, the morphofunctional activity of the thyroid gland is moderately increased, and in the autumn period, on the contrary, decreases.

Interval hypoxia – melatonin – thyroid gland – hypertensive rats

Артериальная гипертензия остается одной из наиболее значимых медицинских и социальных проблем. Это связано как с широким распространением этой патологии, так и с тем, что повышенное давление способствует развитию сердечно-сосудистых заболеваний, которые приводят к высокой смертности. В большинстве стран мира около 50 % населения в возрасте старше 60 лет страдают повышенным артериальным давлением [16]. Взаимосвязь между щитовидной железой (ЩЖ) и артериальной гипертензией очень тесная. Повышение артериального давления может наблюдаться под влиянием тиреоидных гормонов. Если в работе железы происходят нарушения, то это часто приводит к развитию гипертонии. С другой стороны, при длительной и стойкой артериальной гипертензии в ЩЖ могут возникать необратимые морфологические изменения, приводящие к существенному снижению ее функциональной активности [17]. В связи с этим возрастает актуальность разработки новых эффективных методов профилактики и лечения нарушений функций ЩЖ при наличии артериальной гипертензии. Считают, что одним из таких методов может быть использование нормобарической гипоксии и мелатонина.

Интервальная нормобарическая гипоксия (ИНГ) широко используется в современной медицинской практике для лечения и профилактики ряда заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной и иммунной систем, а также для повышения физической выносливости и адаптационных возможностей организма [1].

Мелатонин регулирует метаболические, иммунные и регенераторные процессы, участвует в механизмах терморегуляции и старении. Известно, что мелатонин реализует свое действие с помощью других желез внутренней секреции, главным образом через тиреоидные гормоны [18].

Научные работы, посвященные влиянию ИНГ или мелатонина на функциональную активность ЩЖ, малочисленные и часто имеют неоднозначные результа-

ты [3, 4, 12]. Это может быть связано с использованием в экспериментах животных разных линий и возраста, различиями в режимах подачи ИНГ, влияния гипоксии в условиях гипо- или нормобарии, дозировкой мелатонина, сезонностью и продолжительности проведения экспериментов и др. Большинство исследований по данной проблеме проведено на нормотензивных крысах линии Вистар [3, 9]. Работ, в которых бы исследовалось сочетанное влияние ИНГ и мелатонина на состояние железы у животных или людей с артериальной гипертензией нами не обнаружено, что позволяет считать исследования в этом направлении актуальным.

Цель работы – исследовать и сравнить сочетанное влияние ИНГ и мелатонина на морфологические изменения ЩЖ спонтанно-гипертензивных крыс в разные сезоны года.

Материалы и методы. Исследование проведено на 48 спонтанно-гипертензивных (линия SHR) крысах-самцах в весенний (апрель) и осенний (октябрь) периоды года. К концу эксперимента возраст животных составил 4 месяца. Артериальное давление у крыс измеряли в условиях вивария неинвазивным методом на хвостовой артерии. Все измерения проводили с помощью сфигмоманометра (S-2 “SHE” Германия). В эксперимент брали крыс линии SHR с систолическим давлением не ниже 145 мм рт. ст.

Крыс разделили на 4 группы: I и III – контрольные животные, II и IV – крысы, подвергавшиеся сочетанному воздействию ИНГ и мелатонина в весенний и осенний периоды года соответственно. Животные обеих групп находились в унифицированных условиях со стандартным рационом питания. Для проведения ежедневных сеансов гипоксического воздействия крыс помещали в герметичную камеру, в которую подавали гипоксическую газовую смесь (12 % кислорода в азоте) в прерывистом режиме (15 минут деоксигенация / 15 минут реоксигенация в течение 2 часов) с помощью мембранного газораспределительного элемента. Другое время суток (22 часа) крысы дышали атмосферным воздухом. Подопытным животным также ежедневно перорально вводили экзогенный мелатонин (“Unipharm Inc., США”) в 10.00 в дозе 5 мг / кг. Длительность эксперимента составляла 28 суток. Крыс декапитировали под легким эфирным наркозом. Исследования проводили согласно с положениями “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985).

Из ткани ЩЖ изготавливали гистологические препараты по стандартной методике: фиксировали в жидкости Буэна, обезживали в спиртах возрастающей концентрации (от 70 до 96°) и диоксане. Полученные образцы заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5-6 мкм, изготавливали на санном микротоме, окрашивали гематоксилином Бемера и эозином. Для визуализации элементов соединительной ткани применяли методы двух- и трехцветной окраски по Ван-Гизону и Массону [5]. С использованием цифровой камеры микропрепараты фотографировали на микроскопе “Nicon” (Япония). Морфометрию осуществляли с помощью компьютерной программы “Image J”.

На гистологических срезах ЩЖ измеряли площадь поперечного сечения фолликулов, коллоида и фолликулярного эпителия, определяли внешний и внутренний диаметры фолликулов, измеряли высоту фолликулярного эпителия и ширину прослоек междольевой, междольковой и междольковой соединительной ткани, подсчитывали количество тиреоцитов в фолликуле. Определяли фолликулярно-коллоидный индекс и индекс накопления коллоида [7].

Статистическую обработку осуществляли методами вариационной статистики с помощью компьютерной программы Statistica 6.0. Нормальность распределения цифровых массивов проверяли по критерию Пирсона. При нормальности распределения для оценки коэффициента различий достоверности разницы между контрольными и подопытными группами, использовали t-критерий Стьюдента. Разногласия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Результаты наших исследований показали наличие ярко выраженных гистоморфометрических различий в ЩЖ контрольных крыс линии SHR в зависимости от сезона. Осенью ЩЖ имела достоверно меньшую площадь фолликулов и коллоида на 26 и 45 % соответственно, меньший внеш-

ний и внутренний диаметр фолликулов на 15 и 28 % соответственно, большую высоту тиреоцитов на 15 %, более высокий фолликулярно-коллоидный индекс на 67 % и меньший индекс накопления коллоида на 37 % по сравнению с такими же показателями железы контрольных животных весной. В железе оценивали состояние не только паренхиматозных элементов, но и состояние соединительной ткани. Установлено, что осенью ЩЖ имеет достоверно большую ширину междолевой и междольковой соединительной ткани на 22 и 44 % соответственно, и меньшую ширину междольковой соединительной ткани на 21 % по сравнению с весной (табл. 1). Полученные данные позволяют сделать вывод, что функциональная активность ЩЖ осенью была значительно выше, чем весной. Эти морфофункциональные различия ЩЖ следует учитывать при проведении экспериментальных исследований в разное время года.

Таблица 1. Морфометрические показатели щитовидной железы ($M \pm m$; $n=12$)

Показатели	Весна		Осень	
	Контроль	Гипоксия + Мелатонин	Контроль	Гипоксия + Мелатонин
Площадь, мкм^2 :				
фолликула	2793 ± 85	$2462 \pm 103^*$	$2062 \pm 68^{**}$	$2429 \pm 92^*$
коллоида	1362 ± 86	$1161 \pm 80^*$	$751 \pm 10^{**}$	$933 \pm 23^*$
фолликулярного эпителия	1431 ± 96	1301 ± 99	1311 ± 71	$1496 \pm 72^*$
Диаметр фолликула, мкм				
внешний	$57,0 \pm 2,8$	$56,4 \pm 1,3$	$48,7 \pm 1,8^{**}$	$53,7 \pm 1,3$
внутренний	$39,6 \pm 1,5$	$38,2 \pm 1,2$	$28,7 \pm 1,6^{**}$	$32,7 \pm 1,1^*$
эффективный	$65,7 \pm 3,0$	$65,5 \pm 1,7$	$58,7 \pm 1,9$	$64,2 \pm 1,5$
Высота тиреоцитов, мкм	$8,7 \pm 0,3$	$9,1 \pm 0,5$	$10,0 \pm 0,4^{**}$	$10,5 \pm 0,3$
Количество тиреоцитов в фолликуле, шт	$19,9 \pm 0,3$	$22,6 \pm 0,4^*$	$19,6 \pm 0,3$	$19,4 \pm 0,3$
Фолликулярно-коллоидный индекс	$1,05 \pm 0,08$	$1,12 \pm 0,04$	$1,75 \pm 0,11^{**}$	$1,60 \pm 0,07$
Индекс накопления коллоида	$2,28 \pm 0,14$	$2,10 \pm 0,13$	$1,44 \pm 0,11^{**}$	$1,56 \pm 0,09$
Ширина прослоек соединительной ткани, мкм				
междолевой	$33,1 \pm 1,8$	$36,0 \pm 2,0$	$40,4 \pm 4,1^{**}$	$26,5 \pm 2,6^*$
междольковой	$10,6 \pm 0,65$	$10,2 \pm 0,9$	$15,3 \pm 0,6^{**}$	$9,0 \pm 0,4^*$
междольковой	$2,3 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,1^*$	$1,81 \pm 0,16^{**}$	$1,40 \pm 0,08^*$

Примечание: * - $p < 0,05$ достоверность различий по сравнению с контролем.

** - $p < 0,05$ достоверность различий по сравнению с контролем весной.

Паренхима ЩЖ подопытных крыс после сочетанного воздействия ИНГ и мелатонина, сохранила физиологическую структуру, с четким делением на центральную и периферическую зоны. Снаружи ЩЖ была окружена капсулой из плотной фиброзной соединительной ткани, из которой соединительнотканые трабекулы проникали внутрь железы. Они несли кровеносные и лимфатические сосуды и нервы. Трабекулы разделяли паренхиму железы на дольки (рис.1).

Впервые выявлено, что ЩЖ спонтанно-гипертензивных крыс по-разному реагировала на 28-дневное сочетанное влияние ИНГ и мелатонина в разное время года. ЩЖ подопытных животных содержала фолликулы преимущественно овальной формы и разных размеров. Коллоид фолликулов железы, при совместном влиянии ИНГ и мелатонина, был умеренной плотности, реже пенистый с многочисленными вакуолями (весной) или плотный (осенью) (рис. 1). Выявлено, что ЩЖ подопытных крыс весной имела достоверно меньшую площадь фолликулов и коллоидов на 12 и 15 % соответственно по сравнению с контролем (табл.1). Это может указывать на повышение активности ЩЖ и увеличение выведения ее гормо-

нов в кровь. Воздействие ИНГ и мелатонина осенью, наоборот, достоверно увеличило площадь фолликулов и коллоида на 18 и 24 % соответственно. Железа содержит преимущественно крупные фолликулы в малоактивном состоянии из-за депонирования гормонов внутри фолликулов и увеличения объема коллоида [7].

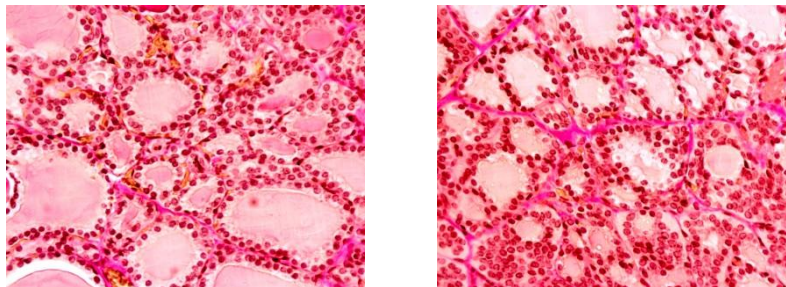


Рис.1. Микрофотографии щитовидной железы контрольной крысы (А) и крысы после сочетанного воздействия интервальной нормобарической гипоксии и мелатонина (Б) в весенний период. Окраска по методу Ван-Гизону. Увеличение 400.

Внешний и внутренний диаметры фолликулов ЩЖ подопытных крыс в весенний период был на уровне контрольных значений. После сочетанного воздействия ИНГ и мелатонина осенью наблюдали увеличение внешнего (на 10 %) и внутреннего (на 14 %, $p < 0,05$) диаметра фолликулов (табл. 1).

Форма тиреоцитов зависит от функционального состояния железы. При нормофункции они имеют кубическую форму, при гипофункции – становятся плоскими, а при гиперфункции – приобретают призматическую форму. Выявлено, что тиреоциты ЩЖ контрольных крыс имели преимущественно кубическую форму. Отмечено, что у животных весной, подвергшихся сочетанному воздействию ИНГ и мелатонина, тиреоциты имели кубическую и призматическую форму, а осенью – кубическую и плоскую форму. Среднее количество тиреоцитов в фолликуле железы у подопытных животных весной достоверно возросло на 14 %, а в осенний период не изменялось (табл.1).

Фолликулярно-коллоидный индекс или индекс активности ЩЖ (отношение площади фолликулярного эпителия к площади коллоида) у подопытных крыс весной имел тенденцию к увеличению на 7 %. Напротив, осенью он был на 9 % меньше, чем в контроле (табл.1). Как правило, функциональная активность ЩЖ прямо пропорциональна относительной площади фолликулярного эпителия и обратно пропорциональна содержанию коллоида. Фолликулярно-коллоидный индекс снижается при снижении активности железы и растет при активации секреторной активности органа.

Индекс накопления коллоидов (отношение среднего внутреннего диаметра фолликула к удвоенной высоте эпителия ЩЖ) также имел различия в зависимости от сезона воздействия ИНГ и мелатонина. Так, у подопытных крыс весной этот показатель был меньше на 8 %. Напротив, осенью он был на 8 % большим по сравнению с контрольными крысами (табл.1). Это свидетельствовало о том, что после сочетанного воздействия ИНГ и мелатонина синтетическая активность железы увеличивалась весной и снижалась осенью.

Интерфолликулярные островки ЩЖ содержат малодифференцированные (камбиальные) клетки и являются источником образования новых фолликулов. В связи с этим четко выраженная тенденция к увеличению количества интерфолликулярных островков у подопытных крыс весной может свидетельствовать об активации физиологической регенерации железы.

Щитовидная железа подопытных крыс, подвергшихся воздействию ИНГ и мелатонина весной, имела достоверно меньшую ширину прослоек межфолликулярной соединительной ткани на 30 % по сравнению с контролем. Осенью у подопытных крыс отмечали достоверно меньшую ширину прослоек междольковой, междольковой и межфолликулярной соединительной ткани на 34, 41 и 23 % соответственно (табл.1). Это свидетельствует об уменьшении количества элементов соединительной ткани в железе, что может способствовать улучшению транспортировки гормонов в кровоток.

Большинство исследований по воздействию гипоксической газовой смеси на ЩЖ проводилось в гипобарических условиях. По литературным данным, в условиях средних гор активность железы увеличивалась, но на больших высотах подавлялась [3, 19]. Показано, что в процессе адаптации к условиям высокогорья (3200 м) развивались фазные изменения функциональной активности ЩЖ. Первый – ранний этап высокогорной адаптации (1-7 дней) сопровождался повышением гормональной активности, а в следующий (30-60 дней) – происходила нормализация и торможение активности железы [6]. Другие исследователи отметили положительное влияние нормобарических гипоксических газовых смесей на функциональное состояние железы. Так, Ma Y. et al. обнаружили, что действие дозированной гипоксии (5 % O₂) усиливает синтез HIF фактора, который стимулирует синтез гормонов ЩЖ [15]. Показано увеличение экспрессии маркеров транскрипции гормонов ЩЖ и увеличение дифференцировки железы при гипоксии [20].

В большинстве публикаций показано угнетающее действие мелатонина на активность ЩЖ [10, 12]. Возрастной аспект играет важную роль при изучении влияния мелатонина на деятельность железы. Установлено, что введение мелатонина как в физиологических (0,05; 0,5 мг / кг), так и в фармакологических (2,5; 5; 10 мг / кг) дозах оказывает угнетающее действие на активность тиреоидных гормонов у молодых животных репродуктивного возраста [14]. В то время как ежедневные инъекции мелатонина старым крысам даже в физиологических дозах (0,05 и 0,5 мг / кг), напротив, стимулировали синтез и продукцию гормонов ЩЖ. При этом увеличивалось относительное количество тироцитов с диплоидными ядрами, что можно рассматривать как “омоложение” ЩЖ [4]. Такое же положительное влияние мелатонина на ЩЖ отмечали и другие исследователи [11, 13].

Ранее мы изучали состояние ЩЖ крыс линии SHR того же возраста, которые весной и осенью находились под отдельным воздействием ИНГ или мелатонина. Выявлен разнонаправленный эффект такого воздействия на структуру и морфометрические параметры функционального состояния железы в разные сезоны года. Так, 28-дневное воздействие ИНГ положительно сказалось на морфофункциональном состоянии ЩЖ весной. Об этом свидетельствовало увеличение высоты тироцитов, снижение индекса накопления коллоидов и ширины междольковых и межфолликулярных прослоек соединительной ткани в железе подопытных животных [8]. Активность ЩЖ крыс, получавших гипоксическую смесь осенью, напротив, снижалась. Изменения ЩЖ крыс, подвергшихся влиянию мелатонина, также зависели от времени года. Введение экзогенного мелатонина весной повышало активность ЩЖ, а осенью, наоборот, снижало её [2].

Таким образом, анализ результатов наших исследований позволяет предположить, что сезонные различия во влиянии ИНГ и мелатонина на морфофункциональное состояние ЩЖ спонтанно-гипертензивных крыс могут быть связаны с особенностями ее физиологической активности весной и осенью. Весной, в период пониженной активности железы, пролонгированное комбинированное воздействие ИНГ и мелатонина умеренно увеличивает ее функциональную активность. С другой стороны, осенью, в период повышенной физиологической активности ЩЖ,

влияние ИНГ и мелатонина снижают ее. Таким образом, использование периодической нормобарической гипоксии и мелатонина позволяет сгладить сезонные различия в активности ЩЖ. Однако физиологическое значение этого эффекта требует дальнейшего изучения и уточнения. Полученные данные могут иметь не только теоретическое значение, но и представлять определенный практический интерес при использовании ИНГ и мелатонина в лечебных и оздоровительных целях у пациентов с артериальной гипертензией, имеющих нарушение функции ЩЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Березовский В.А.* Природная и инструментальная оротерапия. Донецк. Заславский А.Ю. 306 с., 2012.
2. *Березовский В.А., Янко Р.В., Левашов М.И., Литовка И.Г., Чака Е.Г.* Сезонные различия влияния мелатонина на морфофункциональное состояние щитовидной железы спонтанно-гипертензивных крыс. *Росс. физиол. журн. им. М.И. Сеченова*, 102, 5, с. 575-583, 2016.
3. *Васильева Е.В., Тарарак Т.Я., Васильева Н.А., Балыкин Н.В.* Влияние прерывистой гипобарической гипоксии на морфофункциональные изменения щитовидной железы. *Вестник ТвГУ. Серия: Биология и экология*, 8, с. 8-13, 2008.
4. *Геворкян А.Р., Губина-Вакулик Г.И., Бондаренко Л.А.* Морфофункциональные изменения щитовидной железы старых крыс после курсового введения мелатонина в зависимости от времени суток. *Проблемы эндокринной патологии*, 4, с. 103-111, 2009.
5. *Данилов Р.К.* Руководство по гистологии. Том II. Санкт-Петербург. СпецЛит. 513 с., 2011.
6. *Калюжная Л.И.* Эндокринные механизмы адаптации организма к условиям высокогорья. Гипоксия. Адаптация. Патогенез. Клиника: Сб. под ред. Ю.Л. Шевченко. Санкт-Петербург. с. 235-265. 2000.
7. *Никишин Д.В.* Морфология и методы исследования щитовидной железы: Методические рекомендации. Пенза. Инф.- изд. центр ПГУ. 64 с., 2008.
8. *Янко Р.В.* Морфологічні відмінності щитоподібної залози спонтанно гіпертензивних щурів після впливу дозованої нормобаричної гіпоксії в різні сезони року. *Ендокринологія*, 22, 3, с. 273-278, 2017.
9. *Янко Р.В., Березовский В.А., Литовка И.Г., Жерноклєв У.А.* Влияние дозированной нормобарической гипоксии и мелатонина на морфофункциональное состояние щитовидной железы. *Проблеми ендокринної патології*, 1, с. 71-77, 2018.
10. *Baltaci A.K., Mogulkoc R., Kul A., Bediz C.S., Ugur A.* Opposite effects of zinc and melatonin on thyroid hormones in rats. *Toxicology*, 195, 1, p. 69-75, 2004.
11. *Bondarenko L.A., Sotnik N.N., Chagovets E.M., Sergienko L.Yu., Cherevko A.N.* Intensity of in vitro incorporation of 3H-melatonin in the thyroid gland of rabbits with pineal gland hypofunction. *Bull Exp Biol Med.*, 150, 6, p. 753-55, 2011.
12. *Champney T.H.* Reductions in hamster serum thyroxine levels by melatonin are not altered by changes in serum testosterone. *Gen.Comp.Endocrinol.*, 123, 2, p. 121-126, 2001.
13. *Dzerzhynsky M.E., Gorelikova O.I., Pustovalov A.S.* The interaction of the thyroid gland, pineal gland and immune system in chicken. *Reprod Biol.* 6, 2, p. 79-85, 2006.
14. *Gevorkyan A.R.* Chronobiological features of the effect of exogenous melatonin on hormone thyroid activity in young rats. *Journal of Education, Health and Sport*, 6, 10, p. 547-556, 2016. doi: dx.doi.org/10.5281/zenodo.167878
15. *Ma Y., Freitag P., Zhou J., Brüne B., Frede S., Fandrey J.* Thyroid hormone induces erythropoietin gene expression through augmented accumulation of hypoxia-inducible factor-1a. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 287, 3, p. 600-607, 2004.
16. *Madhur M.S., Maron D.J.* Hypertension treatment & management. *Medscape* [serial online], 2014. Available at <http://www.medicine.medscape.com/article/241381>.

17. Mazza A., Beltramello G., Armigliato M., Montemurro D., Zorzan S., Zuin M., Rampin L., Marzola M.C., Grassetto G., Al-Nahhas A., Rubello D. Arterial hypertension and thyroid disorders: what is important to know in clinical practice? *Ann Endocrinol (Paris)*, 72, 4, p. 296-303, 2011. doi: 10.1016/j.ando.2011.05.004.
18. Lewinski A., Karbownik M. REVIEW. Melatonin and the thyroid gland. *Neuro Endocrinol Lett.*, 23, 1, p. 73-78, 2002.
19. Sawhney R.C., Malhotra A.S. Thyroid function during intermittent exposure to hypobaric hypoxia. *International Journal of Biometeorology*, 34, 3, p. 161-163, 1990.
20. Yipeng Yang, Yunshu Lu, Tong Chen, et al. Hypoxia promotes thyroid differentiation of native murine induced pluripotent stem cells. *Int. J. Dev. Biol.*, 60, 4-6, p. 85-93, 2016. doi: 10.1387/ijdb.160083yy.

Поступила 16.09.2020



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4 (72), 2020

ՆԵՂԱՏԵՐԵՎ ՆԱՐԴՈՍԻ ԱՃԵՑՄԱՆ ԱԳՐՈԿԵՆՍԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱՅԻ ՄՇԱԿՈՒՄԸ ԿԼՈՆԱԼ ՄԻԿՐՈԲԱԶՄԱՑՄԱՆ ԵՎ ՀԻԴՐՈՊՈՆԻԿԱԿԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐՈՎ

Ա.Պ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Է.Դ. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Լ.Մ. ՂԱԼԱԶՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Գ.Ս.Դավթյանի անվան Հիդրոպոնիկայի պրոբլեմների ինստիտուտ
ann_vardanyan@yahoo.com

Ուսումնասիրվել են նեղատերև Նարդոսի (*Lavandula angustifolia* Mill.) ներմուծումը և տնկա-
նյութի արագ բազմացումը կլոնալ միկրոբազմացման և հիդրոպոնիկ համակցված մեթոդով:
Պարզվել է, որ կալուսային հյուսվածքներից ադվենտիվ ընձյուղների վերականգնման համար
Մուրաշիգե և Սկուգի սննդամիջավայրում օպտիմալ են α -ՆԶԹ-ի՝ 0.5 մգ/լ և ԲԱՊ-ի՝ 1.0 մգ/լ
խտությունները: *In vitro* մշակույթի պայմաններում միկրոբազմացումը հնարավոր է իրականացնել
ամբողջ տարվա ընթացքում՝ 66.7% արմատառաջացմամբ, ինչպես նաև մեկ էքսպլանտից 9 ամսվա
ընթացքում կարելի է ստանալ ավելի քան 30 000 միկրոբուսակներ: Հիդրոպոնիկ պայմանները
միկրոբուսակների համար ապահովել են անհրաժեշտ միկրոկլիմա, և առանց կլիմայավարժեցման
բույսերի կաջողականությունը կազմել է 89 %: Պարզվել է, որ ծաղկման փուլում Նարդոսի որակը
պայմանավորող էթերայուղի պարունակությունը (2.4 %) 1.7 անգամ գերազանցել է հողային
բույսերին: Ռադիոքիմիական ուսումնասիրությունների արդյունքում պարզվել է, որ հիդրոպոնիկ և
հողի պայմաններում ստացված բուսահումքը ռադիոէկոլոգիապես անվտանգ է, քանի որ դրա
գումարային β -ռադիոակտիվությունը չի գերազանցել 1,0 Բք/գ սահմանը [17]:

Lavandula angustifolia Mill. – կալուս – էթերայուղ – գումարային β -ռադիոակտիվություն –
in vitro – հիդրոպոնիկա

Исследовались интродукция и ускоренное размножение лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) сопряженным методом клонального микроразмножения и гидропоники. Выяснилось, что для регенерации адвентивных побегов из каллуса в питательной среде Мурасиге и Скуга оптимальными оказались концентрации 0,5 мг/л α -НУК и 1,0 мг/л БАП. В условиях культуры *in vitro* микроразмножение возможно проводить круглый год с 66,7 % ризогенезом, а также в течение 9 месяцев из одного эксплантата можно получить более 30 000 микрорастений. Условия гидропоники для микрорастений обеспечили необходимый микроклимат, где выживаемость без акклиматизации составила 89 %. Выяснилось, что в фазе цветения по содержанию эфирного масла (2,4 %) гидропонические растения в 1,7 раза превышали растения почвы. В результате радиохимических исследований выяснилось, что полученное в гидропонических и почвенных условиях растительное сырье радиоэкологически безопасно, поскольку их суммарная β -радиоактивность не превышала предел 1,0 Бк/г [17].

Lavandula angustifolia Mill. – каллус – эфирное масло – суммарная β -радиоактивность –
in vitro – гидропоника

The introduction and accelerated propagation of narrow-leaved lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) by conjugate method of clonal micropropagation and hydroponics was

investigated. It turned out, that in the Murasige and Skoog nutrient medium concentrations of 0.5 mg/l α -NAA and 1.0 mg/l BAP were optimal for regeneration of adventitious shoots in callus tissues.

In *in vitro* culture it is possible to do micro-propagation whole year with 66.7% rhizogenes. 30 000 micro-plants and more were obtained from one explant during 9 months. Hydroponics conditions provide the necessary microclimate for micro-plants where the survival rate without acclimatization was 89 %. The essential oil content in hydroponics herb in blossom phase was 2.4% and exceeded 1.7 times the plants of soil (1.4%). Radiochemical studies revealed that the vegetative raw materials obtained under hydroponic and soil conditions are radio ecologically safe, since their total β -radioactivity did not exceed the limit of 1.0 Bq/g [17].

Lavandula angustifolia Mill. – callus – essential oil – total β -radioactivity – *in vitro* – hydroponics

Ներկա ժամանակաշրջանում աշխարհի եթերայուղատուների արտադրության համար օգտագործվում է 60 տեսակի մշակովի և վայրի եթերայուղատու բույսեր, որոնցից առաջատար տեղ է զբաղեցնում Նարդոսը: Վայրի վիճակում Նարդոսն աճում է Միջերկրական ծովի ափագանում, որտեղ հանդիպում է 30 տեսակ: Արդյունաբերական նպատակով հիմնականում աճեցվում և օգտագործվում է Նարդոս նեղատերևը (*Lavandula angustifolia* Mill.), [9, 12]:

Նարդոսի թանկարժեք եթերայուղն ունի մանրեասպան հատկություն, օգտագործվում է կոսմետիկայի և օծանելիքի բնագավառում: Եթերայուղը հիմնականում կուտակվում է ծաղկաբույլերում 0.8-1.6 %, իսկ տերևներում կազմում է 0.4 և ցողուններում մինչև 0.2 %: Եթերայուղը հարուստ կազմ ունի, հիմնական բաղադրիչներն են լինալիլացետատը, α -պինենը, 1,8-ցինեոլը, միրցենը, α - և β -օցիմենը, γ -տերպինենը, կարիոֆիլենը, բերգամոտենը, γ - և δ -կարդինենը, α -կուկումենը, α -տերպինեոլը, գերանիոլը, ներոլը, կամֆորան: Նարդոսի եթերայուղի որակը պայմանավորվում է լինալիլացետատի պարունակությամբ: Բարձրորակ եթերայուղում լինալիլացետատը կազմում է 40-42 %, և այն օգտագործվում է օծանելիքների պատրաստման համար, միջին կարգի եթերայուղում այն կազմում է 35-40%, իսկ ցածրորակի դեպքում 35% -ից ցածր [12, 13, 16]:

Ծաղիկները պարունակում են նաև դաբաղանյութեր (մինչև 12%), դառնանյութեր, խեժեր, ուրսուլաթթու, կումարին, գերնիարին [13, 16]: Նարդոսի ծաղիկները և եթերայուղն օժտված են բազմաթիվ բուժիչ հատկություններով՝ միզամուղ, հանգստացնող, սպազմոլիտիկ, նաև կարգավորում են գլխուղեղի արյան շրջանառությունը: Եթերայուղը հակափրոստային, հակաբակտերիալ և հակասնկային հատկություն ունի, խթանում է վերքերի լավացումը: Ավանդական բժշկության մեջ Նարդոսի եթերայուղի սպիրտային լուծույթներն օգտագործում են միգրենի, նևրաստենիայի, ռևմատիզմի, սիրտ-անոթային հիվանդությունների դեպքում: Նարդոսը նաև լավ մեղրատու բույս է, որից ստացված մեղրը գնահատվում է բժշկության մեջ [9, 12]: Հետազոտության հիմնական նպատակը նեղատերև Նարդոսի ներմուծումը և տնկանյութի արագ բազմացումն է կլոնալ միկրոբազմացման և հիդրոպոնիկ համակցված մեթոդով:

In vitro կլոնալ միկրոբազմացումը և հիդրոպոնիկան բույսերի աճեցման և արտադրության ժամանակակից կենսատեխնոլոգիական ուղղություններից են, որոնք առավել տարածում ունեն արդյունաբերական զարգացած շատ երկրներում: Կլոնալ միկրոբազմացման տեխնոլոգիան օգտագործվում է հազվագյուտ, դժվար բազմացվող, ինչպես նաև տնտեսապես արժեքավոր բուսատեսակների բազմացման կամ նոր սորտերի ստացման դեպքում [7, 8]: Մեթոդի հիմքում ընկած է բույսերի եզակի տոտիպոտենտ հնարավորության օգտագործումը, երբ հյուսվածքները էկզոգեն ազդակների ազդեցության հետևանքով սկիզբ են տալիս բուսական ողջ օրգանիզմին [3, 8, 15]: Եվ այս կարևոր երևույթի շնորհիվ էլ բուսական կենսազանգվածի կամ տնկանյութի արտադրության ասպարեզում մեթոդն ունի կիրառական մեծ նշանակություն:

Նյութ և մեթոդ: *In vitro* պայմաններ ներմուծման նպատակով հետազոտության նյութ են ծառայել Նարդոս նեղատերևի (*L. angustifolia* Mill.) երիտասարդ կանաչ ընձյուղները, տերևները և սերմերը: Էքսպլանտները և սերմերն ախտահանվել են 96 %-անոց էթիլ սպիրտով (1 րոպե), 0.1 %-անոց դիացիդի լուծույթով (10 րոպե) և չորս անգամ 15-ական րոպե լվացվել մանրեագերծ

ջրով: Սերմերի ցանքը կատարվել է սրվակներում և Պետրիի թասերում 5 գ/լ ազարով պատրաստված միջավայրի վրա:

Չետագոտություններն իրականացվել են *in vitro* մշակությամբ ընդունված համընդհանուր կիրառվող մեթոդներով [3, 8, 10]: Որպես հիմնական սննդամիջավայր օգտագործվել է Մուրասիգե-Սկուգը (ՄՍ), [14] մեր կողմից կատարված ձևափոխությամբ (հանքային աղերի խտությունը թողնելով նույնը, կամ նվազեցնելով կիսով չափ (1/2ՄՍ)՝ ավելացվել են տարբեր հարաբերակցությամբ և խտությամբ վիտամիններ (թիամին և պիրիդոքսին), ածման կարգավորիչներ (6-բենզիլամինապուրին (ԲԱՊ), α -նավթիլթացախաթթու (α -ՆԹ), ինդուլիկարազաթթու (ԻԿԹ): Արհեստական խցիկի պայմաններում պահպանվել և ապահովվել են հետևյալ պայմանները՝ ջերմաստիճանը՝ 25-26°C, լուսապարբերականությունը 16 ժ., օդի խոնավությունը՝ 60-70 %: Տնկված էքսպլանտներով, կալուսներով և կտրոններով փորձանոթները տեղադրվել են 3000-8000 լյուքս լուսավորության տակ: Փորձերը կատարվել են 10 կրկնողությամբ: Նարդոսի կտրոնները և *in vitro* պայմաններում աճեցված միկրոբուսակները տնկարկվել են բացօթյա հիդրոպոնիկական կայանի 5 մ² սման մակերեսով վեգետացիոն փորձամարզերում, յուրաքանչյուրը 6 բույս/մ² խտությամբ:

Գիտափորձերում կիրառվել է Գ.Ս.Դավթյանի կողմից առաջարկված սննդալուծույթը [6]: Որպես լցանյութ կիրառվել է հրաբխային խարամը: Հողը ծառայել է որպես ստուգիչ, որում հումուսը կազմել է 1,5-2,5 %, հարուստ է ֆոսֆորով և կալիումով: Հողային մշակությամբ պահպանվել են ազդրոտիկական կանոնները (հողի փխրեցում, մոլախոտերի հեռացում, պարբերաբար ջրումներ՝ 3-4 օրը 1 անգամ, պարարտացում):

Եթերայուղի պարունակությունը թաքմ բուսահումքում բույսերի ծաղկման փուլում (հունիս – հուլիս) որոշվել է Գինգերգի մեթոդով, [4, 5]:

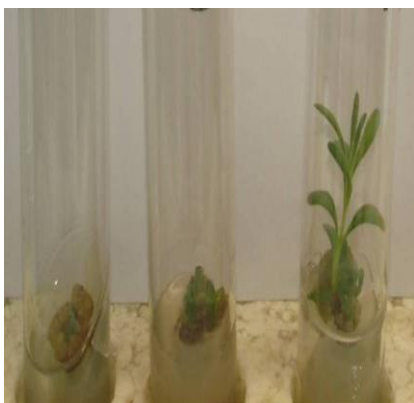
Բույսերի գումարային β -նադիոակտիվությունը որոշվել է ռադիոթիմիական մեթոդով փոքր ֆոնային ՄՄՓ-1500 ռադիոմետրի միջոցով [11]:

Արդյունքներ և քննարկում: *In vitro* պայմաններ ներմուծման արդյունքում ախտահանման արդյունավետությունը նարդոսի էքսպլանտների (ընձյուղներ, տերևներ) դեպքում կազմել է 75 %, իսկ սերմերի՝ 90 % (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Էքսպլանտների ախտահանման արդյունավետությունը

Ախտահանվող օբյեկտ	Ախտահանման արդյունավետություն, %
Սերմեր	90
Ընձյուղներ, տերևներ	75

In vitro պայմաններում *L. angustifolia* կլոնալ միկրոբազմացումն իրականացվել է միկրոկտրոնավորման եղանակով և տարբեր էքսպլանտներից (0.2-0.6սմ տերևի և ցողունի հատվածներ) ստացված մեկուսացված կալուսային հյուսվածքներից անուղղակի ճանապարհով վերականգնվել են աղվենտիվ ընձյուղներ:



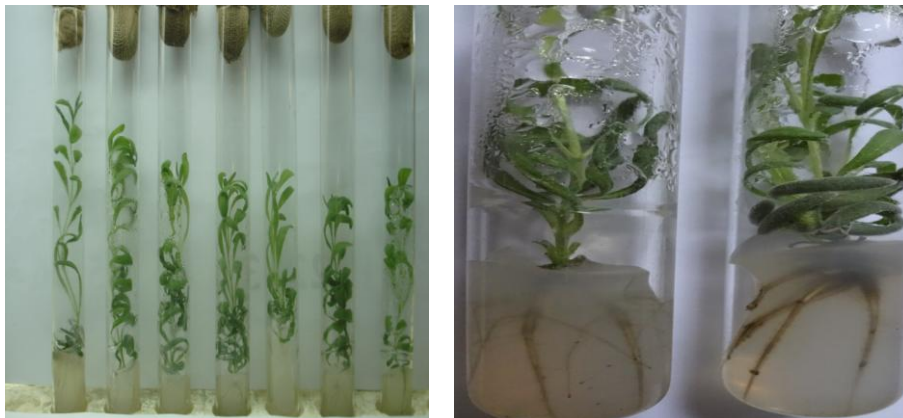
Նկ. 1. *L. angustifolia* կալուսային հյուսվածքներն աղվենտիվ ընձյուղներով

Կալուսային հյուսվածքների առաջացումը դիտվել է տնկարկումից 16 օր հետո: Ինչպես տերևային, այնպես էլ ցողունային էքսպլանտները, բոլոր փորձարկված աճման խթանիչների առկայությամբ առաջացրել են կիսափխրուն, դեղնականաչավուն կալուսային հյուսվածքներ (նկ. 1): Նարդոսի ցողունային էքսպլանտի կալուսագոյացման համար փորձարկված ֆիտոհորմոններից լավագույնն են՝ α -ՆԶԹ 1.5մգ/լ, ԲԱՊ 0.5մգ/լ և α -ՆԶԹ 0.5մգ/լ, ԲԱՊ 1.0մգ/լ, իսկ տերևային էքսպլանտի դեպքում՝ α -ՆԶԹ 0.5 մգ/լ, ԲԱՊ 1.0մգ/լ և α -ՆԶԹ 1.5մգ/լ, ԲԱՊ 1.0մգ/լ (աղ. 2) խտությունները: Սննդամիջավայրում 0.5մգ/լ α -ՆԶԹ և 1.0մգ/լ ԲԱՊ առկայությունը կալուսային հյուսվածքներում խթանել է օրգանոգենեզ՝ ադվենտիվ ընձյուղների առաջացմամբ (նկ. 1 և աղ. 2):

Աղյուսակ 2. *L. angustifolia* կալուսառաջացումը տարբեր ֆիտոհորմոնների ազդեցության պայմաններում

N	Աճման կարգավորիչներ, մգ/լ		Կալուսառաջացում	
	α -ՆԶԹ	ԲԱՊ	տերևային էքսպլանտ	ցողունային էքսպլանտ
1	0.5	0.5	++	++
2	1.0	0.5	++	++
3	1.5	0.5	++	+++
4	2.0	0.5	++	++
5	0.5	1.0	+++ (օրգանոգենեզ)	+++ (օրգանոգենեզ)
6	1.0	1.0	++	++
7	1.5	1.0	+++	++

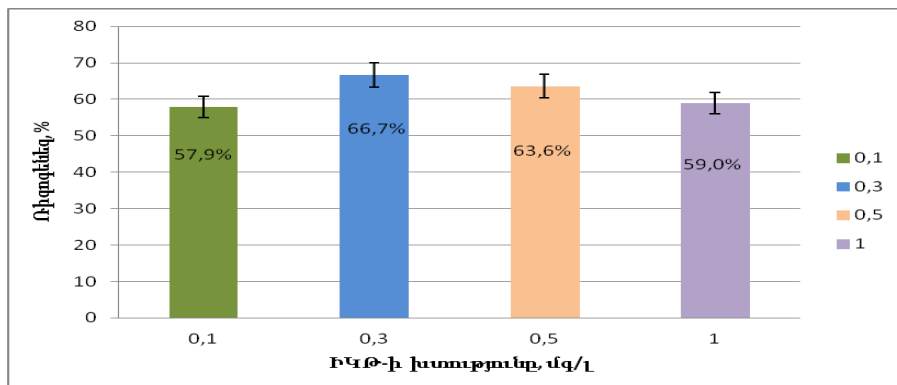
Բույս-ռեգեներանտները in vitro պայմաններում բազմացվել են միկրոկլորոններով նոսրացված 1/2ՄՍ սննդամիջավայրում ԻԿԹ 0.1, 0.3 և 0.5 մգ/լ առկայությամբ: Միկրոկլորոնների արմատառաջացումը դիտվել է տնկարկումից 14 օր անց (նկ. 2):



Նկ. 2. *L. angustifolia* արմատակալած միկրոբույսերը

Միկրոկլորոնների արմատակալման լավագույն տարբերակն է ԻԿԹ 0.3մգ/լ խտությունը, որի դեպքում նկատվել է 66,7% արմատառաջացում, համապատասխանաբար (նկ. 3):

Միկրոկլորոնների արմատակալման լավագույն տարբերակն է ԻԿԹ 0.3մգ/լ խտությունը, որի դեպքում նկատվել է 66,7% արմատառաջացում, համապատասխանաբար (նկ. 3):



Նկ. 3. *L. angustifolia* միկրոկտրոնների արմատակալումը ՄՍ սննդամիջավայրում ԻԿԹ տարբեր խտության պայմաններում

Գարնանը *in vitro* աճեցված միկրոբուսակները տեղափոխվել են բացօթյա հիդրոպոնիկ պայմաններ: Միկրոբուսների կաջողականությունը բացօթյա հիդրոպոնիկայում կազմել է 89 %, իսկ հողային պայմաններում՝ 75 %: Կտրոններով բազմացման դեպքում հիդրոպոնիկ պայմաններում արմատակալումը կազմել է 39, իսկ հողում՝ 25 %: Հիդրոպոնիկ պայմաններում նարդոսը սկսում է ծաղկել հունիսի սկզբին, իսկ հողային պայմաններում՝ 20 օր ուշ: Հետազոտության արդյունքներից պարզվել է, որ ծաղկման փուլում հիդրոպոնիկ բուսահումքում (ծաղիկներ և ծաղիկների ցողուններ) նարդոսի որակը պայմանավորող եթերայուղի պարունակությունը (0.8 %) 2.6 անգամ, իսկ ծաղիկներում (1.4%) 1.7 անգամ բարձր է եղել հողային բույսերի համեմատ (աղ. 3):

Սղյուսակ 3. *L. angustifolia* բերքը և եթերայուղի պարունակությունը բացօթյա հիդրոպոնիկ պայմաններում

Տարբերակ	Բերք, գ/բույս			Եթերայուղ, %		
	ծաղիկ	ցողուն	ծաղիկ+ցողուն	ծաղիկ	ցողուն	ծաղիկ+ցողուն
Հիդրոպոնիկա	158.0	318.0	476.0	2.4	0.06	0.8
Հող (ստուգիչ)	11.0	37.5	48.5	1.4	-	0.3

Աղ. 3-ում ներկայացված տվյալները վկայում են, որ հիդրոպոնիկայում բույսերը ծաղկման փուլում ավելի շատ ծաղկաբույլեր են ձևավորել, քան հողային պայմաններում: Պարզվել է, որ նարդոսի եթերայուղի ամենաբարձր պարունակությունը (2.2 և 2.4 %) գրանցվել է ծաղիկներում, որը երկու տարեկան բույսերի դեպքում 40 անգամ, իսկ երեք տարեկան բույսերի դեպքում 22 անգամ գերազանցել է ծաղկացողուններին (Նկ. 4):

Ռադիոքիմիական ուսումնասիրությունների արդյունքում պարզվել է, որ հիդրոպոնիկայում բույսերի մեջ ռադիոնուկլիդների (ՌՆ) ներթափանցման աղբյուր են սննդալուծույթի պատրաստման համար օգտագործված ելային արտեզյան ջուրը և հանքային պարարտանյութերը, իսկ հողային պայմաններում՝ ոռոգիչ ջուրը և հողը [2]: Կարելի է ենթադրել, որ հիդրոպոնիկայում մշակաբույսերի մեջ արմատների միջոցով ՌՆ-ը թափանցել են սննդալուծույթ-սուբստրատ-բույսի արմատ, իսկ հողում՝ ոռոգիչ ջուր-հող-բույսի արմատ շղթաներով: Բացի դրանից, կարելի է ենթադրել, որ և՛ հողում, և՛ հիդրոպոնիկայում, բույսերի վերգետնյա օրգանների մեջ ՌՆ-ի արտարմատային ներթափանցման ընդհանուր սկզբնաղբյուր են հանդիսացել օդային ավազանից թափված մթնոլորտային տեղումները, փոշին, մուրը, աերոզուլները [1]: Պարզվել է, որ հիդ-

րոպոնիկայում մշակված Նարդոսի մշակաբույսերը գումարային β -ակտիվությամբ գերազանցել են հողային բույսերին 2,1 անգամ (աղ. 4):

Թե՞ հիդրոպոնիկ, և թե՞ հողի պայմաններում ստացված բուսահումքը կարելի է համարել Էկոլոգիապես անվտանգ, քանի որ, ըստ Առողջապահության համաշխարհային կազմակերպության, բուսահումքն Էկոլոգիապես անվտանգ է, եթե դրանում β ճառագայթող տեխնածին և բնական ՌՆ-ի քանակը չի գերազանցում 1,0 Բք/գ ստանդարտ սահմանը [17]:

Աղյուսակ 4. *L. angustifolia* գումարային β -ռադիոակտիվությունը հիդրոպոնիկ և հողային մշակությամբ

Մշակման եղանակը	β -ռադիոակտիվություն, Բք/կգ
Հիդրոպոնիկա	550 $\pm$ 22
Հող	260 $\pm$ 20
ՍԹԵՆ [17]	1000

Ամփոփելով հետազոտությունների արդյունքները՝ կարելի է հանգել հետևյալ եզրակացությունների:

Հաստատվել է *L. angustifolia* in vitro մշակությոն ներմուծման, տարբեր էքսպլանտներից կալուսային կուլտուրայի, օրգանոգենեզի, ռիզոգենեզի խթանման (66.7 %), տնկանյութի, հիդրոպոնիկ բույսերի աճեցման, եթերայուղի ստացման հնարավորությունը: Հիդրոպոնիկ և հողի պայմաններում աճեցված Նարդոսի բուսահումքն Էկոլոգիապես անվտանգ է:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. ՀՀ կառավարությանն առընթեր միջուկային անվտանգության կարգավորման պետական կոմիտեի գործունեության հաշվետվություն, 2014, www.anra.am/upload/Annu
2. Ղալաբյան Լ.Մ., Թադևոսյան Ա.Հ., Հակոբջանյան Ա.Ա. Տեխնածին ռադիոնուկլիդների կուտակումը ջուր-հող-բույս Էկոհամակարգերում Արարատյան դաշտի և Դիլիջանի անտառային գոտու պայմաններում: ՀԿԴ, 72, 1-2, էջ 142-146, 2020:
3. Бутенко Р.Г. Биология культивируемых клеток высших растений in vitro и биотехнология на их основе. Монография, М., ФБК-Пресс, 159 с., 1999.
4. Государственная Фармакопея СССР, XI изд., “Медицина”, М., с. 323-325, 1990.
5. Гринкевич Н.И., Сафронов Л.Н. Химический анализ лекарственных растений, 175 с., 1983.
6. Давтян Г.С. Гидропоника. В кн: Справочная книга по химизации сельского хозяйства. М., Колос, с. 352-365, 1980.
7. Егорова Н.А. Разработка методических основ клеточной селекции лаванды in vitro на устойчивость к NaCl. Экосистемы, их оптимизация и охрана. Вып. 5, с. 173-179, 2011.
8. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М., Наука, 97 с., 1983.
9. Машанов В.И., Кальченко А.К., Лещуком Т.Я. Биологические основы возделывания лаванды. Изд. “Таврия”, Симферополь, с. 3-10, 1972.
10. Журавлев Н.Ю., Омелько М.А. Морфогенез у растений in vitro. Физиология растений, 55, 5, с. 643-664, 2008.

11. Павлоцкая Ф.И. Методы определения ^{90}Sr и других изотопов. В кн.: Физико-химические методы исследования почв, М., 126 с., 1966.
12. Cesur Turgut A., Mehmet Emen F., Secilmiş Canbay H., Esra Demirdogen R., Çam N., Kılıc D., Yeşilkaynak T. Chemical Characterization of *Lavandula angustifolia* Mill. as a Phytocosmetic Species and Investigation of its Antimicrobial Effect in Cosmetic Products. JOTCSA, 4, 1, p. 283-298, 2017.
13. Jianu, C., Pop G., Gruia A.T., Horhat F.G. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania. International Journal of Agriculture & Biology, 15, 4, p. 772-776, 2013.
14. Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growing and Bioassay with Tobacco Tissue Culture. Physical Plantarium, 15, 1, p. 473-497, 1962.
15. Srivastava P.S., Narula A., Srivastava Sh. Plant Biotechnology and Molecular Markers. Anamaya Publishers, New Delhi, India, 400 p., 2004.
16. Tomescu A., Rus C., Pop G., Alexa E., Şumălan R., Copolovici D., Negrea M. Chemical composition of *Lavandula angustifolia* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils cultivated in west Romania. Research Journal of Agricultural Science, 47, 3, p.246-253, 2015.
17. World Health Organization (WHO), Guidelines for drinking water quality and other screening levels of various categories of foods. 6th ed., Geneva, Switzerland. 2008.

Ստացվել է 14.09.2020



Biolog. Journal of Armenia, 4 (72), 2020

SUPEROXIDE-PRODUCING ASSOCIATE BETWEEN NADPH OXIDASE AND NADPH CONTAINING LIPOPROTEIN (NCL) FROM HUMAN BLOOD ERYTHROCYTES AND LEUKOCYTES MEMBRANES: ACTIVATION OF IMMUNE CELLS BY NCL

R.M. SIMONYAN¹, S.G. CHAILYAN¹, V.A. CHAVUSHYAN², K.V. SIMONYAN²,
A.S. ISOYAN², M.A. BABAYAN^{1*}, G.M. SIMONYAN^{1A}, M.A. SIMONYAN¹

*Corresponding author: Babayan M.A., Laboratory of Active oxygen species,
H.Buniatyan Institute of Biochemistry NAS RA
mbabayan@biochem.sci.am

¹ H.Buniatyan Institute of Biochemistry NAS RA,

² Orbeli Institute of Physiology NAS RA

From erythrocyte membranes (EM) and leukocyte membranes (LM) of human donor blood of group II the superoxide (O_2^-)-producing associate of NADPH oxidase (Nox) with NADPH-containing lipoprotein – NCL (Nox-NCL) was isolated and purified for the first time. Water solutions of the Nox-NCL have weak opalescence at pH 9.5. The specific content of the Nox-NCL from EM and LM is 3.6 ± 0.04 mg/ml of erythrocytes, and from LM – 21.5 ± 2.9 mg / ml of leucocytes ($p < 0.05$, $n = 6$). The specific O_2^- -producing activity of the Nox-NCL EM is 30.2 ± 1.6 units/mg and 40.4 ± 5.0 units/mg of these membranes, correspondingly ($p < 0.05$, $n = 6$). The mechanism of the production of O_2^- by these Nox-NCL associates conditioned by transfer of an electron from NADPH of this NCL to $Fe(+3)$ of heme group of the Nox, then to molecular oxygen, reducing it to O_2^- .

Thus, NCL associated with isoforms of the Nox on the surface of EM and LM is a cofactor of this Nox for the production of superoxide radicals in heterogenous phase (on EM and LM) and homogenous phase (in solution), and separated NCL as activator of immune cells Nox was indicated for the first time.

*Erythrocyte – leukocyte – membrane – NADPH oxidase – superoxide radicals –
associate Nox-NCL – immune cells, activation*

Առաջին անգամ մարդկային դոնորական արյան II խմբի էրիթրոցիտների թաղանթներից (ԷԹ) ու լեյկոցիտների թաղանթներից (ԼԹ) անջատվել և մաքրվել է սուպերօքսիդ (O_2^-)-գոյացնող ասոցիատ՝ կազմված ՆԱԴՓH օքսիդազից (Nox) և ՆԱԴՓH-պարունակող լիպոպրոտեինից-ՆԴԼ (Nox-ՆԴԼ): Nox-ՆԴԼ ասոցիատի ջրային լուծույթները pH 9,5-ում ունեն թույլ օպալեսցենցիա: Nox-ՆԴԼ-ի տեսակարար բանակը ԷԹ-երում և ԼԹ-երում համապատասխանաբար կազմում է 3.6 ± 0.04 մգ/մլ և 21.5 ± 2.9 մգ/մլ, ($p < 0.05$, $n = 6$). ԷԹ-երից և ԼԹ-երից անջատած Nox-ՆԴԼ-ի տեսակարար O_2^- -գոյացման ակտիվությունը համապատասխանաբար կազմում է 30.2 ± 1.6 մ/մգ և 40.4 ± 5.0 մ/մգ ($p < 0.05$, $n = 6$). Այդ ասոցիատներով O_2^- -գոյացման մեխանիզմը պայմանավորված է ՆԴԼ-ի ՆԱԴՓH-ից էլեկտրոնի փոխանցմամբ դեպի թաղանթային Nox-ի հեմային խմբի $Fe(+3)$, որից էլ դեպի մոլեկուլային թթվածին՝ վերականգնելով այն մինչև O_2^- :

Այսպիսով, առաջին անգամ ցույց է տրվում, որ ԷԹ և ԼԹ մակերևույթին տեղակայված և Nox-ի հետ ասոցացված ՆԴԼ-ն՝ կոֆակտոր է Nox-ի համար հետերոգեն ֆազում (ԷԹ և ԼԹ մակերևույթին) և հոմոգեն ֆազում (լուծույթում)՝ սուպերօքսիդ գոյացնելու համար, իսկ առանձնացված ՆԴԼ-ն հանդիսանում է իմունային բջիջների Nox-ի ակտիվատոր է:

*Էրիթրոցիտային – լեյկոցիտային թաղանթներ – ՆԱԴՓH օքսիդազ – ասոցիատ Nox-ՆԴԼ, իմունային
բջիջներ – ակտիվացում*

Впервые из эритроцитарных мембран (ЭМ) и лейкоцитарных мембран (ЛМ) донорской крови человека II группы выделен и очищен супероксид (O_2^-)-продуцирующий ассоциат NADPH оксидазы (Nox) с NADPH-содержащим липопротеином – НСЛ (Nox-НСЛ). Водные растворы ассоциата Nox-НСЛ имеют слабую опалесценцию при pH 9,5. Удельное содержание Nox-НСЛ из ЭМ и ЛМ составляют $3,6 \pm 0,04$ мг/мл и $21,5 \pm 2,9$ мг/мл ($p < 0,05$, $n=6$) соответственно. Удельная O_2^- -продуцирующая активность Nox-НСЛ из ЭМ и ЛМ составляет $30,2 \pm 1,6$ ед/мг и $40,4 \pm 5,0$ ед/мг ($p < 0,05$, $n=6$) соответственно. Механизм продуцирования O_2^- этими ассоциатами Nox-НСЛ обусловлен передачей электрона от NADPH из НСЛ к Fe(+3) гемовой группы Nox, далее к молекулярному кислороду, восстанавливая его до O_2^- .

Таким образом, впервые показано, что ассоциированный с Nox на поверхности ЭМ и ЛМ НСЛ является кофактором для Nox при продуцировании супероксидных радикалов в гетерогенной фазе (на ЭМ и ЛМ) и гомогенной фазе (в растворе), а отделенный НСЛ является активатором Nox иммунных клеток.

*Эритроцитарные – лейкоцитарные мембраны – NADPH оксидаза –
ассоциат Nox-НСЛ – иммунные клетки – активация*

It is known that lipoproteins are important structural and functional components of the biomembranes and are involved in the synthesis of various bioactive compounds. Types of lipoproteins are present in the plasmatic membranes and membranes of intracellular formations of mammalian tissues and play an important role in the regulation of ion channels (including Kv7.2/Kv7.3). In this case, the lipoprotein cholesterol significantly modifies electrokinetic properties of human erythrocyte membranes with chronic cerebral ischemia and detection of phosphatidylserine in the erythrocyte membranes [1-3].

According to the currently available concepts, in the process of O_2^- production occurs combined electron transfer from cytosolic NADPH group of the cells with four Nox isoforms to the terminal and active Nox1 and Nox2 isoforms localized on the surface of the cell membranes for reduction of extracellular molecular oxygen to O_2^- [4].

Is there on biomembranes an alternative source of electrons (NADPH-containing component) for direct electron transfer to Nox isoforms for O_2^- generation ?

NADPH-containing superoxide-producing lipoprotein (suprol), which is activated by transition metal ions, was isolated from placental blood serum of women and mammalian blood serum for the first time [5-7]. Isolation and purification methods of NADPH containing lipoprotein associate with Nox of cell membranes of medicinal plants already available, in particular from the leaves of Stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*), and showed the stimulation phenomenon of O_2^- -producing activity of Nox in heterogeneous and homogeneous phases [8]. Therefore, it will be possible for isolation and purification of the Nox-NCL associates from EM and LM.

The aim of the work to elaborate a method for isolation and purification of the Nox-NCL associates from EM and LM, as well as to separate of NCL from these associates and to determine the stimulation mechanism of NCL of the Nox and the mechanism of O_2^- production by these associates.

Materials and methods. The isolation and purification of EM and LM from donor blood.

The plasma of donor blood II group (20 ml each) was separated from red blood cells using 3% Dextrana-70 ("Loba Finchemie", Germany), dissolved in saline [9]. After centrifugation and washing the precipitated red blood cells with saline and repeated centrifugation ($2000 \times g$, 10 min), the precipitated red blood cells were hemolyzed with water (1:5 v/v). Further, by adding 0.05 M of HCl, the pH of hemolysate was adjusted to 5.6, by addition of 0.01 M HCl and the EM precipitated by centrifugation at $5500 \times g$, for 10 min. EM was washed with water (1:50 v/v) and

after centrifugation was homogenized with water by homogenizer. Leukocytes from blood plasma were also precipitated by centrifugation under similar conditions. After precipitation, the white blood cells with saline were homogenized with water, and then were frozen and thawed, after which LM were also precipitated at pH 5.6 and collected by centrifugation. Traces of hemoglobin from EM and LM were removed by treatment with the mixture of ethanol and chloroform by volume ratios of 9:1. Separately, 1 ml of this mixture was added to 9 ml of membranes and incubated for 30 min under mixing conditions.

Hemoglobin turbidity was precipitated by centrifugation. Further, the EM and LM were centrifuged at $13.000 \times g$ for 10 min, and the membrane precipitates were homogenized in water (1:10 v/v).

Isolation and purification of associates Nox-NCL from EM and LM

Associates Nox-NCL from EM and LM was isolated and purified by universal method, using human ferrihemoglobin (Hb) for releasing of NCL and Nox from biomembranes [8]. In particular, for the breakdown of hydrophobic bonds of EM and LM, responsible for the retention of Nox-NCL on the surface of these membranes. Water mixtures of EM and LM were incubated at pH 9.5 and 37°C for 1.5 hours in the presence of 50 μM human Hb. After removal of "liberated" biomembranes by centrifugation at $13.000 \times g$, 10 min pH of supernatant was adjusted to 4.8 (by addition of 0.01 M HCl) and incubated at 4°C for 30 min. Precipitate of the fraction of NCL from EM and LM was separately collected by centrifugation under presented conditions, washed with water (1:50 v/v) and after recentrifugation of the obtained precipitate of Nox-NCL associates from EM and LM was homogenized in water at pH 9.5 (40 ml for NCL from EM and 10 ml for NCL from LM). To remove possible traces of hemoglobin, these Nox-NCL associates were fractionated with ethanol and chloroform as reported above. As a result, opalescent solutions (at pH 9.5) of Nox-NCL from EM and LM were obtained. During ion-exchange chromatography of these solutions, on a column with DE-52 cellulose (also at pH 9.5) the Nox-NCL associates do not absorb on this column. Excess, non-NCL-associated total fractions of Nox1+Nox2 isoforms from EM and LM were eluted with 0.2 M potassium phosphate buffer (PPB) at pH 7.4. Gel-filtration of Nox-NCL associates and Nox were carried out on separate columns with Sephadex G-100 at pH 9.5. After desalination, Nox and Nox-NCL associates were subjected to vacuum lyophilization and stored in closed containers, under nitrogen atmosphere at $+4^{\circ}\text{C}$.

For separation of the NCL from Nox-NCL associates the Nox was inactivated by incubation with 0.05 M hydrogen peroxide at pH 4.8, at 37°C for 20 min [10]. For removing of the traces of hydrogen peroxide, the NCL precipitates were washed twice with water (1:100 v/v), and adding 5×10^{-7} M catalase and undergo ion-exchange chromatography on DE-52 cellulose, also at pH 9.5. Traces of catalase, unlike NCL, are absorbed on this column.

Electrophoresis of the Nox-NCL associates was carried out in 10 % PAAG (Polyacrylamide Gel) for proteins of acidic or basic character.

The presence of a lipid component in the composition of these NCL was detected by determination the product of lipid peroxidation (malondialdehyde). Hydrophilic (methanol, ethanol, acetone) and hydrophobic (benzene, toluene, hexane) organic solvents were used to dissolve (separate) the lipid component from NCL.

Determination of superoxide-producing activity of Nox-NCL associates.

The $\text{O}_2^{\cdot-}$ -producing activity of these associates was determined by adrenaline method, which makes it possible to determine both prooxidant activity of associates and antioxidant activity of NCL [11]. For a unit of $\text{O}_2^{\cdot-}$ -producing activity we considered the amount of associates, which causes 50 % increase of the density of maximum absorption of adrenochrome (at 500 nm), formed during adrenaline oxidation by superoxide radicals. Specific $\text{O}_2^{\cdot-}$ -producing activity was expressed in the units/mg of associate. The reducing (antioxidant) activity of the NCL was determined by the inhibition of the oxidation of adrenaline.

The presence of NADPH in the NCL was determined by the spectrofluorimetric method. The NADPH emission peak in the composition of NCL was recorded at 430 nm, excited at 370 nm. NADPH solutions of a certain concentration were used as a control. Cellulose DE-52 ("Whatman", England) and Sephadex G-100 ("Pharmacia", Sweden) were used. During the investigation the spectrophotometer "Cary 60" UV/VIS, spectrofluorimeter "Perkin Elmer" (USA), centrifuge K-24 and K-70 ("Janetzki", Germany) and homogenizer type MPW-302, (Poland) were used. Statistical analysis of the results by variational statistics method of Student-Fisher were carried out, determining the validation criterion ($M \pm m$, $n=6$).

Results and Discussion. Associates Nox-NCL from EM and LM does not break up during gel-filtration on the Sephadex G-100 and ion-exchange chromatography on DE-52 cellulose. As a result, excess of Nox isoforms from EM and LM, which are not part of the associates, are separated. The specific content of Nox-NCL associates from EM and LM is $3,6 \pm 0,04$ mg/ml of red blood cells and $21,5 \pm 2,9$ mg/ml ($p < 0,05$, $n=6$) of white blood cells, respectively. Compared to the specific O_2^- -producing activity of Nox-NCL associate from EM (represented as $30.2 \pm 1,6$ units/mg of associate), the associate Nox-NCL from leukocytes is $40,4 \pm 5,0$ units/mg ($p < 0,05$, $n=6$). On the other hand, it is well known that the content of erythrocytes exceeds that of white blood cells about 1000 times. This suggests that the role of mature red blood cells is not limited only to the transfer of molecular oxygen to the cells, but perhaps also to the stimulation of the immune system [12-13]. As a result of the incubation of Nox-NCL associates with hydrogen peroxide the inactivation (denaturation) of Nox, and decrease of the optical absorption of α , β and γ bands, which are specific for Nox isoforms [10]. As a result of the cleaning by the above mentioned method, optical spectral indexes (A_{280}/A_{430}) of Nox-NCL associates, from EM and LM no longer decreased and ranged to 7.8 and 8.5, respectively. These Nox-NCL associates did not undergo to PAAG during electrophoresis and remained on the enter of the gel tubes in an aggregated state. Indirectly, the purity of these associates from EM and LM is evidenced by the fact, that during electrophoresis of the opalescent solutions of these associates on 10 % PAAG tubes strips of accompanying water-soluble proteins for acidic and basic nature were not detected. On the other hand, the symmetry of the elution diagrams of the Nox-NCL associates after gel-filtration through Sephadex G-100 also shows the purity of these associates.

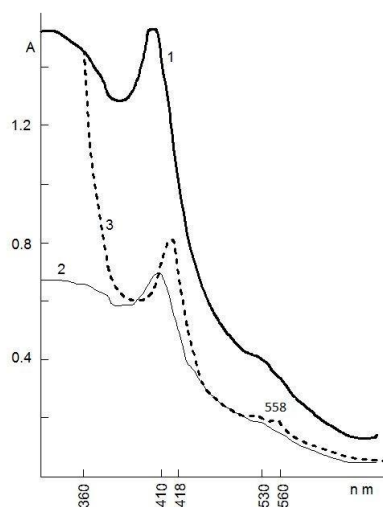


Fig. 1. Optical absorption spectra of opalescent solutions of Nox- NCL associates from EM (1) or LM (2) at pH 9.5. After reduction by sodium dithionite, the spectrum is obtained (3).

As indicated in fig.1, the optical absorption spectra of Nox-NCL associates from EM and LM are an overlay of the Nox and NCL spectra, with characteristic maximal absorption of Nox in an oxidized state (at 280, 360, 412, 530 and 560 nm), and after reduction by sodium dithionite crystals at 280, 360, 418, 540 and 558 nm. Weak absorption at 430 nm after removal of Nox isoforms is typical for associates (fig. 2).

At the same time, in oxidized and reduced states, the optical absorption spectra of Nox-NCL associates is preserved. This fact indicates that Nox as part of an associate retains its redox properties, acting as an electron transporter from NADPH of NCL on the

membrane surface to molecular oxygen, reducing it up to O_2^- . Interestingly, the color of the opalescent solution of Nox-NCL associates from EM and LM does not change under aerobic conditions. However, as a result of the reduction by electrons of NADPH of NCL of heme iron Nox in the NCL in the absence of air (vacuum or nitrogen atmosphere) the color of the opalescent solutions becomes crimson. This crimson color of associates quickly disappears after aeration of the solution. This indicates that, indeed, during the enzymatic production of O_2^- by associates, a rapid reduction and oxidation of the iron in the Nox heme group occurs. In fact, no irreversible chemical changes taking place of Nox-NCL associates from EM and LM. Unlike other O_2^- -producing systems, the production of O_2^- by EM and LM associates in aerobic conditions *in vitro* occurs continuously and stops under anaerobic conditions. On the optical absorption spectrum of NCL from Nox-NCL associates of EM and LM, has a characteristic weak absorption at 430 nm in the visible region of the spectrum (fig. 2).

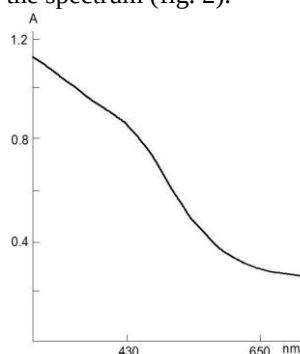


Fig. 2. Optical absorption spectrum of opalescent solution of NCL from associates of EM or LM at pH 9.5 of donor blood after influence of hydrogen peroxide and catalase and ion-exchange chromatography on DE-52 ($p < 0.05$, $n = 6$).

NCL from associates of Nox-NSL of EM and LM due to NADPH in its composition, has only reducing (or antioxidant) properties: reduces potassium permanganate and suppresses the oxidation of adrenaline to adrenochrome. NADPH content in NCL from LM is slightly different from that of NCL of EM (>15-16 %).

Due to NADPH group associates Nox-NCL from EM and LM has a characteristic emission peak at 430 nm, with an excitation wavelength at 370 nm (fig. 3).

In the oxidized state, the optical absorption spectra of the total fraction of Nox1+Nox2 isolated from EM and LM has characteristic optical absorption maximums: 560 nm (α), 530 nm (β) and 412 nm (γ -absorption band) and 360 nm (fig. 4).

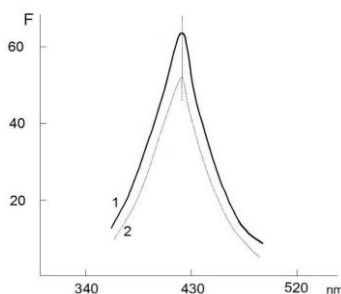


Fig. 3. Fluorescence spectrum of NADPH group as part of associates Nox-NCL from LM (1) and EM (2) of donor blood. F- is a fluorescence in relative units ($p < 0.05$, $n = 6$).

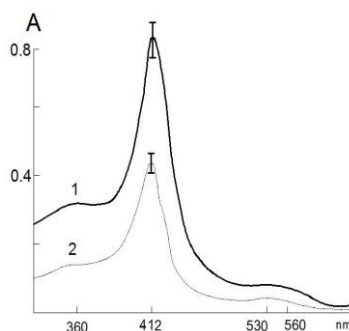


Fig. 4. Optical absorption spectra of total fraction of Nox1+Nox2 from EM (1) and LM (2) of donor blood (at pH 7.4), not associated with NCL, after reduction by sodium dithionite on the optical spectrum of these Nox, indicated the characteristic for the Nox absorption at 558 nm (α - band) ($p < 0.05$, $n = 6$).

Total fractions of Nox1+Nox2 isoforms from EM or LM are water-soluble proteins and have no background absorption, as shown in fig.1.

As shown in tab. 1, produced O_2^- by Nox-NCL associates from EM and LM oxidizes epinephrine to adrenochrome. On the contrary, NCL from EM and LM associates, as sources of electrons due to NADPH component, suppresses the oxidation of adrenaline and was indicated antioxidant properties.

Table 1. Relatively changes (%) of the decrease of the absorption (at 500 nm) of adrenochrome during oxidation of the adrenaline ($2 \times 10^{-4} M$) under influence of 0,11 mg/ml NCL from associates of EM and LM or $2 \times 10^{-8} M$ Cu,Zn-COD and % of stimulation of the oxidation of adrenaline to adrenochrome by associate Nox-NCL (0,10 mg/ml) from EM and LM, in comparison with the 100% controls (indices at the absence of NCL or Nox-NCL)

Components	% of the suppression of adrenaline oxidation under the influence of NCL or SOD	% of the stimulation of the adrenaline oxidation (or formation of adrenochrome) under the influence of associate Nox-NCL
NCL from EM	92,7	-
NCL from LM	97,6	-
Associate Nox-NCL from EM	-	64,2
Associate Nox-NCL from LM	-	66,5

By means of Nox-NCL associate, as an O_2^- producing system on the surface of EM, the erythrocytes may also be components of the immune system. At the same time, on the cell surface, in particular, on EM and LM, isoforms of Nox are localized not separately, but with NCL, which plays both a functional role (produces superoxides) and a structural role (preserve the hydrophobicity of EM and LM).

The NCL from EM and LM (purified from traces of Nox), due to electron of NADPH group are activates the Nox isoforms of these membranes for the production of O_2^- both in a homogeneous phase (in solution) and in a heterogeneous phase (on the surface of these membranes). At the same time, as a bridge for the transfer of electrons from NADPH to O_2 , not only the iron of the heme group of these Nox, but also the free Fe (III) ions, as in the case of suprol (superoxide-producing lipoprotein of mammalian blood serum) [5]. In fact, in the homogeneous and heterogeneous phase, NCL from Nox-NCL associates of EM and LM are the continuous source of electrons. Under aerobic conditions, Nox-NCL associates from EM and LM are natural, energetic and continuous

agents of O_2^- production, both in homogeneous and heterogeneous phases. This greatly elevated the prospects of using these natural associates to determine of the mechanisms of O_2^- action on various biosystems, including biomembranes, enzymes, RNA, DNA, cancer cells and microorganisms, as well as Covid-19.

NCL on the surface of EM and LM are the closest cofactors of Nox. The lipid component of these associates does not dissolve in hydrophobic or hydrophilic organic solvents. However, this lipid component undergoes lipid peroxidation to form malondialdehyde up to $1,5 \times 10^{-6}$ M and $1,2 \times 10^{-6}$ M ($p < 0,05$, $n=6$) for EM and LM associates, respectively. Nox 3-6 isoforms are also localized on the membrane surface of intracellular micro- and nanoparticles (in particular, ectosomes and exosomes), and may produce O_2^- by a direct mechanism.

By molecular weight, formation of opalescent solutions, lipid component (MDA) [14] and NADPH content, NCL from EM and LM associates are high density lipoproteins, as in the case of mammalian serum suprol [5, 6]. However, unlike suprol, NCL from associates of EM and LM, as components of these membranes, practically do not dissolve in hydrophilic and hydrophobic organic solvents and it is difficult to characterize them objectively yet. Perhaps insolubility of these NCL in organic solvents provides hydrophobicity of EM and LM [15].

Due to NADPH content, there are prospects for the use of NCL from EM and LM as potential activators of Nox on the cells membranes of immune system at immunodeficiency, when, as is well known, the superoxide-producing activity of leukocytes of various types decreases [16]. Quantitative and qualitative changes of the Nox-NCL associates from EM and LM can be used as new and sensitive diagnostic markers for various pathological conditions in the experiment and in clinical practice.

Nox-NCL associates from EM and LM separately and NCL from these associates EM and LM at pH 7.4 form an opalescent solution and practically do not lose activity in the saline medium. This elevates the possibility of infusing NCL into the blood stream in immunodeficiency in experiment.

Preparations of Nox-NCL associates from EM and LM, as well as NCL practically do not lose their basic activity at lyophilized state in closed vessels in a nitrogen atmosphere at $4^{\circ}C$. This is an important factor for long-term use.

Thus, NCL associated with isoforms of the Nox on the surface of EM and LM is a natural cofactor of this Nox for production of superoxide radicals in heterogenous phase (on EM and LM) and homogenous phase (in solution) and the stimulation of the O_2^- - producing activity of the Nox immune cells by NCL were indicated on the first time.

REFERENCES

1. Delgado-Ramírez, M., Sánchez-Armass, S., Meza, U., Rodríguez-Menchaca, A.A. Regulation of Kv7.2/Kv7.3 channels by cholesterol: Relevance of an optimum plasma membrane cholesterol content, *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 1860, 1242-1251, 2018.
2. Fedin A.I., Vasilenko I.A., Badalyan K.R. The effect of cholesterol on the electrokinetic properties of erythrocyte membranes, *Zh Nevrol Psikhiatr Im Korsakova*, 115, 30-37, 2015.
3. van Zwieten R., Bochem A.E., Hilarius P.M., van Bruggen R., Bergkamp F., Hovingh G.K., Verhoeven A.J. The cholesterol content of the erythrocyte membrane is an important determinant of phosphatidylserine exposure, *Biochim Biophys Acta*, 1821, 1493-1500, 2012.

4. Panday A., Sahoo M.K., Osorio D., Batra S. (NADPH oxidases: an overview from structure to innate immunity-associated pathologies, *Cellular and Molecular Immunology*, 12, 5-23, 2015.
5. Simonyan M.A., Karapetyan A.V., Babayan M.A., Simonyan R.M. NADPH-containing Superoxide-Producing Lipoprotein Fraction of Blood Serum. Isolation, Purification, Brief Characterization, and Mechanism of Action, *Biochemistry (Moscow)*, 61, 671-675, 1996.
6. Simonyan M.A., Karapetyan A.V., Galstyan D.A., Simonyan R.M., Babayan M.A. Superoxide-producing lipoprotein as a factor of tumor growth suppression, enhancement of leukocyte number and acceleration of cell division in culture. *Biochemistry (Moscow)* 61, 1578-1583, 1996.
7. Alexanyan M.K., Simonyan G.M., Simonyan R.M., Arakelyan L.N., Alexanyan S.S., Simonyan M.A. Antitumor and antistressor effects of suprol injected to white rats at sarcoma-45, *Medical Science of Armenia*, 52, 23-35, 2012.
8. Isoyan A.S., Simonyan K.V., Simonyan R.M., Babayan M.A., Simonyan G.M., Chavushyan, V.A., Simonyan, M.A. Superoxide-producing lipoprotein fraction from Stevia leaves: Definition of Specific Activity, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19, 88-94. 2019.
9. Neu B., Sowemimo-Coker S.O., Meiselman H.J. Cell-Cell Affinity of Senescent Human Erythrocytes, *Biophys J.*, 85, 75-84, 2003.
10. Simonyan G.M., Grigoryan G.G., Simonyan R.M., Simonyan M.A. High resistance of serum b558 cytochromes against hydrogen peroxide compared to other hemoproteins. Issues of military medicine, Collection of articles of the YSMU named after M. Heratsi, Yerevan, 48-51, 1999.
11. Misra H.P., Fridovich I. (The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.*, 247, 3170-3175, 1972.
12. Morera D., Mackenzie S. Is there a direct role for erythrocytes in the immune response? *Veterinary Research*, 42, 89, 2011.
13. Anderson H.L., Brodsky I.E., Mangalmurti N.S. The Evolving Erythrocyte: Red Blood Cells as Modulators of Innate Immunity, *J. Immunol.*, 201, 1343-1351, 2018.
14. Vladimirov U.A., Archakov A.I. Lipid peroxidation in biomembranes, "Nauka", Moscow (Russia), 1972.
15. Simonyan R.M., Simonyan G.M., Simonyan M.A. Method isolation of isoforms of NADPH oxidase (Nox) from biosystem License N2818 of Agency of the Invention Individual Property, Yerevan, RA, 2014.
16. Simonyan, R.M., Aleksanyan, S.S., Engibaryan, A.A., Simonyan, M.A. Suppression of hemoglobin-inducing releasing of NADPH oxidase from rats heart aorta cells membranes, *Issues in Theoretical and Clinical Medicine*, 16, 75-78, 2013.

Received on 25.09.2020



Biolog. Journal of Armenia, 4 (72), 2020

pH AS THE IMPORTANT FACTOR FOR THE COMPLEXATION OF PORPHYRINS WITH CERULOPLASMIN FOR PHOTODYNAMIC THERAPY OF TUMOR

L.V. MKRTCHYAN¹, A.A. ZAKOYAN¹, A.A. SARGSYAN²,
M.H. PARONYAN³, G.V. GYULKHANDANYAN¹

¹Institute of Biochemistry, NAS of Armenia,

²Yerevan State Medical University

³SPC "Armbiotechnology", NAS of Armenia,
mkrtyanlusine709@gmail.com

Cancer cells have inverted pH_i/pH_e (intracellular and extracellular) gradient compared to a normal cell. Higher acid extracellular microenvironment is a feature of cancer tissue. The pH changes may affect the process of photodynamic therapy (PDT) of tumor. pH-dependent complexation of porphyrins and metalloporphyrins with serum protein ceruloplasmin (CP) was studied. The aim of the research was to model the low pH conditions of cancer cells *in vitro*. The study showed that by decreasing pH from 6.9 to 6.0, as a result of the change of the microenvironment of porphyrin/metalloporphyrin + CP complex, the conformational changes of the protein occur. The porphyrins are mainly located in the inner parts of the protein. By decreasing pH, the amount of porphyrins that bind to the surface of the protein increased, which is also indicate the conformational changes of the protein.

Cancer – porphyrins – ceruloplasmin – photodynamic therapy – pH

Քաղցկեղային բջիջներն ունեն շրջված $pH_{\text{intr}}/pH_{\text{extr}}$ (ներքջջային և արտաքջջային) գրադի-
ենտ՝ համեմատած նորմալ բջիջների հետ: Բարձր թթվային արտաքջջային միկրոմիջավայրը բաղ-
ցկեղային հյուսվածքի բնորոշ հատկանիշն է: pH փոփոխությունը կարող է ազդել ուռուցքների
ֆոտոդինամիկ թերապիայի (ՖԴԹ) գործընթացի վրա: Աշխատանքում ուսումնասիրվել է պոր-
ֆիրինների ու մետաղապորֆիրինների pH-ից կախված կոմպլեքսառաջացումը շիճուկային
սպիտակուց ցերուլոպլազմինի (ՑՊ) հետ: Ուսումնասիրության նպատակն է մոդելավորել քաղց-
կեղային բջիջների ցածր pH-ի պայմանները *in vitro*: Ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ
նվազեցնելով pH-ը 6.9-ից 6.0՝ պորֆիրին/ մետաղապորֆիրին + ՑՊ կոմպլեքսի միկրոմիջավայրի
փոփոխության արդյունքում տեղի են ունենում սպիտակուցի կոնֆորմացիայի փոփոխություններ:
Պորֆիրինները հիմնականում տեղակայված են սպիտակուցի գլոբուլի ներքին հատվածներում:
Նվազեցնելով pH-ը՝ սպիտակուցի մակերեսին կապված պորֆիրինների քանակությունը մեծանում է,
որը նույնպես վկայում է սպիտակուցի կոնֆորմացիայի փոփոխության մասին:

Քաղցկեղ – պորֆիրիններ – ցերուլոպլազմին – ֆոտոդինամիկ թերապիա – pH

Раковые клетки имеют инвертированный градиент pH_i / pH_e (внутриклеточный и
внеклеточный) по сравнению с нормальной клеткой. Более высокая кислотная внеклеточная
микросреда является особенностью раковой ткани. Изменения pH может влиять на процесс
фотодинамической терапии (ФДТ) опухоли. В работе изучалась pH-зависимость комплексо-
образования порфиринов и металлопорфиринов с сывороточным белком церулоплазмином
(ЦП). Целью исследования является моделирование условий низкого pH в раковых клетках
in vitro. Исследование показало, что при снижении pH с 6,9 до 6,0 в результате изменения

микроокружения комплекса порфирина/металлопорфирина + ЦП-а происходят конформационные изменения белка.

Порфирины в основном расположены во внутренних частях белка. При уменьшении pH увеличивается количество порфиринов, которые связываются с поверхностью белка, что также указывает на конформационные изменения белка.

Рак – порфирины – церулоплазмин – фотодинамическая терапия – pH

Cancer remains a worldwide problem, being the disease with the highest impact on health [2]. PDT has proven to be an effective cancer therapy [17] and is a promising alternative treatment for controlling malignant diseases [2]. It based on a photochemical reaction between a light activatable molecule or photosensitizer (PS), light, and molecular oxygen. When these three harmless components are present together, reactive oxygen species are formed. These can directly damage cells and/or vasculature, and induce inflammatory and immune responses [17]. To overcome PDT limitations including its undesirable side effects, PS's have been conjugated with biological molecules to achieve a more specific delivery and accumulation in cancer tissue [13].

The therapeutic success rate of current anticancer drugs is quite low, especially for solid tumors. The main reason is that most of the conventional or traditional anticancer agents are low molecular weight drugs that tend to diffuse indiscriminately to all tissues and organs, thus causing serious adverse effects. However, biocompatible macromolecules with a molecular mass, larger than 40 kDa, showed preferential accumulation in solid tumors compared with normal tissues or organs. This phenomenon is known as the enhanced permeability and retention (EPR) effect [10]. The protein carriers are inherently biocompatible and enjoy the benefits of a nanometric size object. The main advantage of these interactions is that they provide a favorable environment to keep the PS in the monomeric, photoactive state. Protection of the bound PS from the solvent may also result in enhanced chemical stability of the compound [1].

The microenvironment of the PS will undoubtedly change upon conjugation to a large protein, and this may result in increased PS aggregation and lower yield of excited singlet and triplet states [12]. The use of endogenous transport systems for drug delivery is very promising, as it will reduce the uptake of drugs by macrophages and allow intracellular delivery of biologically active molecules [8].

The pH_e of cancer cells is more acidic than normal cells (fig. 1), which is correlate with cancer cell survival [9, 4]. Generally, pH_e values of the normal tissues (brain tissues, subcutaneous tissues, etc.) are in the range of 7.2-7.5. However, pH_e of tumor cells is mildly acidic in the range of 6.4-7.0. pH_e of cancer cells is 0.3-0.7 pH units lower than that of corresponding normal cells [4].

The main purpose of the present research is to model of pH the extracellular conditions of tumor *in vitro* and study the effect of pH changes on complexation ability of cationic porphyrins and metalloporphyrins with serum protein ceruloplasmin (CP). CP is a α_2 -glycoprotein that contains 90 % of circulating copper in the body [6]. It is a 132-kD protein containing six copper atoms [7]. In this study the CP serves as a carrier of porphyrins, given the phenomenon of EPR effect and complexation studies of other serum proteins with PS's that already conducted by other research groups [13, 1, 12, 8, 18]. The pH dependence of complexation is important for better understanding the mechanism of drug uptake by cancer cells microenvironment.

Materials and methods. Protein: Human ceruloplasmin was obtained from the blood plasma of a donor. The protein was additionally purified by method of gel filtration

chromatography on column with a Sephadex G-150. The CP was obtained in monomeric form in a homogeneous state with a high spectral index of purity: $I = A_{280} / A_{610} < 20$ [15].

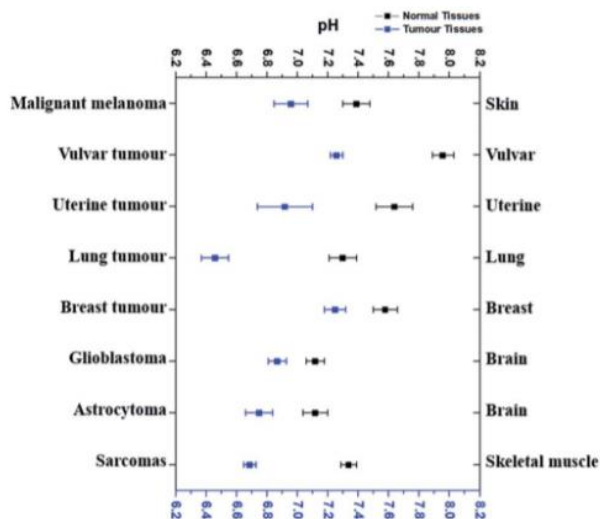


Fig. 1. The comparison of average extracellular pH values of different tumors with normal tissues [4]

Photosensitizers: The cationic porphyrins and metalloporphyrins, that are synthesized in Armenia and UK, selected here as objects of study (Fig. 2). They are as follows: 1) meso-tetra [4-N- (2'-oxyethyl) pyridyl] porphyrin (TOEt4PyP) (peripheral group $R = -CH_2 - CH_2 - OH$), 2) meso-tetra [4-N-butyl pyridyl] porphyrin (TBut4PyP) (peripheral group $R = -CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_3$), 3) Zn-TOEt4PyP and 4) Zn-TBut4PyP. Also, we studied the interaction of ceruloplasmin with commonly used PS anionic chlorin e_6 .

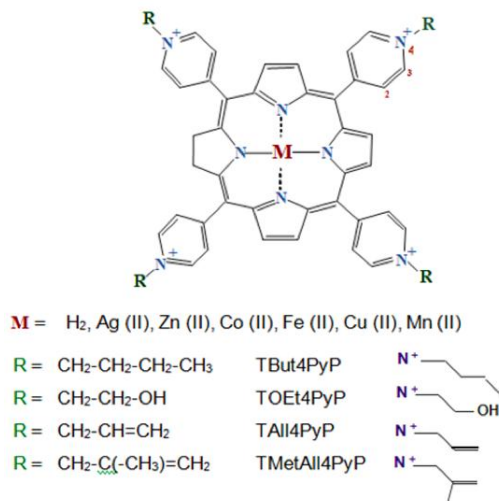


Fig. 2. Cationic porphyrins and metalloporphyrins. R- peripheral groups in the 4th position of the pyridyl ring, M- metal

Spectral studies: The complexation study was carried out by absorption and fluorescence spectroscopy methods in accordance with the work of Gyulkhandanyan A., et al [5]. The absorption spectra of porphyrins and their complexes with ceruloplasmin were recorded on a Shimadzu UV-VISIBLE Recording Spectrophotometer UV-2100 spectrophotometer (Japan) in a quartz cuvette (0.1 or 1 cm), in the range 200-800 nm. Changes in the absorption spectra were recorded for the Soret band (425-445 nm) of the porphyrin absorption. Fluorescence spectra were recorded on MPF 44 spectrofluorimeter (Perkin Elmer, USA). The luminescence kinetics of singlet oxygen was recorded on an FP-6500 spectrofluorimeter (JASCO, Japan) or Perkin-Elmer (USA) in a quartz cuvette (0.1 or 1 cm). All measurements were carried out at room temperature.

Changes of medium pH: The pH of the solution (0.01 M phosphate buffer /PBS/ pH 7.2) upon binding of PSs to CP was changed by adding a dilute solution of phosphoric acid (0.01 M or 0.001 M) to obtain the desired pH (from 6.9 to 6.0).

Results and Discussion. The study of complexation with CP for cationic porphyrins/metalloporphyrins and chlorin e_6 with a change in the medium of pH in the acidic region was carried out. As we can see from fig. 3, the decrease of pH causes the decrease of Soret band absorption in case of cationic and metalloporphyrins. But in case of chlorin e_6 , the Soret band's absorption is slightly increases. These kinds of changes indicate the present of conformational changes of the protein.

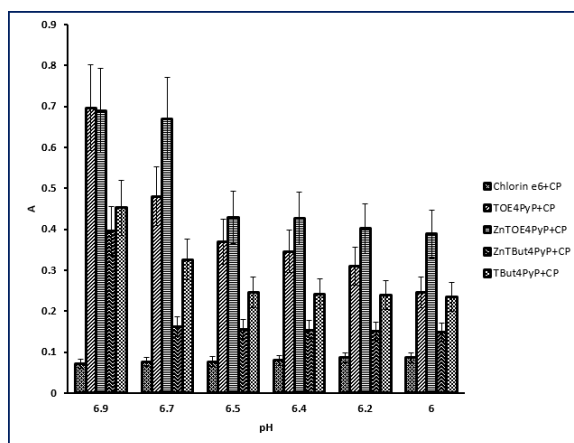


Fig. 3. Changes in the absorption (A) of complexes (CP +PS) at different pH values for the Soret band (425-445 nm)

A monomeric free-base porphyrin H_2-P in aqueous solution can add protons to produce mono H_3-P^+ and dications H_4-P^{2+} at very low pH, or loose protons to form the centrally monoprotic $H-P^-$ at pH about 6.0 or aprotic P^{2-} species at pH ≥ 10 . The change in spectra upon addition of acid or basic substances can generally be attributed to the attachment or the loss of protons to the two imino nitrogen atoms of the pyrroline-like ring in the free-base of porphyrin. The N-protonation induced a red-shifts [3]. In our study the absorption red shift is observed in case of cationic porphyrins and metalloporphyrins (from 1 to 10.5 nm) so it's possible that the N-protonation phenomena is the reason of this bathochromic effect (tab.1).

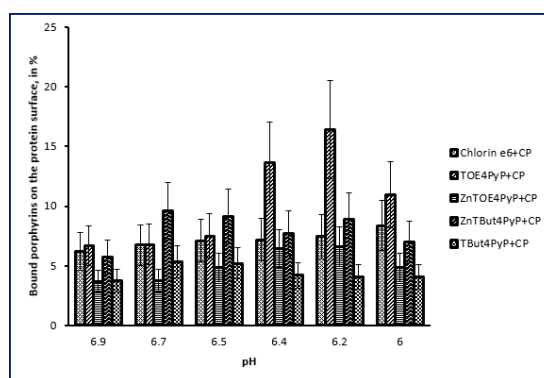
The aggregation and dimerization of porphyrins and metalloporphyrins is dependent strictly on ionic strength, pH and solvent composition, and so on. As predicted by Kasha, in case of J-type aggregates (side-by-side) the red-shift of spectra is observed, and in case of H-type (face-to-face)- blue-shift of the porphyrin absorption occurs [3, 16].

Table 1. The shift of Soret band peak for various PSs at different pH values (6.9 to 6.0)

$\Delta\lambda$ of Soret Band, pH 6.9-6.0	TOEt4PyP +CP	ZnTOEt4PyP +CP	TBut4PyP +CP	ZnTBut4PyP +CP	Chlorin e ₆ +CP
	$\Delta\lambda = 10.5$ nm	$\Delta\lambda = 1$ nm	$\Delta\lambda = 5.5$ nm	$\Delta\lambda = 5$ nm	$\Delta\lambda = -4$ nm

So, the bathochromic (red shift) effect of cationic porphyrins absorption band can be explained by the formation of J-type aggregates within the complex, and in case of anionic chlorin e₆ the hypsochromic shift (blue shift) indicates the formation of H-type aggregates.

The shift of absorption indicates that chromophores that located in the inner part of the protein in response to changes of pH are relocated to the surface of the protein globule. The opposite effects in case of anionic and in case of cationic PSs can be explained by the charge differences. Due to this the location of PS's with different charges in/on the protein is differ (fig. 4).

**Fig. 4.** Binding of porphyrins on the protein surface in complexes at different pH values, in %.

According to our study, the porphyrins are mainly located inside the protein globule. With decrease of pH the amount of porphyrins on the surface was increased which also indicate the pH-dependence conformational changes (fig. 4). It is important to note, that the complexation and the decrease of pH does not cause the dimerization of the protein according to chromatographic studies.

Thus, it has been shown that with a decrease of pH from 6.9 to 6.0 the conformation changes of the CP occur. The porphyrins are mainly buried in the cavity of the protein. Addition of acidic or basic substances (pH change) can lead to the attachment or the loss of protons to the two imine nitrogen atoms of the pyrroline-like ring in the free base of porphyrin.

REFERENCES

1. dos Santos A.F., De Almeida D.R.Q., Terra L.F., Baptista M.S., Labriola L. Photodynamic therapy in cancer treatment - an update review. J Cancer Metastasis Treat. 1-20, 2019.
2. Giovannetti R. The Use of Spectrophotometry UV-Vis for the Study of Porphyrins. Macro To Nano Spectroscopy. 87-108, (Ed. By Jamal Uddin), IntechOpen, 2012.

3. Gyulkhandanyan A., Gyulkhandanyan L., Ghazaryan R., Fleury F., Angelini M., Gyulkhandanyan G., Sakanyan V. Assessment of new cationic porphyrin binding to plasma proteins by planar microarray and spectroscopic methods. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 31, 4, 363-375, 2013.
4. Hahn S.H., Jung S., Chang I.J. Population Screening for Wilson Disease. Chapter 26, in "Clinical and Translational Perspectives on Wilson Disease", 287-296, (Ed. By Kerker N. and Roberts E.A.), Elsevier Inc., 2019.
5. Hally C., Delcanale P., Nonell S., Viappiani C., Abbruzzettiormac S. Photosensitizing proteins for antibacterial photodynamic inactivation. *Translational Biophotonics*, 1-11, 2020.
6. Hao G, Xu Z. Li L. Manipulating extracellular tumor pH: an effective target for cancer therapy. *RSC Advances*, 39, 8 , 22182-22192, 2018.
7. Harris Z.L. "Ceruloplasmin". Chapter 9, in "Clinical and Translational Perspectives on Wilson Disease", 77-84, (Ed. By Kerker N. and Roberts E.A.), Elsevier Inc., 2019.
8. Lebedeva N.S., Yurina E.S., Gubarev Y.A., Syrbu S.A. Effect of pH on Albumin Binding with Hydrophobic Porphyrins. *Russ. J. Gen. Chem.*, 89, 565-569, 2019.
9. Longhi A. Manipulating pH in Cancer Treatment: Alkalizing Drugs and Alkaline Diet. *Journal of Complementary Medicine & Alternative Healthcare*, 2, 1, 1-5, 2017.
10. Maeda H., Islam W. "Overcoming barriers for tumor-targeted drug delivery: the power of macromolecular anticancer drugs with the EPR effect and the modulation of vascular physiology", in "Polymer-Protein Conjugates From PEGylation and Beyond", 41-58, Elsevier Inc., 2019.
11. Moan J., Rimington C., Evensen J.F., Western A. "Binding of Porphyrins to Serum Proteins", in "Methods in Porphyrin Photosensitization. Advances in Experimental Medicine and Biology", 193, 193-205, (Ed. By Kessel D.), Boston, MA, Springer, 1985.
12. Orosz A., Csik G. "Peptide/protein conjugates of photosensitizers", in "Amino acids, peptides and proteins", 40, 100-145, (Ed. By Rzaadnov M., Hudecz F.), London, Royal Society of Chemistry, 2016.
13. Pereira P.M.R., Carvalho J.J., Silva S., Cavaleiro J.A.S., Schneider R. J. Fernandes R., Tomé J.P.C. Porphyrin conjugated with serum albumins and monoclonal antibodies boosts efficiency in targeted destruction of human bladder cancer cells. *Org. Biomol. Chem.*, 12, 1804-1811, 2014.
14. Ryden L. "Ceruloplasmin", Chapter 2, in "Copper Proteins and Copper Enzymes", Vol. III, 37-100, (Ed. by Prof. Rene Lontie), Taylor & Francis Group, Reissued 2018 by CRC Press.
15. Sokolov A.V., Dadinova L.A. Petoukhov M.V., Bourenkov G., Dubova K.M., Amarantov S.V., Volkov V.V., Kostevich V.A., Gorbunov N.P., Grudinina N.A., Vasilyev V.B., Samygina V.R. Structural Study of the Complex Formed by Ceruloplasmin and Macrophage Migration Inhibitory Factor. *Biochemistry (Moscow)*, 83, 6, 701-707, 2018.
16. Thorpe S.L., Snyder G.N., Mammanna A. Spectroscopic study of porphyrin self-assembly: Role of pH, time, and chiral template. *Chirality*, 1-12, 2019.
17. van Straten D., Mashayekhi V., de Bruijn H.S., Oliveira S., Robinson D.J. Oncologic Photodynamic Therapy: Basic Principles, Current Clinical Status and Future Directions. *Cancers*, 9, 2-19, 2017.
18. Vashchenko G., MacGillivray R.T.A. Multi-copper oxidases and human iron metabolism. *Nutrients*, 5, 7), pp. 2289-2313, 2013.

Received on 13.10.2020



Biolog. Journal of Armenia, 4 (72), 2020

COMPARISON OF INTERACTION OF METHYL VIOLET AND METHYLENE BLUE WITH HUMAN SERUM ALBUMIN

**A.P. ANTONYAN, M.A. SHAHINYAN, N.H. PETROSYAN,
P.O. VARDEVANYAN**

*Department of Biophysics, Yerevan State University,
p.vardevanyan@ysu.am*

In this work the study of the effect of millimeter range electromagnetic waves (MM EMW) on the complexes of human serum albumin (HSA) with methyl violet (MV) has been carried out at the different frequencies, using the methods of fluorescence and thermodenaturation. It was shown that MV binds to HSA, forming a complex, and increasing of the intensity of the protein own fluorescence takes place, meanwhile the stabilization of HSA increases. MM EMW irradiation of HSA by various frequencies invokes additional changes in the protein structure. Thus, at the protein irradiation with the frequency 41.8 GHz the protein stabilization increases as well as hydrophobicity around the tryptophan rises, while at the irradiation with 51.8 GHz the stabilization is expressed less and the hydrophobicity enhancement around the tryptophan can be neglected.

*Human serum albumin – methyl violet – irradiation – denaturation parameters –
fluorescence spectra*

Աշխատանքում իրականացվել է միլիմետրային տիրույթի էլեկտրամագնիսական ալիքների (ՄՄ ԷՄԸ) ազդեցության ուսումնասիրություն մարդու շիճուկային ալբումինի (ՄՇԱ) հետ մեթիլ մանուշակագույնի (ՄՄ) կոմպլեքսների վրա տարբեր հաճախությունների ազդեցության դեպքում՝ կիրառելով ֆլուորեսցենցիայի և ջերմադենատուրացիայի մեթոդները: Ցույց է տրվել, որ ՄՄ-ն կապվում է ՄՇԱ-ի հետ՝ առաջացնելով կոմպլեքս, ընդ որում տեղի է ունենում սպիտակուցի սեփական ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվության աճ, իսկ սպիտակուցի կայունացումը կապված է դեպքում աճում է: ՄՇԱ-ի ՄՄ ԷՄԸ ճառագայթահարումը տարբեր հաճախություններով լրացուցիչ փոփոխություններ է առաջացնում սպիտակուցի կառուցվածքում: Այսպես, 41.8 ԳՀց հաճախությամբ սպիտակուցի ճառագայթահարման դեպքում սպիտակուցի կայունացումն աճում է, ինչպես նաև աճում է հիդրոֆոբությունը տրիպտոֆանի շուրջը այն դեպքում, երբ 51.8 ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթահարելիս կայունացումն ավելի քիչ է արտահայտված, իսկ տրիպտոֆանի շուրջը հիդրոֆոբության աճի էֆեկտը կարելի է անտեսել:

*Մարդու շիճուկային ալբումին – մեթիլ մանուշակագույն – ճառագայթահարում – դենատուրացիայի
պարամետրեր – ֆլուորեսցենցիայի սպեկտրներ*

В работе исследовано влияние электромагнитных волн миллиметрового диапазона (ММ ЭМВ) на комплексы сывороточного альбумина человека (САЧ) с метильным фиолетовым (МФ) при различных частотах воздействия, с использованием методов флуоресценции и термоденатурации. Показано, что МФ связывается с САЧ, образуя с ним комплекс, при этом происходит увеличение интенсивности собственной флуоресценции белка, а стабилизация белка при связывании растёт. Облучение САЧ ММ ЭМВ разными частотами вызывает дополнительные изменения в структуре белка. Так, при облучении белка частотой 41.8 ГГц стабилизация белка растёт, а также увеличивается гидрофобность вокруг трип-

тофана, в то время как при облучении частотой 51.8 ГГц стабилизация выражена меньше, а увеличением гидрофобности вокруг триптофана можно пренебречь.

Сывороточный альбумин человека – метильный фиолетовый – облучение – параметры денатурации – спектры флуоресценции

Human serum albumin (HSA) is known as one of the most spread and well-studied proteins in the circulatory system. HSA in the blood has various important functions, including transport of endogenous and exogenous compounds [1-5]. Its role in establishment of osmotic pressure is not big, but it also exists. Albumin is known as a chief transport protein for drug preparations that binding to HSA attain to their destination point. Crystallographic studies revealed that this protein contains 585 amino-acids and consists of three homologous domains, possessing α -helical structure. Though, HSA contains only one tryptophan residue (Trp-214) [6-9]. HSA, having the aforementioned structure, reversibly binds to many low-molecular and bioactive compounds and contributes to their transport by circulatory system. It should be mentioned that HSA binds to hydrophilic as well as hydrophobic compounds by different binding centers that is why a necessity of study of formed complexes emerges.

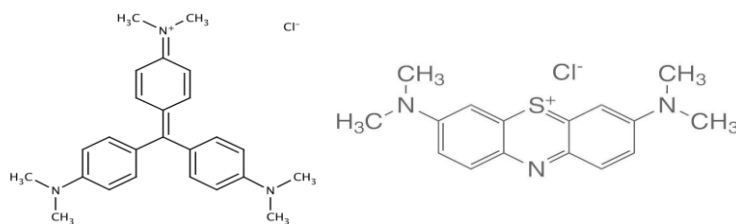


Fig. 1. Chemical structures of methyl violet (a) and methylene blue (b).

From this point of view the interaction of different drugs with HSA is important, because they change a structure and function of HSA differently, provoking alterations of its physical properties [5]. In the present work methyl violet (MV) was chosen as a sample of low-molecular compound, since MV is also known as a crystal violet and it is an external drug preparation for skin diseases (fig. 1a) [10-12]. However, MV possesses a good sterilization, low toxicity and hormesis.

Nowadays, the effect of various ecological external factors on biological systems, being on different levels of organization should be mentioned. One of these factors is an electromagnetic background, accompanying all living material on The Earth. Millimeter range electromagnetic waves (MM EMW) are separated on the scale and their intensity directly increases, which is connected to scientific-technical progress. MM EMW takes the interval of 30-300 GHz and has wavelength 1-10 mm. MM EMW affects biological objects, being on various levels of organization [13-15].

In the presented work the effect of MM EMW on HSA complexes with MV was studied at different frequencies of the influence, applying the methods of fluorescence that is a powerful tool to study the complexes, formed between biomacromolecule and low-molecular compound. The results were compared to those for methylene blue (MB) complexes with HSA, obtained in our laboratory earlier [15].

Materials and methods. Human serum albumin solution (1 %) and methyl violet ("Sigma", USA) were used in experiments. MV concentration was determined spectrophotometrically, using the following value of extinction coefficient for MV $\varepsilon_{590}=87000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

1 %-solution of HSA was irradiated by MM EMW frequencies 41.8 GHz and 51.8 GHz. Generator G4-141 ("Istok", Russia) served as a source of MM EMW with working intervals of frequencies 37.5-53.5 GHz and power flux density $64 \mu\text{Wt}/\text{cm}^2$. The sample is on the distance 180 mm from waveguide and the electromagnetic field was homogeneous. Irradiation of the samples was carried out in Petri dishes, covered by thin transparent cellophane layer to avoid water evaporation during the irradiation. Width of the irradiating solution was ~ 1 mm. Samples were irradiated during 60 min. Temperature of the irradiated samples does not change due to the low specific absorption power.

Thermo-denaturation of the complexes was carried out using PYE Unicam SP-8-100 spectrophotometer (England) with automatic heating of thermostating cells with rate $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Heating was realized by program device Temperature Programme Controller SP 876 Series 2. Values of temperature and absorption at each increment were taken on PC monitor in program medium LabVIEW 6.0. After obtaining of data the denaturation curves were constructed by the method, described in [15, 16]. From the denaturation curves the denaturation temperature and width of the denaturation interval were determined. The concentration ratio MV/albumin was equal to 1/10.

Fluorescence spectra of HSA and its complexes with MV were obtained by spectrofluorometer Cary Eclipse (Australia). Excitation of the samples was carried out at the wavelength 280 nm and the spectrum was registered in the interval $300 \leq \lambda \leq 500$ nm. After obtaining the fluorescence spectrum of the pure albumin, the titration of HSA solution by the solution of MV was carried out from the concentration ratio 1/2 up to 1/10. Measurement error was equal to 5-10 %.

Results and Discussion. Interaction of MV with HSA was studied using the method of thermal denaturation. Denaturation parameters, i.e. denaturation temperature and denaturation interval width were presented in tab. 1. As it is obvious from the tab. 1, binding of MV with HSA results in protein stabilization, which is indicated by the shift of denaturation curve toward higher temperatures. Meanwhile, at the irradiation of albumin solutions by MM EMW with 41.8 GHz a destabilization of the complexes of HSA-MV occurs, as compared with the non-irradiated complex. At the irradiation by MM EMW with the frequency 51.8 GHz a destabilization strengthens, moreover, as compared to the denaturation curve of pure protein, the stabilization effect is preserved.

Thus, it is revealed from the tab. 1 that the irradiation leads to the fact that a destabilization of the HSA-MV complex takes place, as compared to the non-irradiated complex. For the comparison the denaturation temperature and denaturation interval width of the complexes of HSA with methylene blue (MB) at the irradiation by 41.8 GHz and 51.8 GHz are presented in tab. 2 [15]. As it is obvious from tab. 1 and 2 in the case of MB the irradiation of HSA leads to the counter-effect, the stabilization strengthens in spite of HSA-MV complexes, that is the binding of MV and MB to HSA differs. Irradiation of HSA at the binding of MV leads to decreasing of the complex stabilization, as compared to the non-irradiated protein; at the binding of MB to the irradiated HSA an increase of stabilization occurs in comparison to the non-irradiated protein complex with MB.

From the presented data in tab. 1 it is shown that the complex-formation of HSA with MV results in complex stabilization, since an enhancement of both the denaturation temperature by 6.0°C and the denaturation interval width by 2.1°C is observed.

The study of the complexes HSA-MV at the irradiation by MM EMW with different frequencies becomes interesting. At the irradiation of HSA with 41.8 GHz frequency the stabilization effect of MV on HSA weakens, as compared to the non-irradiated complex, but it is preserved comparing to pure HSA. This is indicated by the thermo-denaturation data.

Table 1. Values of temperature and interval width of denaturation of HSA and its complexes with MV in both presence and absence of MM EMW irradiation

	Denaturation temperature, °C	Interval width of denaturation, °C
HSA	80.1±0.3	9.5±0.5
HSA-MV	86.1±0.2	11.6±0.5
HSA-MV (at the irradiation MM EMW with 41.8 GHz)	83.9±0.3	11.7±0.4
HSA-MV (at the irradiation MM EMW with 51.8 GHz)	81.5±0.2	11.2±0.5

Denaturation temperature at MM EMW effect with the frequency 41.8 GHz is equal to 83.9°C, while the denaturation interval width does not relevantly differ from that of the non-irradiated complex. At MM EMW irradiation of HSA by the frequency 51.8 GHz the weakening effect of MM EMW strengthens, as the denaturation temperature decreases more, than at the irradiation by 41.8 GHz. In this case the denaturation temperature is equal to 81.5°C and the denaturation interval width – 11.2°C. Proceeding from the data, presented in tab. 1, MV can play a role of stabilizer, leading to increasing of resistance to thermo-denaturation. MM EMW irradiation, vice versa, leads to decreasing of HSA stability, which is connected to MV. It means that MM EMW irradiation weakens the stabilization effect of MV, while binding to HSA.

Table 2. Values of denaturation temperature and denaturation interval width of MB complexes with non-irradiated and irradiated albumin [15]

	T _m , °C	ΔT, °C
MB-albumin	76.7±0.2	4.0±0.4
MB-albumin (41.8 GHz)	78.4±0.2	5.2±0.4
MB-albumin (51.8 GHz)	79.7±0.4	5.5±0.5

To reveal the complex-formation peculiarities of HSA-MV, the studies were carried out by the fluorescence spectroscopy method as well. Fluorescence spectra of the albumin and its complexes with MV were obtained and they are not presented here. It is obvious from tab. 3 that the increase of fluorescence intensity occurs at the HSA solution titration by MV solution. This increase may indicate a conformational change of HSA, though the shift of the wavelength, corresponding to fluorescence maximum is not observed (354 nm). But in any case the rise of fluorescence maximum means that the hydrophobicity increase around the fluorescing tryptophan takes place, as a result of which its fluorescence intensity increases. Moreover, at the irradiation of the protein the fluorescence intensity increasing takes some variations.

For both non-irradiated and irradiated HSA the fluorescence intensity was equal to 480 a.u. From the tab. 3 it can be considered that the difference between intensity maxima of HSA-MV complex in the end of the experiment and pure protein is equal to 65 a.u., at the HSA irradiation by 41.8 GHz this difference is equal to 94 a.u. The fact is interesting that at the MM EMW irradiation with 51.8 GHz the aforementioned difference is equal to 21 a.u.

This experimentally obtained result indicates that the protein irradiation by MM EMW with the frequency 41.8 GHz leads to more pronounced increasing of HSA fluorescence intensity that is bound to MV. Based on this fact one can note that the irradiation of HSA by 41.8 GHz leads to such changes of the protein structure that HSA becomes more available to MV molecules that increase the hydrophobicity around the

tryptophan and the fluorescence intensity raises by 94 a.u. In contrast, the protein irradiation with 51.8 GHz leads to less change of the fluorescence intensity – by 21 a.u. This result indicates that HSA irradiation with 51.8 GHz leads to the fluorescence intensity irrelevant change, which means that the protein screening by water molecules occurs in such way that after MV binding to HSA the intensity does not change sharply.

Table 3. Maximal values of the fluorescence intensities in the fluorescence spectra of HSA-MV complexes in the presence and absence of the irradiation (maxima are observed at 354 nm)

	Fluorescence maxima (a.u.)
HSA	480
HSA-MV	545
HSA-MV at the MM EMW irradiation by 41.8 GHz	574
HSA-MV at the MM EMW irradiation by 51.8 GHz	501

Thus, generalizing the obtained results of thermo-denaturation and fluorescence spectra, one can conclude that the binding of MV to HSA results in changing of HSA structure, meanwhile a stabilization of the protein is observed, which is indicated by the denaturation temperature values. On the other hand, it is obvious from the fluorescence spectra that the intensity of the formed complex enhances, as compared to the pure protein, which means that MV binding to HSA leads to the change of the protein in such way that the fluorescing tryptophan enters deeply into hydrophobic environment. At MM EMW irradiation of the protein with 41.8 GHz the following scene is observed: the denaturation curve of the complex irradiated protein-MV is shifted to lower temperature region comparing to that of non-irradiated protein-MV, meanwhile compared to the pure protein the stabilization takes place. According to the fluorescence spectroscopy data the fluorescence intensity of the irradiated protein enhances along with titration of ligand, by about ~94 a.u. From these data one can conclude that the irradiation of HSA with 41.8 GHz invokes the protein structure compacting and at the further binding to MV, the changes result in hydrophobicity increasing around the tryptophan due to which the protein fluorescence rises. At the protein irradiation with 51.8 GHz the complex stabilization decreases, remaining higher, than at the non-irradiated pure protein. Moreover, the fluorescence intensity does not increase relevantly, based on which one can insist that MV binding to the irradiated HSA with 51.8 GHz invokes such structural changes, which means that the protein screening by water molecules surely protects itself from alterations caused by MV. It can have a biologically important value for binding and transferring of drug preparations, since the irradiation results in some destabilization of HSA-MV complexes.

Resulting from the obtained data one can conclude that MV binds to HSA, forming a complex and increasing the own fluorescence intensity of the protein, on the other hand, the protein stabilization rises. MM EMW irradiation of HSA with different frequencies induces additional changes in the protein structure. Thus, at the protein irradiation with 41.8 GHz its stabilization enhances as well as a relevant hydrophobicity increase around the tryptophan occurs, while at the irradiation with 51.8 GHz the stabilization is expressed less and the hydrophobicity enhancement around the tryptophan can be neglected.

REFERENCES

1. He L.-L., Wang Y.-X., Wu X.-X., Liu X.-P., Wang X., Liu B., Wang X. Enhancement of the binding affinity of methylene blue to site I in human serum albumin by cupric and ferric ions. *Luminescence*, 30, p. 1380-1388, 2015.
2. Singh T.S., Mitra S. Interaction of cinnamic acid derivatives with serum albumins: a fluorescence spectroscopic study. *Spectrochim Acta A*, 134, p. 361-363, 2015.
3. Sandhya B., Hegde A.H., Kalanur S.S., Katrahalli U., Seetharamappa J. Interaction of tripolidine hydrochloride with serum albumins: thermodynamic and binding characteristics and influence of site probes. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 54, p. 180-186, 2011.
4. Fehske K.J., Muller W.E., Wollert U. The location of drug binding sites in human serum albumin. *Biochem. Pharmacol.*, 30, p. 687-692, 1981.
5. Alarcon E., Edwards A.M., Aspee A., Moran F.E., Borsarelli C.D., Lissi E.A., Gonzalez-Nilo D., Poblete H., Scaiano J.C. Photophysics and photochemistry of dyes bound to human serum albumin are determined by the dye localization. *Photochem. and Photobiol. Sci.*, 9, p. 93-102, 2010.
6. He X.M., Carter D.C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature*, 358, p. 209-215, 1992.
7. Ge F., Chen C., Liu D., Han B., Xiong X., Zhao S. Study on the interaction between theasinesin and human serum albumin by fluorescence spectroscopy. *J. of Luminescence*, 130, p. 168-173, 2010.
8. Hu Y.-J., Li W., Liu Y., Dong J.-X., Qu S.-S. Fluorometric investigation of the interaction between methylene blue and human serum albumin. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39, p. 740-745, 2005.
9. Zhang G.W., Que Q.M., Pan J.H., Guo J.B. Study of the interaction between icariin and human serum albumin by fluorescence spectroscopy. *J. Mol. Struct.*, 881, p. 132-138, 2008.
10. Qin M., Yin T., Shen W. The interaction between crystal violet and bovine serum albumin: Spectroscopic and molecular docking investigations. *J. of Dispersion Sci. and Tech.*, 37, 11, p. 1623-1629, 2016.
11. Hu Y., Xu S., Zhu X., Gong A. Study on the interaction between methyl violet and bovine serum albumin by spectral analyses. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 74, p. 526-531, 2009.
12. Sun W., Han J.-Y., Li Q.-J., Jiano K. Spectrophotometric and voltammetric studies on the interaction of heparin with crystal violet and its analytical application. *S. Afr. J. Chem.*, 60, p. 42-46, 2007.
13. Zhao R., Zhang S., Xu Z., Ju L., Lu D., Yao G. Studying gene expression profile of rat neuron exposed to 1800 MHz radio-frequency electromagnetic fields with cDNA microassay. *Bioelectromagnetics*, 235, p. 167-175, 2007.
14. Zhang M., Li X., Bai L., Uchida K., Bai W., Wu B., Xu W., Zhu H., Huang H. Effects of low frequency electromagnetic field on proliferation of human epidermal stem cells: An in vitro study. *Bioelectromagnetics*, 34, p. 74-80, 2013.
15. Shahinyan M.A., Antonyan A.P., Kalataryan V.P., Mikaelyan M.S., Vardevanyan P.O. Study of the influence of millimeter range electromagnetic waves on methylene blue complexes with human serum albumin. *J. of Electromagnetic Waves and Applications*, 33, 17, p. 2317-2327, 2019.
16. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Shahinyan M.A., Mikaelyan M.S. Influence of millimeter electromagnetic waves on fluorescence of water-saline solutions of human serum albumin. *J. of Applied Spectroscopy*, 83, 3, p. 486-489, 2016.

Received on 20.10.2020



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4 (72), 2020

**ՏՆԿԱՐԿԻ ԽՏՈՒԹՅԱՆ ԱՉԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՉԻՆԱԿԱՆ ԿԱՂԱՄԲԻ
(BRASSICA RAPA SUBSP. CHINENSIS) ԲԵՐՔԱՎԵՏՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ
ԲԱՑՕԹՅԱ ՀԻԴՐՈՊՈՆԻԿԱՅՈՒՄ**

**Ա.Յ. ԹԱԴԵՎՈՍՅԱՆ, Զ.Ս. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ, Ա.Յ. ԹՈՎՄԱՍՅԱՆ,
Մ.Խ. ԴԱՐՅԱԴԱՐ, Ա.Ս. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ**

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

Հիդրոպոնիկ և հողային մշակությամբ չինական կաղամբի (պակ-չոյ) աճի, զարգացման և արդյունավետության վրա երկու վեգետացիոն շրջաններում (մարտ-հունիս և օգոստոս-հոկտեմբեր) բարենպաստ պայմաններ է ապահովել 30 բույս/մ² տնկարկի խտությունը: Ստացված թարմ բուսահումքը ելով գերազանցել է 40 և 50 բույս/մ² խտության տարբերակները, առաջին շրջանում՝ 1.1-1.5, երկրորդ շրջանում՝ 1.1-1.8 անգամ: Միաժամանակ երկրորդ վեգետացիոն շրջանում բոլոր տարբերակներում բույսերն աչքի են ընկել բարձր բերքատվությամբ (1.4-3.2 անգամ): Ca-ի և Mg-ի բարձր քանակություն և՛ հիդրոպոնիկ (1.7-3.0 և 3.0-3.5 անգամ), և՛ հողային բույսերում (1.1-1.3 և 1.1-1.4 անգամ) գրանցվել է 30 բույս/մ² տնկարկի խտության պայմաններում: Ընդ որ Ca-ի համեմատաբար բարձր քանակություն դիտվել է հողային բույսերում (1.1-4.3 անգամ):

Պակ-չոյ – հիդրոպոնիկա – տնկարկի խտություն – Ca – Mg – բերքատվություն

Благоприятное условие для роста, развития и продуктивности китайской капусты пак-чой, как в гидропонической культуре, так и в почвенной обеспечила густота посадки 30 растений на квадратный метр. По выходу свежего сырья данный вариант превысил варианты 40 и 50 р/м², в первом периоде 1.1-1.5 раза, во втором периоде 1.1-1.8 раза. В тоже время, во втором периоде вегетации во всех вариантах наблюдалась высокая урожайность (1.4-3.2 раза). Высокое содержание Ca и Mg и в гидропонике (1.7-3.0 и 3.0-3.5 раза), и в почвенных растениях (1.1-1.3 и 1.1-1.4 раза) наблюдалось в варианте 30 р/м². Сравнительно большое количество Ca было в почвенных растениях (1.1-4.3 раза).

Пак- чой – гидропоника- густота посадки - Ca – Mg- урожайность

In hydroponic and soil culture the 30 plant/m² plant density provides favorable conditions for the growth, development and efficiency of Chinese cabbage (pak-choi) during two vegetation periods (March-June and August-October). It exceeded 40 and 50 plant/m² variants with the output of the received fresh plant raw material: 1.1-1.5 times during first period and 1.1-1.8 times during second period. At the same time, during the second vegetation period in all variants plants exceled with high yield (1.4-3.2 times). High content of Ca and Mg was recorded in conditions of 30 plant/m² planting density in both hydroponic (1.7-3.0 and 3.0-3.5 times) and soil (1.1-1.3 and 1.1-1.4 times) plants. Herewith, comparatively high content of Ca is observed in soil plants (1.1-4.3 times).

Pak-choi – hydroponic – planting density- Ca – Mg – yield

Բանջարային մշակաբույսերի տեսականու ընդլայնումը նպաստում է բնակչության սննդի լիարժեք և բազմաբնույթ լինելուն, որին կարելի է հասնել արտադրության մեջ նոր տեսակների, քիչ տարածված, ոչ ավանդական մշակաբույսերի դեռևս քիչ հայտնի տարատեսակների և սորտերի ներդրման հաշվին: Ինչպես հայտնի է, խեղացի և աշխատասեր չինացիներն աշխարհին նվիրել են յուրահատուկ հատկություններով օժտված բազմաթիվ բույսեր: Դրանց շարքում կարելի է դասել վաղահաս չինական կաղամբը կամ պակ-չոյը, որը Չինաստանի ամենահին մշակաբույսերից մեկն է և համարվում է չինական, կորեական և ճապոնական խոհանոցների հանրահայտ բաղադրիչ մասը: Այն օգտագործվում է թարմ, շոգեխաշած կամ տապակած, ավելացվում ապուրների մեջ, նաև մարինացվում է: Առանձնանում է իր հյութալիությամբ և նրբահամությամբ: Ներկայումս այս մշակաբույսը մեծ տեղ է գրավում Ամերիկայի, Ասիայի, Ռուսաստանի և Եվրոպայի մի շարք երկրների բանջարաբուծության մեջ:

Կաղամբազգիներն ամենատարածված և մարդու առողջ սննդակարգում ամենագործածական բանջարաբույսերից են, որոնք մշակվում են գրեթե բոլոր կլիմայական գոտիներում:

Չինական տերևային կաղամբը պատկանում է կաղամբազգիների (Brassicaceae) ընտանիքին, *Brassica* ցեղին, *chinensis* տեսակին: Այն միամյա, կարճ վեգետացիա ունեցող բանջարաբույս է (35-45 օր): Չի կազմում կաղամբագլուխ, այլ հաստ ցողունների վրա ձևավորվում են հարթ, բաց կանաչ, հյութալի, նուրբ տերևներ: Ցերեկային ժամերի տևողությունն ազդում է այս բույսի աճի վրա, այսպես՝ կարճ օրերը նպաստում են բույսի վեգետատիվ աճին, իսկ երկար օրերը՝ ծաղկմանը:

Ուսումնասիրությունները հաստատել են, որ տերևային կաղամբազգիների շարքում, սննդային և կենսաքիմիական կազմով ամենաարժեքավորներից մեկը համարվում է պակ չոյը [7]: Այն պարունակում է սպիտակուցներ, ֆլավոնոիդներ, մեծ քանակությամբ վիտամիններ (A, B, C, K, PP), հանքային նյութեր Ca (105 մգ/100 գ), Mg, Fe, Mn և Na [6, 11, 12]: Օժտված է հակաօքսիդանտային հատկություններով [8, 10, 13, 14], պարունակում է հակաքաղցկեղային նյութ գլյուկոզինոլատ [10]: Ունենալով ցածր կալորիականություն (13 կկալ)՝ օգտագործվում է առողջ սննդակարգում, նվազեցնում է վատ խոլեստերինի քանակը արյան մեջ, ինչը մեծ դեր է խաղում անոթների աթերոսկլերոզի պրոֆիլակտիկայի և բուժման ժամանակ [9, 15]: Հարուստ է թաղանթանյութով (ցելյուլոզ), մանրաթելիկներով, արժևորվում է նաև ամինաթթու լիզինի պարունակությամբ [4]:

Այս մշակաբույսի հյութն ունի մանրէասպան հատկություն, ինչի շնորհիվ օգտագործում են ստամոքսի խոցի, վերքերի, այրվածքների բուժման ժամանակ [8]: Ի տարբերություն աշխարհի մի շարք երկրների՝ մեր հանրապետությունում մշակվող բանջարաբույսերի կազմում բացակայում են այդ մշակաբույսը և դրան նվիրված գիտական որևէ տեղեկատվություն:

Հաշվի առնելով այս հանգամանքը՝ մեր կողմից առաջին անգամ Հայաստան է ներմուծվել և հիդրոպոնիկական մշակույթում ուսումնասիրվել արժեքավոր բանջարաբույս պակ-չոյի աճեցման հնարավորությունը: Նպատակ է դրվել անհող մշակույթի պայմաններում ուսումնասիրելու սնման մակերեսի ազդեցությունն այս մշակաբույսի աճի, զարգացման և արդյունավետության վրա:

Նյութ և մեթոդ: Հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ պակ-չոյը ունի վեգետացիոն կարճ ժամանակաշրջան, ուստի տնկարկվել է երկու անգամ՝ գարնանը (մարտի վերջին) և ամռանը (օգոստոսի վերջին): Փորձերը դրվել են հիդրոպոնիկական վեգետացիոն անոթներում (2 մ²)՝ 30, 40, 50 բույս/մ² տնկարկի խտությամբ, հրաբխային խարամ + գլաբար (1:1) լցանյութում: Բույսերը սնուցվել են օրական 2 անգամ Դավթյանի սննդալուծույթով [2]: Ստուգիչ է ծառայել հողային մշակույթը (0.5 մ²)՝ պահպանելով ընդունված բոլոր ագրոտեխնիկական կանոնները (հողի փխրեցում, մոլիբդենի մաքրում, պարբերաբար ջրումներ, պարարտացում և այլն), [5]: Բուսահումքում Ca-ի և Mg-ի պարունակությունը որոշվել է ըստ Գասպարյանի [1]: Ստացված տվյալները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման՝ ըստ Դոսպեխովի [3]:



Նկ.1. Պակ-չոյը հիդրոպոնիկ (ա, բ) և հողային մշակույթի (գ) պայմաններում

Արդյունքներ և քննարկում: Գիտափորձերի արդյունքները ցույց են տվել (աղ. 1), որ երկու վեգետացիոն շրջաններում՝ չինական կաղամբի աճի ու զարգացման, ինչպես նաև բարձր արդյունավետության համար և՛ հիդրոպոնիկ, և՛ հողային մշակույթում բարենպաստ պայմաններ է ապահովել 30 բույս/մ² տնկարկի խտությունը: Վեգետացիոն առաջին շրջանում չինական կաղամբը թարմ բուսահումքով գերազանցել է հիդրոպոնիկ մյուս տարբերակներին 1,3-1,5, իսկ հողային բույսերին՝ 1,8-2,6 անգամ, մինչդեռ վեգետացիոն երկրորդ շրջանում՝ շուրջ 1,1 և 1,5-1,8 անգամ, համապատասխանաբար:

Աղյուսակ 1. Չինական կաղամբի արդյունավետությունը տնկարկի տարբեր խտությունների պայմաններում

Տնկարկի խտություն, բույս/մ ²	Առաջին վեգետացիոն շրջան				Երկրորդ վեգետացիոն շրջան			
	հիդրոպոնիկ		հող (ստուգիչ)		հիդրոպոնիկ		հող (ստուգիչ)	
	բուսահումք, գ	արմատ, գ	բուսահումք, գ	արմատ, գ	բուսահումք, գ	արմատ, գ	բուսահումք, գ	արմատ, գ
30	127,2	12,1	72,3	6,8	311,4	13,4	137,5	8,4
40	99,1	11,2	65,2	6,1	285, 2	11,2	90,1	6,3
50	85,7	8,4	48,1	3,6	275,2	10,1	76,5	4,7
ՎԵՏ ₀₅	16,4*				33,6*			

* - հաշվարկը կատարվել է միայն բուսահումքի համար

Միաժամանակ հետազոտությունների արդյունքներից պարզ է դարձել, որ երկրորդ վեգետացիոն շրջանում փորձարկված բոլոր տարբերակներում, 1 բույսից ստացված բերքով չինական կաղամբը գերազանցել է առաջին վեգետացիոն շրջանում ստացված բերքին, հիդրոպոնիկական մշակույթում՝ 2,4-3,2, իսկ հողայինում՝ 1,4-1,9 անգամ: Աղ. 1-ի վերլուծությունից պարզվել է նաև, որ երկու վեգետացիոն շրջաններում էլ չինական կաղամբի բուսահումքի քաշը ուղիղ համեմատական է արմատի քաշին, այսինքն՝ արմատային համակարգի զանգվածի մեծացմանը զուգընթաց նկատվել է վերերկրյա զանգվածի քաշի մեծացում: Գարնանը տնկած բույսերը վեգետացիայի վերջում սերմակալել են, ընդ որում սերմերի քաշը 1 բույսից հիդրոպոնիկ տարբերակներում եղել է 12-14 գ, իսկ հողայինում՝ 5-7 գ:

Աղ. 2-ի տվյալներից պարզվել է, որ պակ-չոյի թարմ տերևներում Ca-ի և Mg-ի բարձր քանակություն հիդրոպոնիկի դեպքում 1,7-3,0 և 3,0-3,5; հողային բույսերում՝ 1,1-1,3 և 1,1-1,4 անգամ գրանցվել է 30 բույս/մ² տնկարկի խտության պայմաններում: Միաժամանակ պետք է նշել, որ Ca-ի համեմատաբար բարձր քանակություն դիտվել է հողային բույսերում, որը գերազանցել է հիդրոպոնիկ մյուս տարբերակներին 1,1-4,3 անգամ:

Աղյուսակ 2. Տնկարկի տարբեր խտությունների ազդեցությունը չինական կաղամբի բուսահումքում կալցիումի և մագնեզիումի պարունակության և էլի վրա

Մշակման պայմանները	Տնկարկի խտությունը, բույս/մ ²	Ca		Mg	
		մգ%	մգ/ բույս	մգ%	մգ/ բույս
Հիդրոպոնիկա	30	4,0±0,09	85	4,2±0,08	90
	40	2,0±0,03	28	1,8±0,04	26
	50	3,0±0,06	49	1,8±0,03	31
Հող (ստուգիչ)	30	5,0±0,11	120	3,0±0,05	72
	40	4,5±0,08	109	2,8±0,04	52
	50	3,8±0,07	96	3,1±0,05	65

Այսպիսով, չինական կաղամբի բարձր բերքատվության համար և՛ հիդրոպոնիկ, և՛ հողային մշակությամբ, երկու վեգետացիոն շրջաններում, բարենպաստ պայմաններ է ապահովել 30 բույս/մ² տնկարկի խտությունը, որտեղ թարմ տերևներում դիտվել է նաև Ca-ի և Mg-ի բարձր քանակություն: Միաժամանակ պետք է նշել, որ հողային բույսերն աչքի են ընկել Ca-ի համեմատաբար բարձր պարունակությամբ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Гаспарян О.Б.* Рекомендации по химическому анализу растений, Сообщения ИАПиг АН АрмССР, N 22, с. 157-161, 1981.
2. *Давтян Г.С.* Гидропоника. В кн.: Справочная книга по химизации сельского хозяйства. М., Колос, с. 382-385. 1980.
3. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта, М., 351 с., с. 223-228, 1985.
4. Капуста Пак-Чой– Витаминная Китайская Красавица. Выпуск № 33. <http://grmt.ru/dm/vyipusk-33-kapusta-pak-choy/>
5. *Майранетян С.Х.* Культура эфиромасличных растений в условиях открытой гидропонии. Ереван: изд. АН АрмССР, 313 с., 1989.
6. *Acikgoz F.E.* Seasonal Variations on Quality Parameters of Pak Choi (Brassica rapa L. subsp. chinensis L.). Adv Crop Sci Tech, 2016, 4: 233. doi:10.4172/2329-8863.1000233.
7. *Artemyeva A.M. and Solovyeva, A.E.* Quality evaluation of some cultivar types of leafy Brassica rapa. Acta Hort. 706, 121-128, 2006, DOI: 10.17660/ActaHortic.2006.706.12.
8. *Cartea M., Francisco M., Soengas P., Velasco P.* Review Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. Molecules, 16, 251-280, 2011, doi:10.3390/molecules16010251
9. *Harbaum B., Hubbermann E.M., Zhu Z., Schwarz K.* Free and bound phenolic compounds in leaves of pak choi (Brassica campestris L. ssp. chinensis var. communis) and Chinese leaf mustard (Brassica juncea Coss). Food Chem. 2008 Oct 15; 110, 4, 838-46. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.02.069.
10. *Kim MJ, Chiu YC, Kim NK, Park HM, Lee CH, Juvik JA, Ku KM.* Cultivar-Specific Changes in Primary and Secondary Metabolites in Pak Choi (Brassica Rapa, Chinensis Group) by Methyl Jasmonate. Int. J. Mol. Sci. 2017. 18(5). pii: E1004. doi: 10.3390/ijms18051004.
11. *Krumbein A., Schonhof I., Schreiner M.* Composition and contents of phytochemicals (glucosinolates, carotenoids and chlorophylls) and ascorbic acid in selected Brassica species (B.juncea, B.rapa subsp. Nipposinica var. chinoleifera, B.rapa subsp. Chinensis and B.rapa subsp. rapa). Journal of Applied Botany and Food Quality, 79, 3, pp.168-174, 2005.
12. *Rochfort SJ, Imsic M, Jones R, Trenerry VC, Tomkins B.* Characterization of flavonol conjugates in immature leaves of pak choi [Brassica rapa L. Ssp. chinensis L. (Hanelt.)] by HPLC-DAD and LC-MS/MS. J Agric Food Chem. 54, 13, 4855-60, 2006.

13. *Wiesner M, Schreiner M, Glatt H.* High mutagenic activity of juice from pak choi (*Brassica rapa* ssp. *chinensis*) sprouts due to its content of 1-methoxy-3-indolylmethyl glucosinolate, and its enhancement by elicitation with methyl jasmonate. *Food Chem Toxicol.* 2014 May;67:10-6.
doi: 10.1016/j.fct.2014.02.008. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24530313>
14. *Zhao X., Nechols J., Williams K. et al.* Comparison of phenolic acids in organically and conventionally grown pac choi (*Brassica rapa* L. *chinensis*). *J. Sci. Food Agric.* 89, #6, , pp. 940-946, 2009.
15. *Zutić I., Borošić J., Toth N. Novak B., Dobričević, N.* Agronomic And Dietary Value of Pak Choy (*Brassica Rapa* Ssp. *Chinensis*) in Different Growing Periods. *Acta Hortic.* 729, 239-243, 2007.

Ստացվել է 22.10.2020



Biolog. Journal of Armenia, 4 (72), 2020

COMPARATIVE ASSESSMENT OF BREWERY WASTEWATER TREATMENT POTENTIAL BY MICROALGAE *PARACHLORELLA* *KESSLERI* AND *CHLORELLA VULGARIS*

N.K. KALANTARYAN¹, B.A. HARUTYUNYAN¹, E.V. MINASYAN¹, A.H.
TSATURYAN¹, M. PAVLEČIĆ², N. MARĐETKO² AND V.B. GOGINYAN¹

¹Scientific and Production Center “Armbiotechnology” NAS RA

²University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology,
Department of Biochemical Engineering
narine_kalantaryan@yahoo.com

The possibility of brewery wastewater treatment by *Parachlorella kessleri* and *Chlorella vulgaris* microalgae strains and the efficiency of wastewater treatment depending on different concentrations of inoculum volume have been studied. The prospects of using brewery wastewater as a substrate for fatty acids production were also investigated in the framework of this research.

Microalgae – brewery wastewater – treatment – fatty acids

Ուսումնասիրվել է գարեջրի արտադրության թափոնների մաքրման հնարավորությունը *Parachlorella kessleri* և *Chlorella vulgaris* միկրոօրգանիզմների շտամների օգնությամբ, ինչպես նաև հոսքաջրերի մաքրման արդյունավետությունը՝ կախված ինոկուլատի տարբեր ծավալներից: Հետազոտվել են նաև գարեջրի արտադրության թափոնների կիրառման հեռանկարները՝ որպես ճարպաթթուների արտադրության սուբստրատներ:

Միկրոօրգանիզմներ – գարեջրի արտադրության թափոններ – վերամշակում – ճարպաթթուներ

Изучена возможность очистки сточных вод пивоваренных заводов штаммами микроводорослей *Parachlorella kessleri* и *Chlorella vulgaris*, а также эффективность очистки сточных вод в зависимости от различных концентраций объема инокулята. Также исследована возможность использования сточных вод пивоваренного производства в качестве субстрата для производства жирных кислот в рамках данного исследования.

Микроводоросли – сточные воды пивоваренного производства – очистка – жирные кислоты

Microalgae seem to be an alternative to the traditional biodiesel feedstocks such as edible vegetable oils or animal fats and other residual products from the economic, social and environmental point of view. Their high potential of biomass and fatty acids production and the possibility of using nutrients from waste streams (wastewaters and/or CO₂ flue gas emissions) can help reduce the environmental impacts and costs of cultivation. Moreover, microalgae are a feedstock for production of feeds, fertilizers, other fuels and chemicals.

Microalgae have an important role in the processes of industrial wastewater treatment. They are increasing the efficiency of removing biogenic elements, heavy metals, as well as eliminating pathogenic microflora. Microalgae can also utilize carbon dioxide released during the respiration of bacteria and produce oxygen necessary for heterotrophic aerobic bacteria to mineralize organic compounds.

The most important advantage of photosynthetic aeration is the cost reduction of the treatment facilities operation and the reduction of the high risk of volatile pollutants leakage that are associated with artificial aeration. Brewing is mostly a batch process. It is characterized by the so-called "burst emissions", when the concentration and amount of wastewater are liable to significant hesitations over time. The pH values of wastewater also fluctuate quite significantly, but usually remain neutral. During burst emissions wastewater is being enriched with used detergents and disinfectants, because of which the pH value can exceed 9.

Brewery wastewater usually has the following composition: residues of the final product, grains of barley, sprouts of malt, and particles of hop. The most polluted wastewater comes from grain soaking, hop extraction and yeast washing. They make up 27 % volume of all brewery wastewater. The yeast secessions of brewing give effluents with the following indexes: suspended solids - 500-2000 mg/L; BOD₅ (biological oxygen demand) - 1200-3000 mg O₂/L; nitrogen - 60-254 mg/L; phosphorus - 100 mg/L; potassium - 480 mg/L; pH 4-7.2.

Nitrogen in wastewater mostly comes from organic proteins and yeast income to the wastewater, and a small part of nitrogen comes from ammonia and nitrates. The quantitative content of nitrogen and phosphorus allows doing effective biological treatment of wastewater without the special addition of supplementary chemical reagents. The BOD₅ / nitrogen ratio in the total brewery effluent is 60-100, and BOD₅/COD (chemical oxygen demand) is approximately 0.6-0.7. These indicators are conducive for biological treatment processes of wastewater, which are based on nutrients removal mechanisms.

Microalgae have been used for wastewater treatment for several decades. At the same time, in recent years, a new direction has been developed for the organic and non-organic substances removing from wastewater by their accumulation in algal biomass, which is considered as an economically effective method of wastewater treatment [12; 13]. Microalgae are single-celled organisms that can be found in various aquatic environments. They are responsible for more than 40 % of the global carbon fixation, and are becoming more interesting nowadays because of their potential in biotechnology [1]. The growing interest is due to the fact that all microalgae have the capacity to produce energy rich oils especially in media with limiting substrates. These oils can then be used in production of renewable fuels, namely biodiesel, which can be obtained in a process called transesterification. Besides fatty acids, they also produce different products such are antioxidants, carotenoid, different polymers and peptides, which are used in different industrial products [14]. Microalgae can be cultivated in bioreactors and in open cultivation systems and there are several factors affecting their growth; light intensity, carbon source, temperature and different microelements and these are just a few of them. Among the aforementioned, temperature is one of the most important factors affecting the growth and which is very hard to control, especially in large-scale outdoor systems. The temperature oscillations in open pond or other types of cultivation systems can greatly affect lipid production. Certainly, different microalgae have different optimal temperatures for the growth but most of the species are able to withstand temperatures between 5-35°C. One possible way to overcome this problem is to have closed control systems, photobioreactors, which can be used to increase bioprocess

yields and efficiency [8]. Due to their capability to accumulate lipids, microalgae are becoming popular in developing solutions for the replacement of fossil fuels which are becoming scarce. So far it has been shown that different substrates can be used for their cultivation especially wastewaters from different industries [5, 16, 18]. Some research has been done with the consortium of microalgae and bacteria [11] with promising results. Application of microalgae is slowly increasing so that some strains found their application even in human medicine, namely photodynamic therapy in treating tumor patients [9].

Chlorella and *Parachlorella* species are unicellular immotile green microalgae classified in the *Trebouxiophyceae*, which have spherical cells less than $\sim 10 \mu\text{m}$ in diameter containing a chloroplast. Recently, these species have been used in many investigations where they showed good results for their lipid production. It has been shown that *P. kessleri* is able to accumulate lipids when sulphur source is a limiting component in cultivation media [17]. Besides, limitations in starch as carbon source, show similar results in experiments with this strain [6]. Another interesting fact about *P. kessleri* is that this microalga is also capable of producing H_2 . Namely, by regulating light intensities and carbon source one strain was able to produce this alternative biofuel [7]. *Ch. vulgaris* on the other hand is a green eukaryotic microalgae in the genus *Chlorella*. It was discovered in 1890 by Martinus Willem Beijerinck as the first microalgae with a well-defined nucleus. As it contains a lot of protein, these microalgae have also found their application in human nutrition [2]. Japanese people are being recognized as the biggest consumers of *Chlorella*, especially because of its medical and health-improving properties. The protein content of *Ch. vulgaris* varies from 42 to 58% of its biomass dry weight [3] and they are considered to have a good nutritional quality, because algae are capable of synthesizing both essential and non-essential amino-acids [15]. Recently, these microalgae have also become interesting in the field of biofuels production. [10].

The aim of this study was to evaluate the prospects of primary treatment of brewery wastewater using different types of green unicellular microalgae, as well as the usage of wastewater as a nutrient medium for microalgae growth.

Materials and methods. Microalgae strains

Two types of microalgae cultures: *Parachlorella kessleri* and *Chlorella vulgaris* (Culture collection of the Laboratory of Alternative Energy Sources of the Scientific and Production Center "Armibiotechnology" NAS RA) have been used within this research.

Nutrient media

The following nutrient media have been used during this experiment:

1. synthetic, chemically defined Tamiya's nutrient medium, with the following composition (g/L): KNO_3 - 2.0; KH_2PO_4 - 0.3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.3; trace element solution - 1ml; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ solution (14.4g/L) - 1ml. Trace element solution (g/L): $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 5.0; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0.02; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0.01; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.04; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - 1.12; H_3BO_3 - 0.6; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 1.062; Na EDTA - 7.5. pH was adjusted to 9 using NaOH solution. Autoclaving: 1 atm., 121°C , 20 min;

2. chemically undefined complex media: sterilized and non-sterilized brewery wastewater from "BEER OF YEREVAN" CJSC (Yerevan, Armenia).

Microalgae cultivation

40 ml of previously cultivated microalgae (*Parachlorella kessleri* and *Chlorella vulgaris*) was added to 400 ml of nutrient media. Bubbling of cultural fluids was performed by aeration kits.

For the second part of experiment 10%, 30% and 50% v/v of inoculum was added to 200 ml of unsterilized wastewater. Flasks were cultivated on a rotary shaker at 28°C and 150 rpm, exposed to artificial light source, respectively. Flasks were kept under the constant illumination (1500-1800 lux) at room temperature.

Determination of microalgae growth on the basis of spectrophotometric measurements

Growth rate was evaluated according to the samples optical density by spectrophotometric measurements at the wavelength of 540 nm. The samples for analysis have been taken every second day.

Dry biomass obtaining

After two weeks of cultivation, the algal cells were harvested using centrifuge (6000 rpm, 10 min). Then, the wet biomass was dried in thermostat (40°C) until constant weight was obtained.

Lipid extraction

The extraction of lipids was performed by Bligh and Dyer method [4] using 50 mg sample.

Determination of fatty acid content

The composition of fatty acids was determined by gas chromatography. Prior to GC analysis, the samples were re-suspended with 1 ml of hexane and transferred into 3 ml Eppendorf cuvettes. For this analysis we had to obtain fatty acid esters by adding 1 ml of methanol. 1 µL of sample was used for the analysis of fatty acid composition. The fatty acid methyl esters have been determined by the Shimadzu GC-2010 gas chromatography saturated with DB-5-MS capillary column in the 80-290°C temperature range. The temperature of the column was increased 40°C/min. The temperatures of injector and detector were 250 and 230°C, respectively. Carrier gas flow was 1.2 ml/min.

Amino-acid composition analysis

The amino acid range of brewery wastewater was determined by amino acid analyzer "Shimadzu Nexera X2" (Japan). For separation of amino acids Novo-Pak C 18.4 µm, 3.9-150 mm chromatographic column was used. It was carried out in a gradient elution mode. The following reagents were used as the mobile phase: A). acetonitrile: methanol: water (45:40:15 -v/v); B). phosphate buffer pH = 7.0; flow rate was 0.5 ml / min, detection was carried out at a wavelength of ex350-em450 nm, column temperature – 300°C, injection volume - 10 µl; chemical reagents and eluents: MeCN, MeOH, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, HCl, ortho-phthalaldehyde reagent CAS: 643-79-8 (Sigma-Aldrich with purity > 99.9 %).

Determination of the total content of organic and non-organic matter in brewery wastewater

The total content of organic and non-organic substances in the wastewater was determined by the following method: 5 ml of wastewater samples were placed in pre-weighed crucibles. The crucibles with the samples were put in a thermostat (80°C). After 24 hours the crucibles were weighed, the operation was repeated until obtaining the constant weight. To determine the total inorganic content, the sample was placed in a muffle oven (550°C, 1 hour), and the experiment was repeated until the constant weight was obtained.

Results and Discussion. The analysis of the total content of organic and non-organic matter in brewery wastewater showed that the dry matter content (organic + non-organic) in the studied wastewater sample was 4.4±0.24 mg/ml and the ash content (non-organic matter) was 1.12±0.0 mg/ml. That is, the content of organic matter was 3.28 mg /ml. Prior to cultivation, amino acid analysis of wastewater has been done. The results showed that only 3 amino acids were present in brewery wastewater (fig. 2).

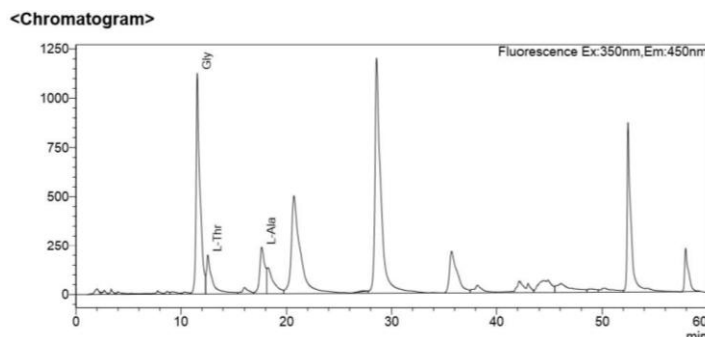


Fig. 1. Chromatogram of amino acid analysis of wastewater. The calculations showed the following content of determined amino acids (µg/ml): Glycine-4; L- Threonine-3; L- Alanine-6.

The microalgae growth assessment has been done for 14 days, and then the cultivation was stopped. The results of spectrophotometric measurements were summarized and the kinetic curves were established (fig. 2 and 3).

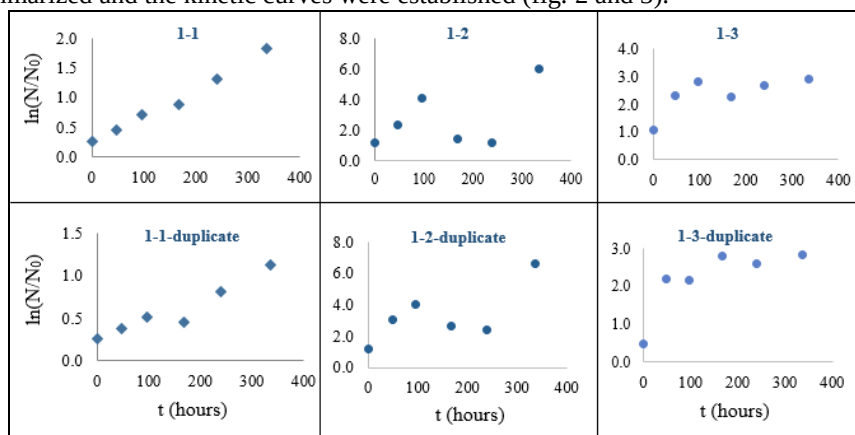


Fig. 2. Growth curves of *P. kessleri* in
1-1. Tamiya's nutrient medium, 1-2. Sterilized wastewater, 1-3. Non-sterilized wastewater

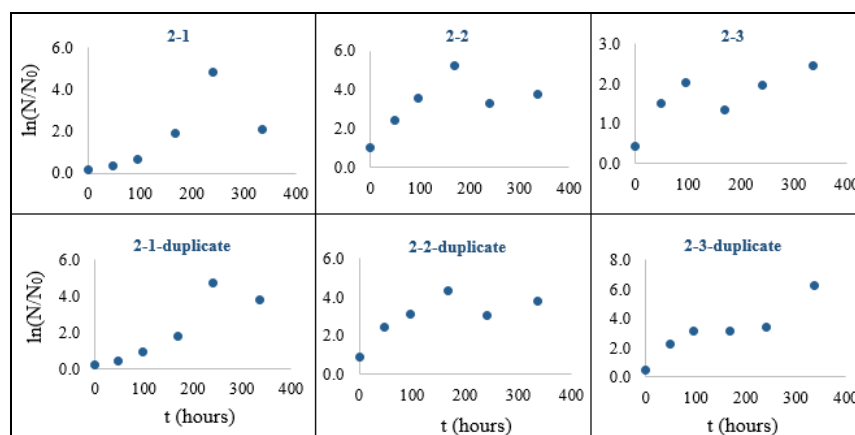


Fig.3. Growth curves of *Ch. vulgaris* in Tamiya's nutrient medium
2-1. Tamiya's nutrient medium; 2-2. Sterilized wastewater; 2-3. Non-sterilized wastewater

According to the presented data the microalgae growth was observed in all samples. However, the results do not still allow to draw any definite conclusions, especially about the growth of microalgae in non-sterile wastewater samples. The accompanying microflora in the wastewater may interfere with obtaining correct results and the optical density changes can be caused by the growth of other microbes, present in wastewater, including the growth of residual yeast. However, the experimental results suggest that *P. kessleri* microalga grows better on wastewater, which may be due to several reasons: higher rate of this alga growth, when the bacterial growth was simply suppressed, and the chemical composition of wastewater, which was more optimal for this species. The analysis of the results showed that sterilized wastewater was a better medium for the growth of *Ch. vulgaris*, while *P. kessleri* microalga showed similar growth in both sterile and non-sterile ones. This means that the use of *P. kessleri* for wastewater treatment may be more promising, since the usage of non-sterile effluents for

the cultivation of microalgae can significantly reduce the cost of bioprocess, especially on a large-scale, which is a valuable research result.

The importance of the inoculum volume on the growth rate of microalgae was studied in the next step of the research. 10; 30 and 50 % v/v of inoculum volumes were taken and added to 200 ml of non-sterilized brewery wastewater. The microalgae growth rate was monitored within 16 days. The results of the spectrophotometric measurements are summarized in figures 4 and 5.

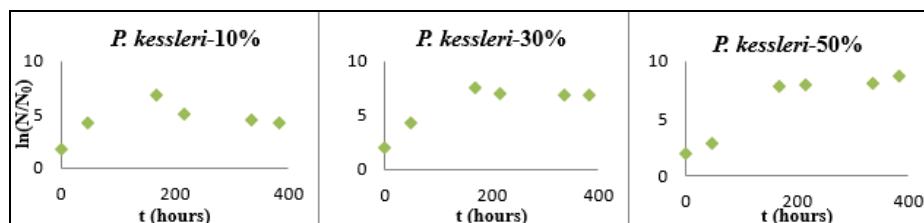


Fig.4. Effect of different inoculum volumes on *P. kessleri* growth in non-sterilized wastewater

According to the data obtained, the increasing of inoculum volume leads to suppression of the growth of external microflora and, as a consequence, to an increase in the growth rate of microalgae.

The analysis of the results showed that for *P. kessleri* the best results were obtained in the experiment with 50 % v/v of added inoculum. In the case of adding 30 % v/v of inoculum quite good results were also observed. In the stationary phase of the growth of *P. kessleri* showed almost the same growth rate as with 50 % inoculum.

Similar results were obtained in the experiments with *Ch. vulgaris* (fig. 5), where once again the experimental data show that the larger the volume of inoculate, the more efficient the growth of microalgae, and consequently, the treatment of wastewater.

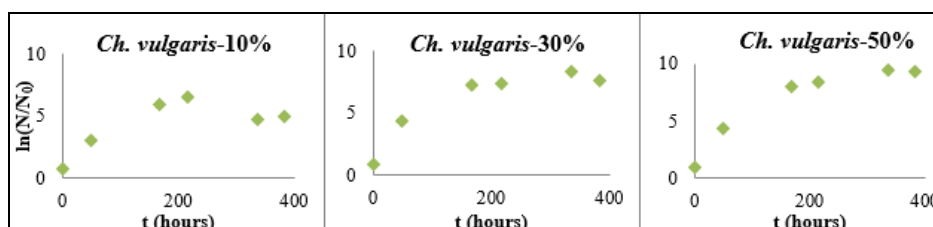


Fig.5. Effect of different inoculum volumes on *Ch. vulgaris* growth in non-sterilized wastewater

The main goal of this investigation was to determine the potential of brewery wastewater as a substrate for algal biomass production, and therefore the potential for algal fatty acid production. Based on our results, the best media for algal growth was sterilized synthetic Tamiya's nutrient medium, so it was expected to have the highest fatty acid content in this medium. In this chemically defined nutrient medium different types of fatty acids were detected using gas chromatography: lauric, myristic, palmitic, stearic, oleic and linoleic fatty acids. The most abundant fatty acids were palmitic acid (25 %) and linoleic acid (18 %).

In the case of *P. kessleri* cultivation in both sterilized and non-sterilized wastewater, the total amount of fatty acids was significantly lower which was in correlation with spectrophotometric measurements. However, palmitic acid in these

samples was also the most abundant (50 %). In the case of sterilized wastewater oleic acid (10 %), linoleic acid (30,9 %) and stearic fatty acid (9,1 %) were also determined.

The analysis of these results once again shows that the obtained high OD values are probably the result of growth of accompanying microflora.

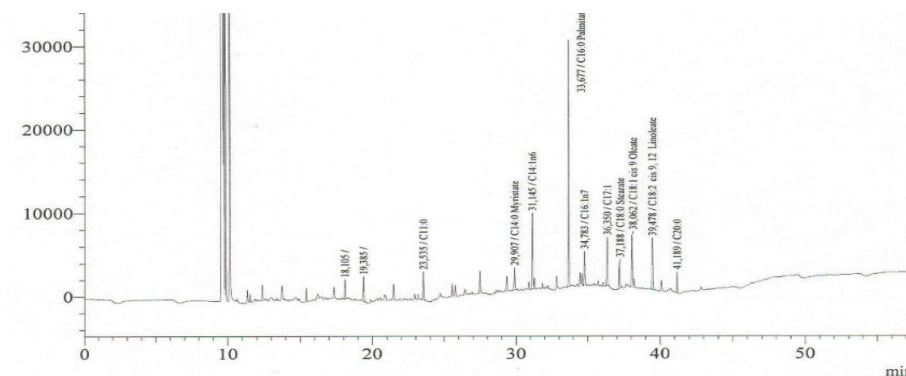


Fig.6. Chromatogramm of *P. kessleri* microalgae biomass fatty acid composition (non-sterilized wastewater, 50% inoculum)

The total amount of produced fatty acids was less in the case of *Chlorella vulgaris* compared to *P. kessleri*. The highest concentrations of fatty acids found in cultivated in Tamiya's nutrient medium samples. There were palmitic, oleic and linoleic acids, with 58.8 %; 14.7 % and 26.5 % concentrations, respectively. Similar results concerning the composition of fatty acids were also obtained in the case of cultivation in sterilized brewery wastewater. The only difference was the detected concentration of stearic fatty acid with 10.5 % in total fatty acid content. The obtained results are also in a correlation with spectrophotometric data. The lowest amount of produced fatty acids was observed in the experiment with non-sterilized wastewater: only two fatty acids were detected with very low concentrations.

Regarding the studying of the fatty acid composition of biomass obtained in different volumes of inoculum, it turned out that in the case of 30% inoculum *Ch. vulgaris* was a better fatty acid producer than *P. kessleri* (palmitic acid: 77.5 %, oleic acid: 9.1 %, stearic acid: 8.3 % and linoleic acid: 5,1 %). At the same time in the case of 50 % of inoculum *P. kessleri* was a better fatty acid producer than *Ch. vulgaris* (the contents of myristinic and stearic acids were almost equal, linoleic acid was found only in biomass of *P. kessleri*, and in both samples palmitic acid was predominant).

Based on the results of this research, it can be concluded that both: the chemically defined nutrient medium and brewery wastewater are good media for microalgae growth, and therefore are valuable substrates for the production of fatty acids. The obtained results of research have shown that even non-sterilized media can be used for the cultivation of microalgae but a larger volume of inoculum should be used. These results suggest that sterilization step may be skipped and therefore it could reduce the energy requirement of the bioprocess.

Acknowledgment

This work was carried out within the frames of Grant Project 19YR-1F051 (Science Committee of the RA MoESCS).

REFERENCES

1. Ջալալթարյան Ն.Զ. *Parachlorella kessleri* կանաչ միաբջջիջ ջրիմուռի որոշ արտադրողական հատկությունների բնութագրումը: Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 70, 4, էջ 90-96, 2018:
2. Apt K.E., Behrens P.W. *Commercial developments in microalgal biotechnology*. Journal of Phycology, 35, p.215-226, 1999.
3. Becker E.W. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press., 293 p., 1994.
4. Bligh E.G., Dyer W.J. *A rapid method of total lipid extraction and purification*. Can. Journal of Biochemistry and Physiology, 37, p. 911-917, 1959.
5. Cheng D.L., Ngo H.H., Guo W.S., Chang S.W., Nguyen D.D., Kumar S.M. *Microalgae biomass from swine wastewater and its conversion to bioenergy*. Bioresource Technology, 275, p. 109-122, 2019.
6. Fernandes B., Teixeira J., Dragone G., Vicente A.A., Kawano S., Bišová K., Přibyl P., Zachleder V., Vítová M. *Relationship between starch and lipid accumulation induced by nutrient depletion and replenishment in the microalga Parachlorella kessleri*. Bioresource Technology, 144, p. 268-274, 2013.
7. Gabrielyan L., Hakobyan L., Trchounian A. *Characterization of light-dependent hydrogen production by new green microalga Parachlorella kessleri in various conditions*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 175, p. 207-210, 2017.
8. Hoang N., Huu H., Wenshan G., Thi Minh H., Yiwen L., Yi L., Dinh D., Soon W. *A critical review on designs and applications of microalgae-based photobioreactors for pollutants treatment*. Science of The Total Environment, 651, part 1, p. 1549-1568, 2019.
9. Jabeena A., Reedera B., Svistunenkoa D., Hisaindeeb S., Ashrafb S., Al-Zuhairc S., Battaha S. *Effect of the Photodynamic Therapy Applications with Potent Microalgae Constituents on Several Types of Tumor*. IRBM, 40, Iss. 1, p. 51-61, 2019.
10. Jain D., Ghonse S.S., Trivedi T., Fernandes G.L., Menezes L.D., Damare S.R., Mamatha S.S., Kumar S., Gupta V. *CO₂ fixation and production of biodiesel by Chlorella vulgaris NIOCCV under mixotrophic cultivation*, Bioresource Technology, 273, p. 672-676, 2019.
11. Ji X., Li H., Zhang J., Saiyin H., Zheng Z. *The collaborative effect of Chlorella vulgaris-Bacillus licheniformis consortia on the treatment of municipal water*. Journal of Hazardous Materials, 365, p. 483-493, 2019.
12. Laliberte G., Proulx D., Niels De Pauw, J. De La Noue. *Algal technology in waste water treatment*. Chapt. 11, "Algae and water pollution", Rai L.C., Gaur J.P., Soeder C.J. (Eds.), E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nagele u. Obermiller), Stuttgart, p. 283-302, 1994.
13. Oswald W.J. *Micro-algae and wastewater treatment*. "Micro-algal Biotechnology", Borowitzka M.A., Borowitzka L.J. (Eds.), Cambridge University Press, p. 305-328, 1988.
14. Rizwana M., Mujtabab G., Memonc Sh., Leed K., Rashide N. *Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 92, p. 394-404, 2018.
15. Safi C., Zebib B., Merah O., Pontalier P.Y., Vaca-Garcia C. *Morphology, composition, production, processing and applications of Chlorella vulgaris: A review*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 35, p. 265-278, 2014.
16. Santos F.M., Pires J.C.M. *Nutrient recovery from wastewaters by microalgae and its potential application as bio-char*. Bioresource Technology, 267, p. 725-731, 2018.
17. Tomokazu Y., Konosua E., Takeshitaa T., Hirataa A., Shuhei O., Kazamae Y., Abee T., Kawanoa Sh. *Independent regulation of the lipid and starch synthesis pathways by sulfate metabolites in the green microalga Parachlorella kessleri under sulfur starvation conditions*. Algal research, 36, p. 37-47, 2018.
18. Udaiyappan A., Hasan H., Takri M., Abdullaha S. *A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment*. Journal of Water Process Engineering, 20, p. 8-21, 2017.

Received on 02.11.2020



Biolog. Journal of Armenia, 4 (72), 2020

CHANGES OF ATPASE ACTIVITY AND LIPID PEROXIDATION IN CONDITIONS OF LONG-TERM HYPOKINESIA

A.A. SHIRVANYAN, H.M. KARAPETYAN, A.H. TRCHOUNIAN

Department of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology, Faculty of Biology, Yerevan State University
anahit.shirvanyan@ysumail.am, hkarapetyan@ysu.am, Trchounian@ysu.am

The aim of this work was to investigate the dynamics changes in mitochondrial ATPase's activity and in lipid peroxidation in conditions of 30-day hypokinesia. It was shown that maximum lipid peroxidation level was observed in the kidneys and brain in the 20th day of stress, exceeding the norm by 20.87 % and 75.2 %, respectively. The maximum activity of Mg^{2+} -dependent proton F_0F_1 -ATPase of mitochondria was promoted in the liver of rabbit after 20-day of stressful effect by 48.8 % compared to unstressed animals. Thus, the analysis of the nature of changes in the lipid peroxidation processes and in the activity of mitochondrial ATPase can be the basis for identifying pathological processes caused by hypokinesia and for creating various means to prevent them.

Hypokinesia – malonic dialdehyde – lipid peroxidation – the F_0F_1 -ATPase

30-օրյա հիպոկինեզիայի պայմաններում ուսումնասիրվել է միտոքոնդրիումային ԱՖՖազի ակտիվության և լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացների փոփոխությունների օրինաչափությունների բնույթը: Ցույց է տրվել, որ լիպիդների գերօքսիդացման առավելագույն մակարդակ դիտվում է ճագարի երիկամներում և ուղեղում սթրեսի 20-օրյա ազդեցության դեպքում՝ նորման գերազանցելով համապատասխանաբար 20.87 % և 75.2 %-ով: Միտոքոնդրիումային Mg^{2+} -կախյալ պրոտոնային F_0F_1 -ԱՖՖազի ակտիվության առավելագույն խթանում բնականոն պայման-ների համեմատությամբ դիտվում է սթրեսի ազդեցության 20-րդ օրը ճագարի լյարդում՝ 48.8 %-ով:

Լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացների և միտոքոնդրիումային ԱՖՖազի ակտիվության փոփոխությունների բնույթի վերլուծությունը կարող է հիմք հանդիսանալ հիպոկինեզիայով պայմանավորված ախտաբանական գործընթացների բացահայտման և դրանց կանխարգելման ուղղությամբ տարաբնույթ միջոցների ստեղծման համար:

Սակավաշարժություն – մալոնային երկալդեհիդ – լիպիդների գերօքսիդացում – F_0F_1 -ԱՖՖազ

Изучен характер изменений процессов перекисного окисления липидов и активности митохондриальной АТФазы в условиях 30-дневной гипокинезии. Показано, что максимальный уровень перекисного окисления липидов наблюдается в почках и в мозге при 20-дневном стрессе, превышая норму на 20,87 % и 75,2 % соответственно. Максимальная стимуляция активности Mg^{2+} -зависимой митохондриальной F_0F_1 -АТФазы по сравнению с нормой наблюдается в печени кролика на 48,8 %. Таким образом, анализ характера изменений процессов перекисного окисления липидов и активности митохондриальной АТФазы может служить основой для выявления патологических процессов, обусловленных гипокинезией, и создания в дальнейшем различных предотвращающих средств.

Гипокинезия – малоновый диальдегид – перекисное окисление липидов – F_0F_1 -АТФаза

For organisms normal functioning, motoric activity is required, which enhances the production of energy, supplying the organism with oxygen, has a beneficial effect on the normal course of the physiological functions. Deficient motor activity causes stress reactions. Stress is a biochemical, physiological and mental specific reaction of body to the effects of various factors that cause tension in functions and ensure the mobilization and homeostasis of the body for adaptation to the different conditions [11]. Currently, one of the urgent tasks of medical physiology is the study of tissues and organs responses to these conditions, including changes in protein's, carbohydrate's and lipid's metabolism.

The fastest response to various stressful conditions is the activation of lipid peroxidation, the main substrates of which are lipoproteins and polyunsaturated fatty acids that are part of the cell membrane. In result of this the modification and inactivation of membrane enzymes as well as the increasing of membrane's ion-penetration and disturbance of the lipid bilayer stability can happen [5].

During stress the body, at first, strives to provide the tissues, especially nervous, with energy, so that is why researchers are interested in studying the body energy-ensure substrates and systems. In aerobic conditions, the main metabolic pathway of ATP synthesis is the oxidative phosphorylation, the final reaction of which catalyzes by the F_0F_1 -ATP synthase (3.6.1.4). It is one of the most common cell membrane enzymes, widely detected in the biological world, including microbe cell membranes, the inner membrane of the mitochondria in animals and in the thylakoids of chloroplasts in plants. Enzyme catalyzes the synthesis of the ATP from adenosine diphosphate (ADP) and inorganic phosphorus using the electrochemical potential of membrane. When the electrochemical potential is insufficient, the enzyme may act in the opposite direction: to hydrolize the ATP and transfer the proton through the membrane by the released energy [2].

Different diseases may bring structural and functional changes of the F_0F_1 -ATP synthase. [4,8,10,12,13,15,16]. In the available literature studied, we did not meet discussions about the effect of prolonged hypokinesia on rabbits. Prolonged hypokinesia causes a range of violations affecting almost all body systems. In the medical literature resulting changes are defined as "hypokinetic disease" [14].

Therefore of this work was to investigate the dynamics changes of mitochondrial ATPase activity in organs and lipid peroxidation under conditions of 30-day hypokinesia.

Materials and methods. The experimental protocol was made according to the norms established by the National Committee of Bioethics (Armenia), as well as the recommendations of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, 2 December 2005). The experimental animals had the same gender (male) and weight (2.5 kg) *Oryctolagus cuniculus domesticus* rabbits, which were in the same conditions of nutrition and care during experiments. For limitation of mobility they have been kept in the experimental boxes during 22 h daily, for 30 days. After 10, 20 and 30 days of stress influence the animals were decapitated and the malonic dialdehyde (lipid peroxidation product) content and ATPase activity were determined in the liver, kidneys, heart and brain.

Malonic dialdehyde amount was determined by the spectrophotometric method [9].

ATPase activity was determined by increasing of inorganic phosphorus in the incubation medium by the method of Taussky and Shorr using a spectrophotometer Genesis 10s UV-VIS, as described [1]. Mitochondrias were isolated by the method [3]. Isolated mitochondria's were treated with the inhibitor 0.2 mM *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide for 10 min, which almost completely inhibited ATPase activity, thus confirming the presence of the F_0F_1 -ATP synthase [1].

Protein content determination was made by the method of Lowry [1].

The obtained data were subjected to statistical analysis with the computer program "BIOSTAT". Trust was determined by the "t" criterion of Student.

Results and Discussion. One of the risk factors for development of pathological processes in the body is hypokinesia, which suppresses the adaptive capabilities of organism and changes its responses to various extreme factors. The adaptation of organism largely depends from energy metabolism and synthesis of macroergic compounds.

In stress conditions as energetic substrates fatty acids and lipids can also be used, including the polyunsaturated fatty acids contained in the membranes, so that is why in stress conditions it is particularly important to study the lipid peroxidation. Taking this into account, the aim of this work was to study the nature of changes in the amount of the final product of lipid peroxidation-malondialdehyde (MDA) during hypokinesia. Obtained data are presented in fig. 1.

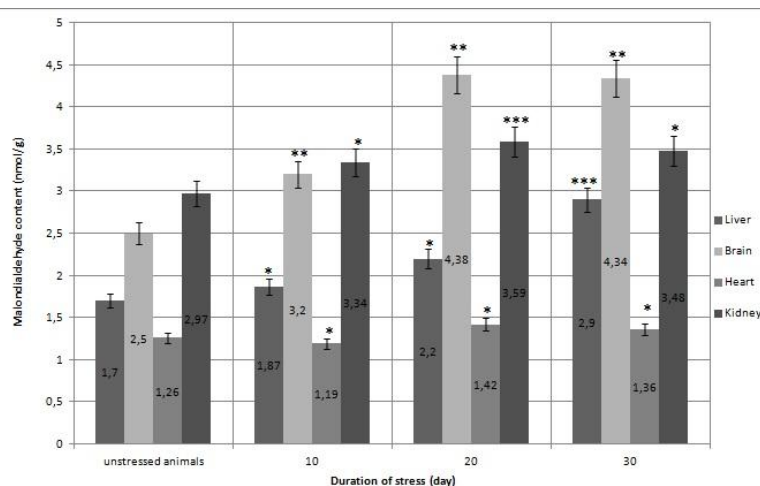


Fig.1. Malonic dialdehyde content (nmol/g) in the various organs of rabbits in conditions of prolonged hypokinesia (n=3, *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 -is for difference between the data of the serie and those of unstressed animals)

Studies have shown that lipid peroxidation in the liver is gradually activated with an increase of stress duration: in the 10th, 20th and 30th days of hypokinesia it exceeds the norm by 10 %, 29.4 % and 70.58 % respectively. Significant changes in lipid peroxidation in the heart were not observed, only after 20-day stressful effect it increased by 12.7 % compared with the norm. The maximum lipid peroxidation level was observed in the kidneys and brain in the 20th day of stress, exceeding the norm by 20.87 % and 75.2 %, respectively. Further increase of stressful effect led to decrease of malondialdehyde content, which probably confirms the emergence of adaptation mechanisms, which was also shown in literature [7]. Hypokinesia causes oxidative stress - the inbalance between processes of lipid peroxidation and antioxidant system in the body, and thus becomes the cause of the formation of various structural and functional disorders in different organs [15], which is associated with the need of prevention and correction of stress reactions [11].

For implementation a wide range of such endergonic reactions, a large amount of ATP is required. This requirement may increase in stressful conditions. Therefore we studied the effect of 30-day hypokinesia in mitochondrial ATP-synthase activity in the liver, heart, kidney, and brain of rabbit. The results are presented in tab. 1.

Table 1. The activity of ATPase ($\mu\text{mol P}_{\text{in}}/\text{s}$ in g protein) of mitochondria in the various organs of rabbit in condition of long-term hypokinesia

The studied organ	The activity of ATPase			
	Unstressed animals	10-day stress	20-day stress	30-day stress
Liver	6.24± 0.31	8.28± 0.41 p* <0.01	9.29± 0.46 p<0.05	5.35± 0.26 p>0.5
Brain	1.94± 0.09	2.32± 0.11 p<0.01	2.7± 0.13 p<0.05	2.83± 0.14 p<0.05
Heart	5.46±0.27	6.52±0.32 p<0.05	7.75±0.38 p<0.01	6.34± 0.31 p<0.05
Kidney	4.38±0.21	5.36±0.26 p<0.05	7.7±0.38 p<0.01	2.14± 0.1 p<0.01

*p is for difference between the data of the serie and those of unstressed animals (n=3)

Data analysis showed that in long-term hypokinesia the directed changes in the activity of membrane - bound enzymes in the rabbit organs are different. Thus, after 10 and 20 days of stress in the liver, the Mg^{2+} -dependent F_0F_1 -ATPase activity increases by 32.7 % and 48.8 %, respectively, and in the 30th day it decreases by 14.2 % compared with unstressed animals. ATPase activity in the brain gradually increases with increasing duration of stress so that in the 10th, 20th and 30th days it exceeds the norm by 19.6 %, 39.2 % and 45.8 %, respectively. Changes in ATPase activity in the heart and kidneys are similar to changes in the liver. The maximum ATPase activity was observed in the kidneys and heart after 20-day stress effect, respectively, exceeding the normal level by 75.8 % and 41.9 %.

In the studied organs, the activation of ATPase in the 10th and 20th days of stressful effects can probably be explained, on the one hand, by the features of the respiratory chain in different organs and, on the other hand, by not uniformly using of free fatty acids as energy substrates. In the studied organs a similar change in ATPase activity in 20 days of stress was associated with the activation of enzymes phospholipase, lipase and lipid peroxidation due to the limitation of mobility, what in turn changes the lipid circles of membrane enzymes, especially changes in the activity of ATPase. During prolonged hypokinesia observed enzyme activity's reduction in the liver can be explained by a decrease in the protein content in mitochondria [13]. Mounting evidence has revealed that mitochondria become damaged and dysfunctional during prolonged hypokinesia of muscles, and this mitochondrial dysfunction is a causal event in the initiation of muscle-inactivity induced atrophy [6].

However, the specific mechanisms employed by dysfunctional mitochondria that enact disease have yet to be fully elucidated.

During stress, lipid peroxidation processes in rabbit kidney, liver and brain are gradually activated. In long-term hypokinesia, in the mitochondriums of different organs the dynamic changes in the F_0F_1 -ATPase activity have stepwise character and are evidence of mitochondrial functional disorders, and hence changes in cells energy exchange.

Analyzing the patterns of lipid peroxidation and the change in activity of the mitochondrial ATPase, we can conclude that enzyme activity's changes are probably due to the reduction of amount of the fatty acids present in the membrane due to lipid peroxidation, which can lead to structural changes in mitochondria. Elucidation of the nature of changes in enzyme activity influenced by various factors can become the basis for the creation of new therapeutic agents for the treatment of diseases caused by reactive oxygen species.

REFERENCES

1. Blbulyan, 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*, 2015, 579, 67-72.
2. Bonora M., Wieckowski M., Chinopoulos C., Kepp O., Kroemer G., Galluzzi L. and Pinton P. Molecular mechanisms of cell death: central implication of ATP synthase in mitochondrial permeability transition. *Oncogene*, 34, 1475-1486, 2014.
3. Frezza, C., Cipolat, S., & Scorrano, L. Organelle isolation: functional mitochondria from mouse liver, muscle and cultured fibroblasts. *Nature protocols*, 2, 2, 287, 2007.
4. Gauba E., Guo L. and Du H. Cyclophilin D promotes brain mitochondrial F_0F_1 -ATP synthase dysfunction in aging mice. *Journal of Alzheimer's Disease*, 16, 1-12, 2016.
5. Gelpi R.J., Boveris, A., & Poderoso, J.J. *Biochemistry of Oxidative Stress*. Springer International Pu., Argentina, p. 9-45, 2017.
6. Hyatt H., Deminice, R., Yoshihara, T., & Powers, S.K. Mitochondrial dysfunction induces muscle atrophy during prolonged inactivity: A review of the causes and effects. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 662, 49-60, 2019.
7. Juravlyova O. A., Markin A.A., Kuzichkin D.S., Loginov V.I., Zabolotskaya, I.V., & Vostrikova L.V. Dynamics of oxidation stress markers during long-term antiorthostatic hypokinesia: A retrospective study. *Human Physiology*, 42, 1, p.79-83, 2016.
8. Kim Y., Konno H., Sugano Y., Hisabori T. Redox regulation of rotation of the cyanobacterial F_1 -ATPase containing thiol regulation switch. *Journal of Biological Chemistry*, 286, 9071-9078, 2011.
9. Ljubuncic P., Z. Tanne, and A. Bomzon. Evidence of a systemic phenomenon for oxidative stress in cholestatic liver disease. *Gut*, 47, 5, 710-716, 2000.
10. Rasmø D., Micelli L., Santeramo A., Signorile A., Lattanzi P., Papa S. cAMP regulates the functional activity, coupling efficiency and structural organization of mammalian F_0F_1 -ATP synthase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1857, 350-358, 2016.
11. Sies H., Berndt C. and Jones P. Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86, 715-748, 2017.
12. Tangvarasittichai S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes* 6, 3, 456-480, 2015.
13. Terni B., Boada J., Portero-Otin M., Pamplona R., Ferrer I. Mitochondrial ATP-synthase in the entorhinal cortex is a target of oxidative stress at stages I/II of Alzheimer's disease pathology. *Brain Pathology*, 20, 222-233, 2010.
14. Ulugbekova, G., Ubaydullaev, R., Zulfizar, U., Rokhatoy, K., & Diloram, R. Secretion of enzymes by the salivary glands and homeostasis of enzymes in various ambient temperature. *Journal of Critical Reviews*, 13, 7, 494-497, 2020.
15. Vasilaki A., Millan D. Lipid Peroxidation. *Encyclopedia of Cancer*, L-3373, p. 1968-1991, 2017.
16. Wang Sh., Foster D., Rucker J., O'Rourke B., Kass D., Van Eyk J. Redox regulation of mitochondrial ATP synthase; Implications for cardiac resynchronization therapy. *Circulation Research*, 109, 750-757, 2011.

Received on 04.11.2020



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4 (72), 2020

ԾԱՌԱԲՈՒՅՍԵՐԻ ՊԱՐՏԻՉԱՅԻՆ ՁԵՎԵՐԻ ԲԱԶՄԱՑՄԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱԳԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԵՐԵՎԱՆԻ ԲՈՒՄԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱՅԳՈՒ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Մ.Մ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ

ՀՀ ԳԱՄ Ա. Թախտաջյանի անվ. բուսաբանության ինստիտուտ
manikg@mail.ru

Ներմուծված բարձր գեղագարդ ծառաբույսերի պարտիզային ձևերի բազմացմանը նվիրված նպատակային ուսումնասիրություններ են իրականացվել Երևանի բուսաբանական այգու պայմաններում՝ դրանց հավաքածուն համալրելու և հարստացնելու նպատակով:

Բացահայտվել է, որ պարտիզային ձևերի բազմացումն ավելի արդյունավետ է կտրոնավորման դեպքում, որի ժամանակ դրանց արմատակալումը տատանվում է 60-90% -ի սահմաններում: Սերմերով բազմացնելիս 65 անուն պարտիզային ձևերից 27-ը ծլունակ չեն եղել, իսկ մնացած 38-ի ծլունակության ցուցանիշը տատանվում է ավելի լայն ամպլիտուդայով՝ 10-90%:

Ծառաբույս – պարտիզային ձև – բազմացում – պատվաստ – հարմարվողականություն

Проведены целенаправленные исследования, посвященные особенностям размножения садовых интродуцированных древесных растений в условиях Ереванского ботанического сада с целью пополнения их коллекции.

Выявлено, что наиболее эффективным способом размножения садовых форм – черенкование, при котором укоренение колеблется в пределах 60-90 %. При семенном размножении 27 из 65-ти наименований были невосхожими, а у 38 представителей показатели всхожести колебались в широких пределах — 10-90 %.

Древесные растения – садовая форма – размножение – прививка приспособляемость

The targeted research of breeding of high ornamental garden forms of woody plants in conditions of Yerevan Botanical Garden in order to supplement their collection were carried out.

It was found that propagation by cutting is the most effective method of breeding for garden forms, during which the rooting of cuttings fluctuates in the range of 60-90 %. In case of seed reproduction 27 from 65 garden forms were not germinated, and the index of germination with the remaining 38 fluctuates in very wide range – 10-90 %.

Woody plants – garden form – breeding – graft – adaptability

Ներմուծման աշխատանքների կարևոր գործառույթներից է բույսերի աճման ու զարգացման առանձնահատկությունների ուսումնասիրությունը գոյության նոր պայմաններում՝ նպաստելու դրանց պահպանությանն ու վերարտադրությանը:

Կան ծառաբույսեր, որոնք չեն պտղաբերում, տալիս են ոչ լիարժեք սերմեր, ուչ են մտնում պտղաբերման շրջան, բնութագրվում են սերմերի վատ ծլունակությամբ կամ

անպտուղ են, ունեն սերմերի հանգստի երկարատև ժամանակահատված, ներմուծման արդյունքում ձեռք են բերել նոր արժեքավոր հատկանիշներ, մայր բույսեր, որոնցից կա միայն մեկ օրինակ կամ միասեռ են, նաև պարտիզային ձևեր, որոնց մոտ շատ հաճախ սերմնային բազմացման ժամանակ դիտվում է ճեղքում: Ներմուծման և կլիմայավարժեցման ժամանակ վերը թվարկված բույսերի բազմացումն այլևս խնդիր չէ: Այդ տեսակները շատ հեշտությամբ կարելի է բազմացնել վեգետատիվ եղանակով [9]:

Պարտիզային ձևերն իրենց մորֆոլոգիական առանձնահատկությունների (պսակի, տերևների, ծաղիկների և պտուղների կառուցվածքով, ձևով, չափերով, գույնով և այլն) շնորհիվ մեծ պահանջարկ և կիրառություն ունեն ներկայիս կանաչապատ աշխատանքներում:

Երևանի բուսաբանական այգում, սկսած 1980-ական թվականներից, ծառաբույսերի ներմուծման և էքսպոզիցիոն դենդրոհավաքածուների ստեղծմանը զուգահեռ նպատակային ուսումնասիրություններ են կատարվել նաև պարտիզային ձևերի կենսաէկոլոգիական առանձնահատկությունների և բազմացման հնարավորությունների բացահայտման ուղղությամբ [4, 5, 8]: Արդյունքում պարզվել է, որ պարտիզային ձևերը որպես կանոն բազմանում են վեգետատիվ ճանապարհով (պատվաստ, կտրոնավորում և անղալիս)՝ *Robinia pseudoacacia* "Compacta", *Saphora japonica* "Pendula", *Acer platanoides* "Globosa", *Ulmus foliaca* "Globosa": Դրանց ճնշող մեծամասնությունը (*Robinia pseudoacacia* "Compacta", *Acer palmatum* "Globosa") սովորաբար սերմեր չեն առաջացնում, կամ էլ առաջացած սերմերը կենսունակ չեն (*Picea pungens* "Argentata", *Viburnum opulus* "Roseum", *Thuja occidentalis* "Globosa", *Quercus robur* "Pendula"): Հազվադեպ են սերմերով բազմացող պարտիզային ձևերը (*Cupressus sempervirens* "Stricta", *Quercus robur* "Pyramidalis", *Robinia pseudoacacia* "Pyramidiformis"): Բազմամյա ուսումնասիրություններով բացահայտվել է նաև, որ պարտիզային ձևերի սերմերով բազմացման դեպքում ճեղքում է տեղի ունենում, որի արդյունքում չեն պահպանվում պարտիզային ձևին բնորոշ հատկանիշները: Օրինակ, Թխկի հացենատերև դեղնախայտաբղետի (*Acer negundo* "Aureo-variegata") մոտ սերմերի 90%-ը փուչ են կամ ոչ կենսունակ: Սերմերի ծիլերի 10 %-ն ունեն դեղին կամ կանաչ շաբլիներ: Ծիլերի դեղին շաբլիները որպես կանոն մահանում են, իսկ կանաչներն էլ եթե աճում են, ապա դեղին բծերը բացակայում են: Թխկի կեղծ-սոսիատերև Լեոպոլդի (*Acer pseudoplatanus* "Leopoldii") սերմերի որոշ մասը պահպանում են խայտաբղետությունը, սակայն այս դեպքում էլ աճն է շատ դանդաղ ընթանում [2]:

Կտրոնների արմատակալման արագության վրա ազդող հիմնական գործոններն են՝ կտրոնավորման ժամկետները, մայր բույսի սեռը, միկրոկլիմայական պայմանները, հողային կազմը: Վերը նշված գործոնների ազդեցության համապարփակ ուսումնասիրության արդյունքում, բույսերի ներմուծման հետ կապված չի տալիս հարցերի լուծում մեծապես պարզեցված է:

Նյութ և մեթոդ: Մայր տեսակների համեմատությամբ պարտիզային ձևերն առատ չեն ծաղկում և պտղաբերում, որոշ մասը նույնիսկ պտուղներ չի տալիս: Լիաթերթ ծաղիկներ ունեցող պարտիզային ձևերը, որպես կանոն, սերմեր չեն առաջացնում (սզևի, դեյցիա, սրնգենի, եղրևանի), իսկ գնդաձև սաղարթ ունեցողների մոտ, եթե անգամ սերմատվություն տեղի է ունենում, ապա դրանք կենսունակ չեն լինում (թխկի, թեղի, ռոբինիա կեղծակաղի, սոճի), [1]: Այդ պատճառով էլ հիմնականում բազմանում են վեգետատիվ եղանակով՝ կտրոնավորում և պատվաստ (աչքապատվաստ և կտրոնապատվաստ):

Մեր ուսումնասիրություններում վեգետատիվ բազմացման աշխատանքներ իրականացնելու համար ելակյութ են ծառայել Երևանի բուսաբանական այգու էկոլոգաաշխարհագրական հողամասերից և հարակից կանաչ տարածքներից վերցված գեղազարդ պարտիզային ձևերի կտրոնները և պատվաստի համար անհրաժեշտ պատվաստանյութը: Սերմնային բազմացման համար որպես հումք օգտագործվել են արտերկրից (Գերմանիա, Վրաստան, Միչիգան, Հունգարիա, Լատվիա, Ռուսաստան և այլն) սերմերի փոխանակման ցուցակների միջոցով ստացված և Երևանի բուսաբանական այգուց հավաքված սերմերը:

Կտրոնավորման համար ելակյութ են հետևյալ պարտիզային ձևերը՝ Գիիի չինական խայտաբղետ (*Juniperus chinensis* "Variegata"), Գ. սովորական իռլանդական (*J. communis* "Hibernica"), Գ. կազակական տոճիատերև (*J. sabina* "Cupressifolia"), Թույա արևմտյան բրգաձև (*Thuja occidentalis*)

"Fastigiata"), Կենսածառ արևելյան գնդաձև (*Biota orientalis* "Globosa"), Կծոխուր սովորական կարմրատերև (*Berberis vulgaris* "Atropurpurea"), Կտտկենի սև սպիտակախայտաբղետ (*Sambucus nigra* "Albo-variegata"), Կտտկենի սև կտրտված տերևավոր (*Sambucus nigra* "Laciniata"), Իլենի ճապոնական դեղնախայտաբղետ (*Euonymus japonica* "Aureo-variegata"), Ճապկի սպիտակ սպիտակախայտաբղետ (*Cornus alba* "Argenteo-marginata") և այլն:

Պատվաստման աշխատանքներ կատարվել են հետևյալ ծառաբույսերի մոտ՝ Կարագանա ծառանման լացող (*Caragana arborescens* "pendula"), Ռոբինիա կեղծակաղիա գնդաձև (*Robinia pseudoacacia* "compacta"), Սզնի միավարսանդ վարդագույն լիթերթ (*Crataegus monogyna* "Flore rosea-plena"), Թթենա սպիտակ լացող (*Morus alba* "Pendula"):

Սերմերով բազմացման փորձերը կատարվել են հետևյալ պարտիզային ձևերի մոտ՝ Թույա արևմտյան լացող (*Thuja occidentalis* "Pendula"), Թ. արևմտյան թելանման (*Thuja occidentalis* "Filiformis"), Կենի հատապտղային Նրբագեղ (*Taxus baccata* "Elegantissima"), Կ. հատապտղային բրդաձև (*T. baccata* "Fastigiata"), Դեյցիա խորդուբորդ վարդագույն մազմուկապատ (*Deutsia scabra* "Plena"), Պիրականթա վառ կարմիր Նարնջագույն փայլուն (*Pyracantha coccinea* "Orange Glow"), Կծոխուր Տունբերգի Բեյբեթի (*Berberis thunbergii* "Babette"), Կ. Տունբերգի կանաչ գորգ (*B. thunbergii* "Grin Carpet"), Դրախտածառ սովորական կարմրավուն (*Cotinus coggygia* "Purpureus"), Բշտիկապտուղ բուլխատերև դեղնավուն (*Physocarpus opulifolius* "Luteus") և այլն:

Արդյունքներ և քննարկում: Ճառերի ու թփերի ճնշող մեծամասնությունը բազմանում է սերմերով: Այդ ճանապարհով ստեղծված տնկարկներն ավելի դիմացկուն են, երկարակյաց և կենսունակ:

Ծառաբույսերը մինչև հիմնական տնկարկում աճեցնելն անհրաժեշտ է նախօրոք բազմացնել հատուկ հողամասերում, մասնագիտացված տնտեսություններում, որտեղ առկա են կամ ստեղծված են բարենպաստ պայմաններ և ապահովում են բավարար ագրոտեխնիկական միջոցառումներ: Կանաչապատման պրակտիկայում, որպես կանոն օգտագործվում են տնկարանում աճեցված 2-5 (6) տարեկան, հազվադեպ նաև 6-10 (12) տարեկան տնկներ [3]:

Պարտիզային ձևերի մոտ խնդիրը բոլորովին այլ է, քանի որ այս դեպքում շատ քիչ տոկոսն է բազմանում սերմնային ճանապարհով, մեծամասամբ սերմերը ծլունակ չեն, շատերի մոտ էլ դիտվում է ճեղքում:

Ցանքսի աշխատանքները կատարվել են երկու ժամկետով՝ զարնանային (4-7/IV) և աշնանային (25-30/X): Ելնելով պարտիզային ձևերի առանձնահատկություններից սերմերի ցանքից մինչև ծլարձակում, (առաջին ծիլերի դուրս գալը) կարող է տևել մի քանի օրից մինչև մի քանի ամիս: Սերմերի ծլունակությունը պահպանվում է մինչև երկու տարի: Օրինակ, *Tillia platyphyllos* "Laciniata"-ի և ասեղնատերևավոր որոշ տեսակների մոտ սերմերը ծլել են երկրորդ տարում: Համեմատաբար բարձր ծլունակությամբ աչքի են ընկել հետևյալ պարտիզային ձևերը՝ *Thuja occidentalis* "Filiformis", *Berberis thunbergii* "Babette", *B. thunbergii* "Green Carpet", *Deutsia scabra* "Plena", *Pyracantha coccinea* "Orange Glow", *Hibiscus syriacus* "Monstrosus", *H. syriacus* "Totus-albus" և այլն, միջին ծլունակությամբ հետևյալները՝ *Thuja occidentalis* "Pendula", *Th. occidentalis* "Yellow Ribbon", *Taxus baccata* "Aureovarigata", *Juniperus communis* "Pendula", *Viburnum opulus* "Xantocarpum" և այլն: Իսկ ցածր ծլունակություն են ցուցաբերել հետևյալ պարտիզային ձևերը՝ *Thuja occidentalis* "Dumosa", *Taxus baccata* "Erecta Adpressa", *Chaenomeles speciosa* "Semperflorens", *Tillia platyphyllos* "Laciniata", *Pyracantha coccinea* "Soleil d'or", *Exochorda racemosa* "Grandiflora" և այլն: Չծլած սերմերի քանակը շատ ավելի մեծ է, քան վերը թվարկվածներինը (*Taxus baccata* "Elegantissima", *T. baccata* "Fastigiata", *Juniperus chinensis* "Monarch", *Thuja occidentalis* "Aureospicata", *Chaenomeles superba* "Nicoline", *Viburnum lantana* "Aurea", *V. opulus* "Variegatum" և այլն):

Ադ. 1-ից երևում է, որ պարտիզային ձևերի մեծ մասի ծլունակության տոկոսը ցածր է, շատերի սերմերը կենսունակ չեն:

Պարտիզային ձևերն ավելի արդյունավետ բազմանում են վեգետատիվ ճանապարհով՝ կտրոններով, պատվաստով: Վեգետատիվ բազմացման առավելությունն այն է, որ պահպանվում են մայր բույսի բոլոր գեղագարդ հատկանիշները, և ճեղքում տեղի չի ունենում:

Լայնատերևավորների զարնանային կտրոնները վերցվել են մայր բույսերի նախորդ տարվա ընձյուղից՝ հենց կտրոնավորման օրը, որոնցից կտրվել են 8-10 սմ երկարության կտրոններ՝ երկու, երեք հանգույցներով և տերևներով:

Աղյուսակ 1. Ներմուծված պարտիզային ձևերի սերմնային բազմացման արդյունքները

	Պարտիզային ձև	Սերմնային ձեռքբերման երկիրը	Ցանցի ժամկետը	% մշակութայինություն
Հ/Հ	1	2	3	4
1	<i>Acer platanoides "Stollii"</i>	Հունգարիա	4-7/IV	-
2	<i>Aesculus hippocastanum "Nana"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	10-20
3	<i>Alnus incana "Aurea"</i>	Ռուսաստան	4-7/IV	10-20
4	<i>A. incana "Gold Fountain"</i>	Սլովակիա	4-7/IV	10-20
5	<i>Berberis thunbergii "Babette"</i>	Լատվիա	4-7/IV	70-80
6	<i>B. thunbergii "Dart's Red Laddy"</i>	Էստոնիա	4-7/IV	10-20
7	<i>B. thunbergii "Green Carpet"</i>	Լատվիա	4-7/IV	80-90
8	<i>B. thunbergii "Orang Rocket"</i>	Լատվիա	4-7/IV	50-60
9	<i>B. thunbergii "Powwow"</i>	Լատվիա	4-7/IV	-
10	<i>Betula pendula "Oycoviensis"</i>	ԱՄՆ	4-7/IV	-
11	<i>Catalpa bignonioides "Aurea"</i>	Վրաստան	4-7/IV	-
12	<i>Chaenomeles speciosa "Semperflorens"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	10-20
13	<i>Ch. superba "Nicoline"</i>	Վրաստան	25-30/X	-
14	<i>Cotinus coggygria "Purpureus"</i>	Լիտվա	4-7/IV	10-20
15	<i>Crataegus monogyna "Variegata"</i>	Ռուսաստան	4-7/IV	-
16	<i>Deutsia scabra "Plena"</i>	Ռումինիա	4-7/IV	70-80
17	<i>D. scabra "Siboldi"</i>	Ռումինիա	4-7/IV	70-80
18	<i>Euonymus japonicus "Macrophyllus"</i>		25-30/X	-
19	<i>Exochorda racemosa "Grandiflora"</i>	Հոլանդիա	4-7/IV	10-20
20	<i>Forsythia intermedia "Beatrix Farrand"</i>	Լիտվա	4-7/IV	10-20
21	<i>F. intermedia "Helios"</i>	Լիտվա	4-7/IV	10-20
22	<i>F. intermedia "Karl Sax"</i>	Լիտվա	4-7/IV	10-20
23	<i>Hibiscus syriacus "Hamabo"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	20-30
24	<i>H. syriacus "Monstrosus"</i>	Ավստրիա	4-7/IV	70-80
25	<i>H. syriacus "Totus-albus"</i>	Ավստրիա	4-7/IV	70-80
26	<i>Ilex opaca "Bountiful"</i>	ԱՄՆ	4-7/IV	-
27	<i>Juniperus chinensis "Ketelerii"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	-
28	<i>J. chinensis "Ketelerii"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	-
29	<i>J. chinensis "Leeana"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	10-20
30	<i>J. chinensis "Monarch"</i>	Վրաստան	25-30/X	-
31	<i>J. communis "Pendula"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	40-50
32	<i>J. virginiana "Pseudocupressus"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	-
33	<i>J. virginiana "Glauc"</i>	Վրաստան	4-7/IV	-
34	<i>J. virginiana "Pseudocupressus"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	-
35	<i>Parthenocissus tricuspidata "Veitchii"</i>	ԱՄՆ	4-7/IV	-
36	<i>Physocarpus opulifolius "Diabolo"</i>	Ռուսաստան	4-7/IV	20-30
37	<i>Ph. opulifolius "Luteus"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	50-60
38	<i>Pyracantha coccinea "Orange Glow"</i>	Վրաստան	25-30/X	70-80
39	<i>P. coccinea "Soleil d'or"</i>	Վրաստան	25-30/X	10-20
40	<i>Rhododendron canadense "Alba"</i>	Լիտվա	4-7/IV	-
41	<i>Rh. caucasicum "Roseum"</i>	Լիտվա	4-7/IV	-
42	<i>Sambucus nigra "Laciniata Nana"</i>	Իտալիա	4-7/IV	10-20
43	<i>Taxus baccata "Elegantissima"</i>	Վրաստան	25-30/X	-
44	<i>T. baccata "Aureovariegata"</i>	Լատվիա	4-7/IV	40-50
45	<i>T. baccata "Erecta Adpressa"</i>	Լատվիա	4-7/IV	20-30
46	<i>T. baccata "Fastigiata"</i>	Վրաստան	25-30/X	-

Հ/Հ	1	2	3	4
47	<i>T. baccata "Imperialis"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	50-60
48	<i>T. baccata "Linearis"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	10-20
49	<i>T. baccata "Nissen's President"</i>	Լատվիա	4-7/IV	10-20
50	<i>T. baccata "Overeynderi"</i>	Հունգարիա	4-7/IV	10-20
51	<i>T. baccata "Semperaurea"</i>	Լատվիա	4-7/IV	20-30
52	<i>T. x media "Hicksii"</i>	Ռուսաստան	4-7/IV	-
53	<i>Thuja occidentalis "Filiformis"</i>	Լատվիա	4-7/IV	70-90
54	<i>Th. occidentalis "Dumosa"</i>	Լատվիա	4-7/IV	10-20
55	<i>Th. occidentalis "Malonyana"</i>	Ռուսաստան	4-7/IV	-
56	<i>Th. occidentalis "Pendula"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	50-60
57	<i>Th. occidentalis "Spiralis"</i>	Վրաստան	4-7/IV	-
58	<i>Th. occidentalis "Yellow Ribbon"</i>	Լատվիա	4-7/IV	40-50
59	<i>Tilia platyphyllos scop. "Laciniata"</i>	Գերմանիա	4-7/IV	30-40
60	<i>Ulmus parvifolia "Dynasty"</i>	ԱՄՆ	4-7/IV	-
61	<i>Viburnum carlesii "Compactum"</i>	ԱՄՆ	4-7/IV	-
62	<i>V. lantana "Aurea"</i>	Ռուսաստան	4-7/IV	-
63	<i>V. lantana "Variegatum"</i>	Ռուսաստան	4-7/IV	-
64	<i>V. opulus "Variegatum"</i>	Ռուսաստան	4-7/IV	-
65	<i>V. opulus "Xantocarpum"</i>	Լիտվա	4-7/IV	40-50

Ստորին մեկ կամ երկու տերևը հեռացվում է: Կտրոնավորումը կատարվել է վաղ գարնանը՝ մինչև բույսերի հյութաշարժը:

Անեղնատերևավորների կանաչ կտրոնները վերցվել են 2-3 տարեկան կողային ընձյուղներից: Դրանք կտրվել են ոչ թե մկրատի օգնությամբ, այլ ձեռքի՝ պոկելով այնպես, որ բնափայտի կեղևի մի փոքր մասն էլ հետը լինի:

Վերցված կտրոնների հյուսվածքների առավելագույն խոնավացման համար դրանց 1/2-1/3 մասը 18-24 ժամ տևողությամբ պահվել են ջրի կամ կալիումի պերմանգանատի բաց վարդագույն լուծույթի մեջ, որից հետո տեղափոխվել սառը միջավայր և պահվել խոնավ ավազի մեջ: Արմատային հյուսվածքների ձևավորվելուց հետո բուսակը տեղափոխվել է հողի մեջ [6]:

Առավել մեծ կիրառություն ունի ձմեռային կտրոնավորումը, որի ժամանակ օգտագործվում են միամյա (երկամյա), երբեմն նաև բազմամյա ընձյուղները (աղ. 2):

Որոշ պարտիզային ձևեր բազմացվել են պատվաստի միջոցով: Պատվաստի բազմաթիվ ձևերից մեր կողմից օգտագործվել է կտրոնապատվաստը: Պատվաստի ցանկացած մեթոդի կիրառման դեպքում ստացված արդյունքը հիմնականում պայմանավորված է պատվաստացուի և պատվաստակալի կենսաբանական առանձնահատկություններով, հասակով, մորֆոլոգիական կառուցվածքով, ֆիզիոլոգիական կազմով, ինչպես նաև այն նպատակով և խնդրով, որոնք մեր առջև դրել ենք: Կարող է մի դեպքում լինել շատ արդյունավետ, իսկ մեկ այլ դեպքում՝ ընդհակառակը: Օրինակ, պտղատու տեսակների դեպքում առավել տարածված և նպատակահարմար մեթոդ է աչքապատվաստը: Գեղազարդ լայնատերև ծառաբույսերի մեծամասնության հատկապես գնդաձև, հովանոցաձև, լացող, բրգաձև և այլ յուրահատուկ սաղարթի ձև ունեցողների դեպքում աչքապատվաստը, անկախ գոհացնող տոկոսից, դժվար թե կարելի է համարել արդյունավետ եղանակ:

Ներկայիս ժամանակներում պատվաստի արդյունավետության հնարավորությունը բարձրացնելու համար սկսել են օգտագործել ֆիզիոլոգիական ակտիվ նյութեր (ՖԱՆ), որոնք խթանում են վերականգնման գործընթացը, երբ ՖԱՆ-ը բժշկական ներարկիչի միջոցով ներարկվում է միաձուլման գոտի: Արագացնելով վերականգնման գործընթացը, որպես պատվաստացու հնարավոր է օգտագործել ոչ միայն մեկ բողբոջը, ինչպես աչքապատվաստի դեպքում, այլ նաև տարեկան ընձյուղի մի մասը՝ 2-4 բողբոջով, իսկ ճյուղապատվաստի դեպքում՝ ընձյուղն ամբողջությամբ կամ մայր բույսի երկու, երեք և ավելի տարեկան հատվածները [7]:

Աղյուսակ 2. Պարտիզային ձևերի փայտացած կտրոններով բազմացման արդյունքները

	Պարտիզային ձև	Սերմանյութի ձեռքբերման երկիրը	Ցանցի ժամկետը	Ծլունակությունը, %
Հ/Հ	1	2	3	4
8	<i>Berberis vulgaris</i> "Atropurpurea"	1	III- IV	70-80
7	<i>Biota orientalis</i> "Globosa"	2-3	IV-V	80-90
15	<i>Buxus sempervirens</i> "Aureo-variegata"	3-4	III- IV	70-80
Հ/Հ	1	2	3	4
16	<i>B. sempervirens</i> "Rotundifolia"	3-4	III- IV	60-70
11	<i>Cornus alba</i> "Argenteo-marginata"	1	III- IV	80-90
1	<i>Juniperus chinensis</i> "Variegata"	2-3	IV-V	80-90
2	<i>J. communis</i> "Hibernica"	2-3	IV-V	80-90
3	<i>J. sabina</i> "Cupressifolia"	2-3	IV-V	80-90
4	<i>J. sabina</i> "Spicata-aurea"	2-3	IV-V	80-90
9	<i>Sambucus nigra</i> "Albo-variegata"	1	III- IV	80-90
10	<i>S. nigra</i> "Laciniata"	1	III- IV	70-80
14	<i>Spiraea japonica</i> "Little Princess"	1	III- IV	80-90
5	<i>Thuja occidentalis</i> "Fastigiata"	2-3	IV-V	80-90
6	<i>Th. occidentalis</i> "Aurea"	2-3	IV-V	80-90
13	<i>Viburnum opulus</i> "Roseum"	1	III- IV	80-90
12	<i>Weigela florida</i> "Variegata"	1	III- IV	70-80

Որպես պատվաստանյութ օգտագործվել են ոչ մեծ չափի հանգստի շրջանում գտնվող կտրոններ՝ 1-5 բողբոջներով:

Կատարված փորձերի և ստացված արդյունքների հիման վրա կարելի է եզրակացնել, որ պարտիզային ձևերն ավելի արդյունավետ է բազմացնել վեգետատիվ ճանապարհով, քանի որ այդ դեպքում կտրոնների արմատակալումը բարձր է, տատանվում է 60-90 %-ի սահմաններում: Սերմերի ծլունակության ցուցանիշները շատ ավելի ցածր են՝ 10-90 %, շատ դեպքերում էլ բոլորովին բացակայում են:

Նոր գեղագարդ պարտիզային ձևերի ներմուծման, բազմացման աշխատանքները շարունակվում են, և ստացված նոր արդյունքները կամփոփվեն մեր հետագա աշխատանքներում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Գրիգորյան Արծ.Ա. Գեղագարդ պարտիզագործություն, ՀՊԱՀ, Երևան, 276 էջ, 2010:
2. Գրիգորյան Մ.Մ. Ծառաբույսերի պարտիզային ձևերը Հայաստանի բուսաբանական այգիներում և դենդրոպարկերում, ՏԲուսաբանական գիտությունը ժամանակակից աշխարհում» Երևան, էջ 291-295, 2015:
3. Վարդանյան Ժ.Հ. Ծառաբույսերի աճեցման և գեղագարդ տնկարկների ստեղծման առանձնահատկությունները Հայաստանում, Եր., 208 էջ, 2020:
4. Варданян Ж.А. Научные основы интродукции древесных растений в Армении. Ереван, 400 с., 2012.
5. Варданян Ж.А., Григорян А.А., Тарханян З.Т., Гишян Г.Г. Садовые формы древесных растений и перспективы их использования в зеленых насаждениях Еревана. Матер. межд. науч. конф. "Актуальные проблемы ботаники в Армении", Ереван, с. 344-348, 2008.

6. *Варданян Ж.А., Манасян Г.Г., Гатрчян Г.М., Григорян Г.А.* Особенности размножения некоторых декоративных древесных растений. Изв. Гос. Аграрн. Унив. Армении, 1, с. 20-25, 2011.
7. *Кръстев М.Т., Бондорина И.А., Протас С.А.* Биологические основы прививки древесных растений при интродукции. М., с. 164, 2014.
8. *Хачатрян Л.А.* О создании коллекции культиваров в Ереванском ботаническом саду. Тез. док. XXIV сессии совета бот. садов Закавказья, Тбилиси, с. 82-83, 1990.
9. *Kotarov I.A.* Vegetative reproduction of arboreal plants and its importance for introduction. Biology of woody plants, Slovak., p. 321-327, 1973.

Ստացվել է 13.11.2020



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4(72), 2020

ԳԻՏՈՒԹՅԱՆԸ ԱՆՄԱՍՅՈՐԴ ՆՎԻՐՎԱԾ ԿՅԱՆՔ (պրոֆեսոր Գ.Յ. Փանոսյանի հիշատակին)



Կյանքի 90-րդ տարում իր մահկանացուն կնքեց Երևանի պետական համալսարանի կենսաֆիզիկայի ամբիոնի պատվավոր վարիչ, կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր, գիտության վաստակավոր գործիչ, հմուտ և սիրված մանկավարժ Գերասիմ (Գարեգին) Յարությունի Փանոսյանը: Լինելով գիտնական իր ողջ եռությամբ, խոր գիտելիքներ ունեցող վառ անհատականություն, կիրթ, սկզբունքային և հայրենասեր մտավորականի՝ Նա ամբողջ գիտակցական կյանքը նվիրեց իր սիրած գործին՝ գիտամանկավարժական գործունեությանը: Պրոֆեսոր Գ.Յ. Փանոսյանի ներդրումը հայ կենսաբանական գիտական մտքի զարգացման, Հայաստանում կենսաբանության ժամանակակից բնագավառների՝ հատկապես կենսաֆիզիկայի և մոլեկուլային կենսաբանության գծով մասնագետների պատրաստման գործում, դժվար է գերազնահատել: Յարյուրավոր երիտասարդ կենսաբաններ են կրթվել, կենսաբանի իրենց մկրտությունը ստացել՝ ունկնդրելով պրոֆեսոր Գ.Յ. Փանոսյանի բովանդակալից դասախոսությունները, շփվելով այդ հաճելի և բանիմաց գիտնականի հետ, իսկ մի քանի տասնյակը նրանցից իրենց գիտական ուղին անցել են պրոֆեսորի անմիջական աջակցությամբ և ղեկավարությամբ:

Գերասիմ Յարությունի Փանոսյանը ծնվել է Մոսկվայում 1930 թվականին: Յարյո՝ Յարություն Կարապետի Փանոսյանը, Զիֆլիկ գյուղաքաղաքից էր (Արևմտյան Հայաստան), ցեղասպանությունից մազապուրծ եղած, անասելի դժվարություններ հաղթահարած, ով, հասնելով Արևելյան Հայաստան, ստանալով բարձրագույն կրթություն դարձավ հայտնի մանրէաբան, հետազայում Հայաստանի գիտությունների ակադեմիայի թղթակից անդամ: Վերջինս, ամենայն հավանականությամբ, իր ազդեցությունն է ունեցել երիտասարդ Գերասիմ Փանոսյանի մասնագիտական կողմնորոշման մեջ: 1953 թվականին Նա, փայլուն գնահատականներով ավարտելով Երևանի պետական համալսարանի կենսաբանության ֆակուլտետը, մեկնում է Մոսկվա՝ սովորելու պետական համալսարանի ասպիրանտուրայում, խոշոր ֆիզիոլոգ, առաջադեմ և նորարար գիտնական, ԽՍՀՄ ԳԱ թղթակից անդամ Խաչատուր Սերգեյի Կոշտոյանցի ղեկավարությամբ: 1957 թվականին Գերասիմ Փանոսյանը Մոսկվայում պաշտպանում է թեկնածուական ատենախոսությունը, որը նվիրված էր այդ ժամանակվա հրատապ հարցերից մեկին՝ կմախքային մկանների միոնևրալ սինապսում ացետիլխոլին-խոլինեսթերազ համակարգի դերին: Թեև ատենախոսության թեման ֆիզիոլոգիական էր, լինելով կենսաքիմիական ֆիզիոլոգիայի բնագավառի ուսումնասիրություն, այն անմիջականորեն առնչվում էր այդ ժամանակ դեռևս նոր ձևավորվող մոլեկուլային կենսաբանական պատկերացումներին: Երիտասարդ Գ.Յ. Փանոսյանի ամենօրյա անմիջական շփումները Խ.Ս. Կոշտոյանցի հետ, նրա ծանոթացումը Երևելի գիտնականներ Վ.Ա. Էնգելզարդտի, Ա.Ն. Բելոզերսկու և մյուսների օրիգինալ ուսումնասիրություններին, Մոսկվայի պետական համալսարանում այդ տարիներին տիրող մոլե-

կուլային կենսաբանության «մթնոլորտը» մեծ դեր խաղացին Գ.Յ. Փանոսյանի հետագա մասնագիտական կողմնորոշման, գիտական հետաքրքրությունների ձևավորման գործում: Վերջինիս նպաստեց նաև նրա՝ 1961-1963 թվականների աշխատանքային գործունեությունը ԽՍՀՄ ԲԳԱ պոլիոմիելիտի և Էնցեֆալիտի ինստիտուտում՝ հայտնի վիրուսաբան պրոֆեսոր Վ.Ի. Ազոլի լաբորատորիայում:

1963 թվականին Գ.Յ. Փանոսյանը հրավիրվում է Հայաստան և հիմնադրում Երևանի պետական համալսարանի կենսաֆիզիկայի ամբիոնը, որը ղեկավարում է շուրջ 28 տարի: Այդ տարիներին նա իրեն դրսևորում է նաև որպես գիտամանկավարժական գործունեության հմուտ կազմակերպիչ: Այդ մասին են վկայում 1977 թվականին նրա նշանակումը Երևանի պետական համալսարանի գիտական աշխատանքների գծով պրոռեկտորի պաշտոնում, ինչպես նաև, մեկ տարի անց, նրա հնգամյա գործունեությունը Երևանի պետական անասնաբուժական-անասնաբուժական ինստիտուտի ռեկտորի պաշտոնում: Այդ պատասխանատու պաշտոնում նա էապես բարելավեց ինստիտուտի բարոյահոգեբանական մթնոլորտը, անհաշտ պայքար մղեց եղած բացասական երևույթների դեմ: 1983 թվականին Գ.Յ. Փանոսյանը ստանձնում է Հայաստանի ԳԱ փորձարարական կենսաբանության ինստիտուտի ղեկավարումը, նպաստում ինստիտուտում իրականացվող մոլեկուլային կենսաբանական բնույթի հետազոտությունների զարգացմանը՝ ապագայում՝ նրա՝ մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի վերափոխմանը: Օժտված լինելով մեղմ, հավասարակշիռ, միաժամանակ խիստ սկզբունքային բնավորությամբ, կազմակերպչական կարողություններով, նա կարողացավ հաջողությամբ լուծել երկար տարիներ ինստիտուտում առկա շատ հիմնահարցեր: 1986 թվականին Գ.Յ. Փանոսյանը վերադառնում է իր հարազատ համալսարան, իր հիմնադրած ամբիոն, որի պատվավոր վարիչ է նշանակվում 1997 թվականից:

Պրոֆեսոր Գ.Յ. Փանոսյանի ուսումնասիրություններն ուշադրության են արժանացել ոչ միայն Հայաստանում և Նախկին ԽՍՀՄ գիտական շրջաններում, այլև արտասահմանյան առաջատար գիտական կենտրոններում: 1966 թվականին նա հրավիրվում է Լոնդոնի Ուռուցքաբանության կենտրոն, որտեղ 10 ամիս հետազոտություններ է իրականացնում պրոֆեսոր Բատլերի գլխավորած լաբորատորիայում, 1972 թվականին աշխատում է ԱՄՆ-ում՝ Կալիֆոռնիայի տեխնոլոգիական ինստիտուտում՝ պրոֆեսոր Ջ.Բոնների լաբորատորիայում, իսկ 1976 թվականին՝ Մեծ Բրիտանիայում, Պորտսմութի պոլիտեխնիկական ինստիտուտում՝ պրոֆեսոր Բրեդբերիի լաբորատորիայում:

Լայն է պրոֆեսոր Գ.Յ. Փանոսյանի հետաքրքրությունների շրջանակը՝ քրոմատինի և նրա բաղադրամասերի, հատկապես ԴՆԹ-ի և հիստոնների, կառուցվածքաֆունկցիոնալ հետազոտություններ, գենային ակտիվության հորմոնային կարգավորում, գենոմի վրա կենսաբանորեն ակտիվ այլ միացությունների ազդեցության մեխանիզմների բացահայտում և այլն: Նշված հիմնահարցերի հետազոտման օբյեկտներ են ծառայել տարբեր կենսահամակարգեր՝ վիրուսներ և ֆագեր, բակտերիաներ, բույսեր, կենդանիներ, նորմալ և ուռուցքային բջիջներ, իսկ ուսումնասիրություններն իրականացվել են ֆիզիոլոգիական, կենսաքիմիական, կենսաֆիզիկական, իմունոլոգիական, մանրէաբանական, մոլեկուլային կենսաբանական մեթոդների կիրառմամբ:

Նշված հետազոտությունների մի մասը ընդհանրացվել են Գ.Յ. Փանոսյանի «Հիստոնների որոշ հատկությունների և ֆունկցիաների հետազոտությունը» թեմայով դոկտորական ատենախոսության մեջ, որը պաշտպանեց 1973 թվականին, ինչպես նաև «Հիստոնների կառուցվածքը և ֆունկցիան» ուշագրավ մենագրության մեջ (1978 թվական), որի կարևորությունը թե՞ մասնագետների, և թե՞ ուսանողության համար անհնար է գերազնահատել: Նա 300-ից ավելի գիտական աշխատությունների հեղինակ է, այդ թվում՝ 2 մենագրության, մեծաթիվ գիտական հոդվածների, որոնք հրատարակվել են ինչպես Հայաստանի և Նախկին ԽՍՀՄ գիտական ամսագրերում, այնպես էլ արտասահմանյան հեղինակավոր պարբերականներում: Պրոֆեսոր Գ.Յ. Փանոսյանի անմիջական աջակցությամբ ԵՊՀ կենսաֆիզիկայի ամբիոնում իրականացվել և պաշտպանվել են 3 դոկտորական ատենախոսություններ, նա ղեկավարել է շուրջ մեկ ու կես տասնյակ թեկնածուական ատենախոսություններ, որոնք նվիրված են կենսաֆիզիկայի և մոլեկուլային կենսաբանության բազմաբնույթ հարցերին:

Շնորհաշատ գիտնականը, սիրված, վաստակաշատ մանկավարժն իր բազմամյա աշխատանքի և հայ գիտական մտքին մատուցած ծառայությունների համար բազմիցս

պարզևատրվել է մեդալներով և պատվոգրերով, իսկ 1981 թվականին արժանացել է Հայաստանի գիտության վաստակավոր գործչի պատվավոր կոչման: Նվիրյալ գիտնական և գիտության հմուտ կազմակերպիչ, հայրենասեր քաղաքացի Գերասիմ Հարությունի Փանոսյանի հիշատակը միշտ վառ կմնա նրա աշակերտների և նրան ճանաչողների սրտում:

*ԵՊՀ կենսաբանության ֆակուլտետի դեկան՝ ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ Է.Ս.Գևորգյան
ԵՊՀ կենսաֆիզիկայի ամբիոնի վարիչ՝ պրոֆեսոր Պ.Հ.Վարդևանյան*

«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՝ N 1061
Ստորագրված է տպագրության՝ 11.12.2020:
Թուղթը՝ օֆսեթ. № 1:
6 տպ.մամուլ: Տպաքանակ՝ 150:
ՀՀ ԱԱ «Գիտություն» հրատարակչության տպարան:
0019, Երևան, Մարշալ Բաղրամյան պ. 24: