

ISSN 0366-5119

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՏՐԱԼՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
АРМЕНИИ

BIOLOGICAL JOURNAL
of ARMENIA

Выходит с 1948 года на армянском, русском и английском языках

«Հայաստանի կենսաբանական հանդեսը» հրատարակվում է Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիայի կողմից և տպագրում է հոդվածներ բուսաբանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաքիմիայի, կենսաֆիզիկայի, կենսատեխնոլոգիայի, միկրոբիոլոգիայի, գենետիկայի և ընդհանուր ու կիրառական կենսաբանության այլ բնագավառների վերաբերյալ:

“Биологический журнал Армении” издается Национальной Академией Наук Армении и публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, биохимии, биофизике, микробиологии, биотехнологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии.

“Biological Journal of Armenia” is functioning under the auspice of the National Academy of Sciences of Armenia and publishes original papers in botany, zoology, physiology, biochemistry, biophysics, microbiology, biotechnology, genetics and other fields of general and applied biology.

Editor-in-chief - E.G. Afrikian

Executive Secretary - N.H. Apinyan

Խմբագրական կոլեգիա՝ Է.Գ.Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ծ.Ս.Ավագյան, Հ.Գ.Բակլավաջյան, Մ.Ա.Դավթյան, Ժ.Բ.Հակոբյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Ռ.Մ.Հարությունյան, Վ.Հ.Ղազարյան, Պ.Ա.Ղանդիլյան, Կ.Գ.Ղարազոյան, Ս.Խ.Մայրապետյան, Ս.Հ.Մովսիսյան, Ն.Հ. Ապինյան (պատասխանատու քարտուղար)

Խմբագրական խորհուրդ՝ Է.Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Ա.Ս.Աղաբալյան, Յու.Թ.Ալեքսանյան, Է.Յ.Գաբրիելյան, Ա.Ա.Գալոյան, Ա.Լ.Թախադջյան, Պ.Ա.Խորշոդյան, Բ.Տ.Լարիբջանյան, Կ.Ս.Պողոսյան, Ա.Գ.Փանոսյան, Լ.Լ.Օսիպյան

Редакционная коллегия: Э.К.Африкян (главный редактор), Ц.М.Авакян, Ж.И.Акопян (заместитель главного редактора), Р.М.Арутюнян, О.Г. Баклаваджян, П.А. Гандилян, М.А.Давтян, В.О.Казарян, К.Г.Карагезян, С.Х.Майрапетян, С.О.Мовсесян, Н.А. Апинян (ответственный секретарь)

Редакционный совет: Э.К.Африкян (председатель), А.С.Агабалиян, Ю.Т.Алексанян, Э.Ц.Габриелян, А.А.Галоян, Б.Т.Гарибджанян, Л.Л.Осипян, А.Г.Паносян, К.С.Погосян, А.Л.Тахтаджян, П.А.Хуршудян

Հովանավոր՝ Հ. Պարսեկյան (ԱՄՆ)

Спонсор: А. Парсекян (США)

Sponsor: H. Parsekian (USA)

Оригинальные статьи • Original articles

Биол. журн. Армении, 1-2 (54), 2002

УДК 577.155.34:615.5

**ИЗУЧЕНИЕ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ ЛЯГУШКИ *RANA RIDIBUNDA*
ПОСЛЕ ИНАКТИВАЦИИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭДТА
И ПОСЛЕДУЮЩЕЙ РЕАКТИВАЦИИ**

Ջ.Ք. ԲԱՐՏԵԳՅԱՆ, Ն.Ա. ԱՐՇՐՈՒՆԻ, Մ.Ա. ԴԱՎՅԱՆ

*Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и проблемная
лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии, 375025*

Показано, что аргиназа печени лягушек *Rana ridibunda*, которая является тетрамером с молекулярными массами 110000-136000D, распадается под действием ЭДТА на субъединицы с молекулярными массами 63035 и 34956. После реактивации фермента в определенных условиях происходит реассоциация субъединиц в тетрамер.

Ցույց է տրված, որ *Rana ridibunda* գորտի լյարդի արգինազը, որն իրենից ներկայացնում է տետրամեր, որի մոլեկուլյար կշիռը 110000-136000D, էԴՏԱ-ի ազդեցության տակ տրոհվում է 63035 և 34956 մոլեկուլյար կշռով ենթամիավորների: Ֆերմենտի ռեակտիվացումից հետո տեղի է ունենում ենթամիավորների ռեասոցիացում տետրամերի մեջ:

It has been shown, that *Rana ridibunda* frog's liver arginase has tetrameric structure with molecular mass 110000-136000D, which is desintegrated by EDTA into subunits with 63035 and 34956. The reallocation of these subunits into tetrameric enzyme takes place after enzyme reactivation under the certain conditions.

Аргиназа - инактивация - реактивация

Известно, что в поддержании олигомерной структуры молекул аргиназ, а также в проявлении каталитических свойств фермента участвуют определенные двухвалентные катионы. Связывая эти ионы, некоторые хелатные соединения (в частности ЭДТА) неконкурентно ингибируют его. Ингибирование аргиназы под действием ЭДТА выявлено многими исследователями. Так, например, аргиназа молочной железы крысы полностью ингибируется ЭДТА в концентрации 5 мМ при рН 6, но затем восстанавливается ионами Mn^{2+} [7]. В некоторых случаях этот процесс сопровождается молекулярной деградацией фермента. Например, аргиназы из печени и почек человека (м.м. 120000) в присутствии ЭДТА распадаются на 4 мономера [9]. По мнению авторов, эти данные свидетельствуют о поверхностном расположении ионов Mn^{2+} и об их необходимости для

поддержания четвертичной структуры вышеуказанных аргиназ. Существуют примеры неполной диссоциации под воздействием ЭДТА. Тримерная форма аргиназы из *Saccharomyces cerevisiae* при диализе против ЭДТА частично диссоциирует (константа седиментации понижается от 5,95 до 4,65). Авторы пришли к заключению, что в этих условиях аргиназа находится в мономер-тример равновесии. Такое состояние объясняется наличием в молекуле фермента двух ионов - Mn^{2+} и Zn^{2+} , по-разному связанных с апоферментом и выполняющих различные функции. Связь иона Mn^{2+} , ответственного за проявление каталитической активности, слабая. А более прочно связанный ион Zn^{2+} дает молекуле фермента стабильность третичной и четвертичной структур [8].

Показано, что удаление марганца под действием хелатирующих агентов у некоторых аргиназ не приводит к молекулярной деградации аргиназы. Так, при действии ЭДТА на аргиназу печени телят (катионная форма), крыс (анионная форма) [6], быка [10], м.м. ферментов не меняется, хотя во всех случаях идет инактивация. Согласно Дейлиг [6], подобное действие ЭДТА можно объяснить особым расположением Mn^{2+} в молекуле фермента. Например, в аргиназе печени телят Mn^{2+} связывается с ферментом в двух участках: каталитическом и в центре, ответственном за ассоциацию субъединиц. По мнению автора, участки связывания ионов Mn^{2+} , ответственные за олигомерную структуру, не чувствительны к хелатирующему реагенту, тогда как участки, находящиеся вблизи активного центра и ответственные за активацию, видимо, легко доступны для него [6].

Предыдущие исследования по инактивации аргиназы показали, что ферментные препараты различной степени очистки инактивируются под действием ЭДТА через 20 мин приблизительно на 90% [1]. Было также показано, что процесс обратим при определенных рН среды и наличии некоторых двухвалентных ионов [2].

Наши исследования проведены с целью выявления возможного расщепления олигомерной структуры аргиназы печени лягушки *Rana ridibunda* после инактивации под действием ЭДТА, а также возможного реассоциирования субъединиц в олигомерную структуру при реактивации фермента.

Материал и методика. Объектом исследования служили лягушки *R. ridibunda* (лягушка озерная) массой 100-120 г. Активность аргиназы определяли по методу [4]. Активность фермента выражали в мкмоль образовавшейся мочевины на 1 г свежей ткани. Инактивацию аргиназы проводили в присутствии ЭДТА в конечной концентрации 5×10^{-3} М. Реактивацию предварительно инактивированной аргиназы проводили в глицин - NaOH буфере, рН 9,5, при температуре 37° с добавлением ионов Mn^{2+} (25 мкмоль на 1 мл пробы).

Молекулярные фракции во всех вариантах определяли методом гельфильтрации (*Sephadex G-200*, "Pharmacia", Швеция). Размеры колонки 1,5х40 см, объем элюции 4 мл. Колонка уравнивалась 0,05 М трис-HCl буфером, рН 7,4.

Для определения значения V_0 (свободный объем колонки) использовали 0,2%-ный раствор голубого декстрана (*Blue Dextran 2000*, "Pharmacia", м.м. $2 \cdot 10^6$ дальтон). В качестве белков-маркеров - уреазу из соевых бобов (м.м. 480000), дрожжевую алкогольдегидрогеназу (м.м. 150000), гемоглобин крови лошади (м.м. 67000) и пепсин (м.м. 35000).

Ионообменную хроматографию экстрактов печени проводили на колонке с ДЭА-целлюлозой (колонка 1,5x20 см). Уравновешивание 0,005 М трис-НСl буфером, pH 7,4. Элюция градиентная растворами KCl в этом же буфере при постоянном повышении молярности от 0 до 0,35 М. Скорость элюции 24 мл/час.

Результаты и обсуждение. Нами в ранних работах показано, что молекулярная масса аргиназы печени лягушек *R. ridibunda* (экстракт), выловленных в различных районах республики, колеблется в пределах 113000-138000. Эта величина соответствует молекулярной массе (110000-136000), определенной для аргиназы млекопитающих, и является, как предполагается, оптимальной для проявления аргиназной активности [3].

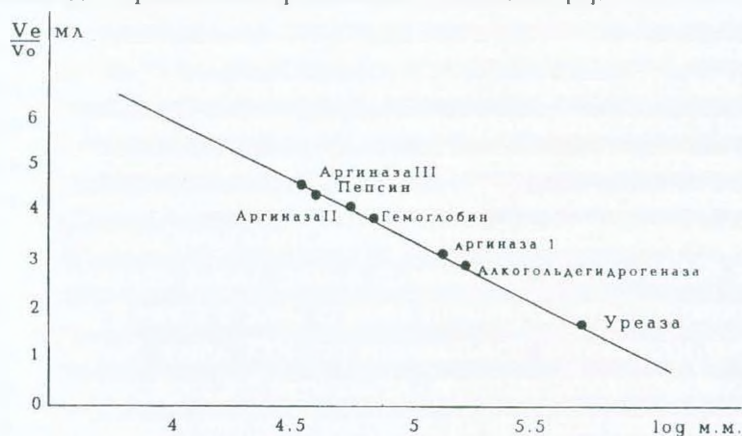


Рис. 1. Фракционирование аргиназы печени лягушек *R. ridibunda* после инактивации под действием ЭДТА.

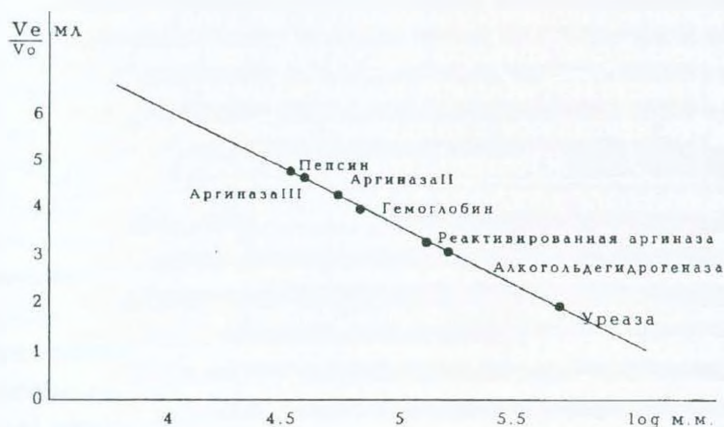


Рис. 2. Фракционирование реактивированной аргиназы печени лягушек *R. ridibunda* после инактивации под действием ЭДТА.

Как видно из рис. 1, 2, при действии ЭДТА на аргиназу печени лягушки *R. ridibunda* методом гельфильтрации выявляются 3 фракции аргиназы (AI, All, Alll) с соответствующими молекулярными массами 127900, 63035 и 34956. Известен случай, при котором обработка ЭДТА наиболее активных изоферментов аргиназы печени и почек крысы приводила к образованию фракций фермента с м.м. 120000, 60000 и 30000 [5].

Анализ полученных нами данных (рис. 1) показывает, что при обработке аргиназы печени лягушек ЭДТА происходит диссоциация фермента на субъединицы с м.м. 63035 и 34956.

То обстоятельство, что в наших экспериментах обнаруживается определенное количество недиссоциированного фермента (1 фракция, м.м. 127900), очевидно, является следствием неполного воздействия ЭДТА (в силу его низкой концентрации) или реассоциации фермента в колонке при гельфильтрации (вследствие разбавления концентрации ЭДТА). Нельзя было исключить также и наличие изоэнзима, не инактивируемого ЭДТА, поскольку получаемый при гельфильтрации аргиназный пик печени лягушки не гомогенен и дополнительно фракционируется ионообменной хроматографией (ДЭАЭ-целлюлоза) на три подфракции. С целью выяснения этого вопроса было исследовано действие ЭДТА на 3 субфракции, полученные ионообменной хроматографией на ДЭАЭ-целлюлозе (рис.3).

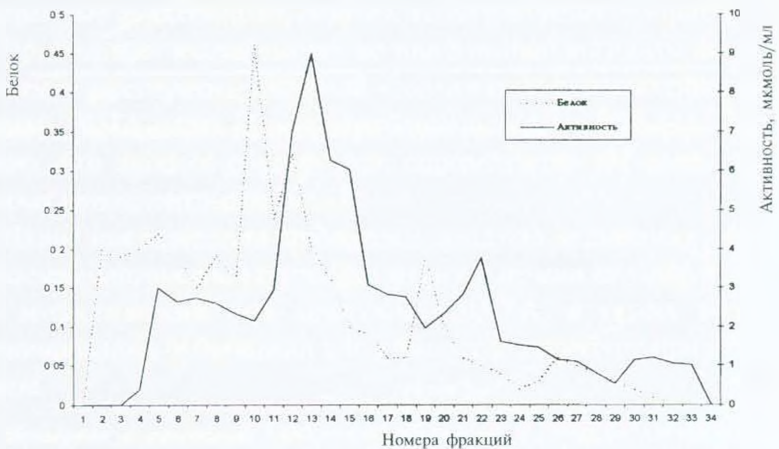


Рис.3. Фракционирование аргиназы печени лягушек *R. ridibunda* на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой.

Оказалось, что ЭДТА ингибировал аргиназную активность во всех трех субфракциях, что обнаружилось уже в первые минуты эксперимента и в процентном отношении почти не изменялось в течение 2 ч (табл. 1).

Таблица 1. Действие ЭДТА на аргиназную активность в 3 субфракциях, полученных ионообменной хроматографией на ДЭАЭ-целлюлозе.

Активность аргиназы, мкмоль/г белка			
Время, мин	1	2	3
исходная активность	133±14.3	423±24.4	269±18.6
1'	16.7±3.6	18.3±5.4	29.7±4.6
30	16.6±3.2	17.7±3.2	27.2±3.6
60	15.6±2.2	17.6±2.7	26.7±4.2
120	14.2±2.1	16.3±2.2	26.5±4.2
инактивация, %	88	96	90.1

Таким образом, наличие изоэнзима, не инактивируемого ЭДТА, было исключено.

В последующей серии экспериментов мы проводили реактивацию инактивированной ЭДТА аргиназы при pH 9,5 и температуре 37° с добавлением ионов Mn^{2+} (25 мкмоль на 1 мл пробы), экспозиция 22 ч.

Реактивированный фермент пропусклся через колонку с сефадексом G-200. Исследования показали, что реактивированный фермент в большинстве случаев имел м.м. 126000 (рис.2). Однако, наряду с фракцией 126000, выявлялись также димер и мономер с м.м. 60260 и 35480 соответственно. В связи с этим следует упомянуть, что при реактивации восстанавливается лишь 72% первоначальной активности фермента. Очевидно, что оставшиеся 28% активности - результат неполной реассоциации.

Таким образом, в процессе реактивации аргиназы печени лягушек *R. ridibunda*, предварительно инактивированной ЭДТА при pH 7,4, в большинстве случаев происходила ассоциация субъединиц в тетрамерный олигомер. Эти данные вызывают определенный интерес в сравнении с результатами изучения процесса обратимой инактивации при низких pH (3,6), где предполагается иной механизм распада фермента на субъединицы за счет разрыва дисульфидных связей нативного фермента. Реактивация фермента в случае кислотной инактивации приводила к ассоциации субъединиц в октамерный олигомер взамен нативного тетрамера [3].

Реактивация фермента при двух способах инактивирования - дополнительный аргумент, свидетельствующий о различных механизмах процесса обратимой инактивации.

Кроме того, учитывая данные, полученные при исследовании влияния парахлормеркурийбензоата на инактивированную при pH 3,6 и ЭДТА, а также реактивированную аргиназы [1] можно заключить, что различны не только механизмы инактивации и реактивации, но и субъединицы, образующиеся при двух способах инактивирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арцруни Н.А., Барсегян Э.Х., Давтян М.А. Биолог.журн.Армении, 49, 3-4, 156-157, 1996.
2. Барсегян Э.Х. Биолог.журн.Армении, 42, 2, 1989.
3. Барсегян Э.Х., Давтян М.А. Уч.записки ЕГУ, 2, 102-105, 1990.
4. Барсегян Э.Х., Никогосян Ф.Ц., Давтян М.А. Биолог.журн.Армении, 30, 6, 12-20, 1977.
5. Baramczyk-Kuzma A., Porembska Z., Mochnacka I. Acta Biochim.Polon., 23,2-3, 151-163, 1976.
6. Dahlig E., Porembcka Z. Acta Biochim.Polon., 24,3, 187-196, 1977.
7. Fuentes J.M., Campo M.L., Soler G. Arch. Int. Physiol. Biochim. Biophys., 102, 5, 255-258, 1994.
8. Green S.M., Ginsburg A., Lewis M.S., Hensley P. J. Biol. Chim., 266, 32, 21474-21481, 1991.
9. Porembcka Z., Grabon W., Zelazowska E., Czeczot H., Zamecka E. Acta Biochim.Polon., 40, 4, 465-470, 1993.
10. Rossi V., Grandi C., Dalzoppo D., Fontana A. Int. J. Pept. Protein Res., 2, 2, 239-250, 1983.

Поступила 10.XI.1997

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ ЛЯГУШЕК *RANA RIDIBUNDA* ДО И ПОСЛЕ МЕТАМОРФОЗА

Н.А. АРЦРУНИ, Э.Х. БАРСЕГЯН, М.А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и проблемная лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии, 375025

Изучен изоэнзимный спектр аргиназы печени лягушки *Rana ridibunda* до и после метаморфоза. Исследованием этих изоэнзимов при инактивации под действием ЭДТА и при pH 3.6 выявлено присутствие в печени лягушек уреотелических и неуреотелических изоэнзимов аргиназы, обладающих разными структурными особенностями, количественное соотношение которых меняется в ходе онтогенеза механизмами индукции и репрессии.

Ուսումնասիրված է *Rana ridibunda* գորտի լյարդի արգինազի իզոֆերմենտային սպեկտրը մետամորֆոզից առաջ և հետո: ԷԴՏԱ-ի և pH 3,6 ազդեցության ներքո ինակտիվացման գործընթացում այդ իզոֆերմենտների վարքի ուսումնասիրությունը ապացուցում է գորտի լյարդում արգինազի ուռետելիկ և ոչ ուռետելիկ իզոֆերմենտների առկայությունը: Վերջիններս ունեն տարբեր կառուցվածքային առանձնահատկություններ և նրանց քանակական հարաբերությունը փոփոխվում է անհատական զարգացման ընթացքում ինդուկցիայի և ռեպրեսիայի մեխանիզմներով:

It has been investigated the isoenzymatic spectrum of *Rana ridibunda* frog's liver arginase before and after metamorphosis. The study of behavior of isoenzymes under the inactivation, caused by EDTA and low pH (3.6) proves the existence of ureotelic and nonureotelic isoenzymes in the frog's liver. These isoenzymes have different structural characteristics. Their quantitative ratio changes during the ontogenesis by mechanisms of induction and repression.

Аргиназа - инактивация - метаморфоз

Орнитиновый цикл мочевинообразования является основным механизмом нейтрализации аммиака у уреотелических организмов. Первые 4 фермента этого цикла обеспечивают биосинтез аргинина и имеют широкое биологическое распространение среди не только уреотелических, но и аммонотелических и урикотелических организмов. Казалось бы, присоединение аргиназы к этим 4 ферментам обеспечивало бы формирование орнитинового цикла. Относительно аргиназы Давтяном было выдвинуто и обосновано положение о существовании в природе двух видов аргиназ: одна - уреотелическая, присутствующая только в печени уреотелических организмов и функционирующая совместно с ферментами биосинтеза аргинина в виде единой системы - орнитинового цикла мочевинообразования; другая - неуреотелическая, имеющая общебиологическое распространение, встречающаяся во всех органах и тканях, функционирующая вне механизмов нейтрализации аммиака и имеющая иные метаболические функции [4, 5].

В дальнейшем были получены новые факты, подтверждающие существование в природе уреотелических и неуреотелических типов аргиназ [1, 2].

В свете этих представлений формирование уреотелизма нужно было рассмотреть как интеграцию 4 ферментов, обеспечивающих биосинтез аргинина, с уреотелической аргиназой, а не с аргиназой вообще.

Прекрасными объектами для изучения процесса формирования уреотелизма являются амфибии, которые в течение онтогенеза подвергаются метаморфозу, переходя от водной жизни обитания к наземной и соответственно от аммонотелизма к уреотелизму. С целью подтверждения решающей роли индукции уреотелической аргиназы в формировании уреотелизма при метаморфозе амфибий были предприняты дополнительные исследования по выявлению существующих различий изоэнзимов аргиназ до и после метаморфоза.

В данном исследовании проводилось сравнительное изучение поведения аргиназ при разных способах инактивации до и после метаморфоза.

Материал и методика. Объектом исследования служили лягушки *Rana ridibunda* (лягушка озерная) массой 100-120 г. Классификацию этапов развития проводили по Терентьеву [2]. Активность аргиназы определяли по методу [2]. Активность фермента выражали в мкмольх образовавшейся мочевины на 1 г свежей ткани. Инактивацию аргиназы проводили в присутствии ЭДТА в конечной концентрации 5×10^{-2} М.

Гельфильтрацию экстрактов печени, полученных после 30-минутного центрифугирования при 25000 g, проводили при 4° на колонке с сефадексом G-150 (Sephadex G-150, "Pharmacia", Швеция). На колонку (1,5x63) наносили 2,5-3 мл 2%-ного экстракта гомогената, уравнивали 0,005 М трис-HCl буфером, pH 7,4, скорость элюции 8 мл/час.

Результаты и обсуждение. В данной серии экспериментов предварительно изучался изоэнзимный спектр аргиназы печени головастиков (на поздних стадиях развития) и взрослых лягушек. Как видно из приведенных кривых гельфильтрации (рис. 1, 2) экстракта печени, до метаморфоза обнаруживаются 2 пика аргиназной активности, первый (I) изоэнзим фильтруется вместе с высокомолекулярной фракцией белков и обладает высокой ферментативной активностью, а второй (II) - фильтруется вместе с низкомолекулярными белками и обладает меньшей активностью. После метаморфоза (рис. 3) в экстрактах печени лягушек обнаруживается резко

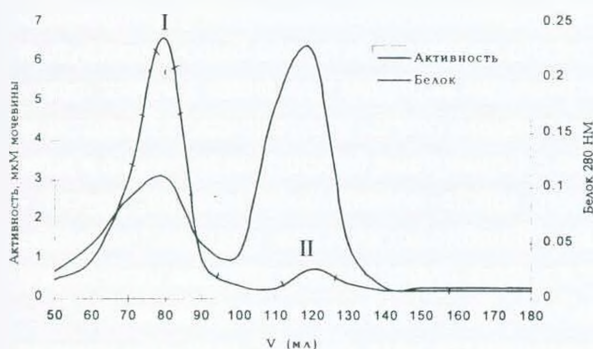


Рис. 1. Гельфильтрация аргиназы печени головастиков *R. ridibunda* (стадия 27-28).

выделенный один пик ферментативной активности, фильтрующийся с высокомолекулярными белками. Можем сказать, что при метаморфозе происходит резкая индукция одного изофермента (I) и репрессия другого (II).

Таким образом, нами были воспроизведе-

ны данные нашей лаборатории относительно изменения изоэнзимного спектра аргиназ печени лягушек в ходе онтогенетического развития [3]. При этом было выяснено, что по ряду физико-химических показателей константа Михаэлиса (K_m), молекулярная масса, константа ингибции (K_i) значительно различаются. Даже показатели I изоэнзима до и после метаморфоза несколько различаются по значениям K_m . Это могло быть результатом гетерогенности I изоэнзима, что и было подтверждено в экспериментах по дальнейшему фракционированию этого изоэнзима на колонках с ДЭАЭ-целлюлозой. Действительно, I изоэнзим ионообменной хроматографией разделяется на 3 субфракции (1А, 1В, 1С), соотношение активностей которых в ходе развития меняется. При метаморфозе наблюдается индукция 1С и 1В, тогда как 1А не меняется. Было заключено, что в механизме формирования уреотелизма при метаморфозе существенное значение имеет индукция 1С и 1В. Очевидно, они и являются уреотелическими изоэнзимами, тем более по K_m , K_i и мол. массе они соответствуют уреотелическим аргиназам различного происхождения.

Как видно из табл. 1, аргиназа гомогенатов печени головастика на стадиях развития 27-28 и 28-29 при кислых рН постепенно инактивируется в течение 6 ч. После частичной очистки (гельфильтрация, G-150) препаратов на тех же стадиях развития время инактивации сокращается до 3 ч.

Наши исследования на взрослых лягушках (I) показали, что после 2-часового кислотного воздействия (рН 3,6) аргиназа экстракта печени инактивируется всего на 24%, тогда как аргиназа экстракта печени головастика на стадии 27-28 ингибируется на 48%, а на стадии 28-29 - на 45%, т. е. по мере приближения к метаморфозу аргиназная активность экстракта печени головастика по исследованному показателю приближается

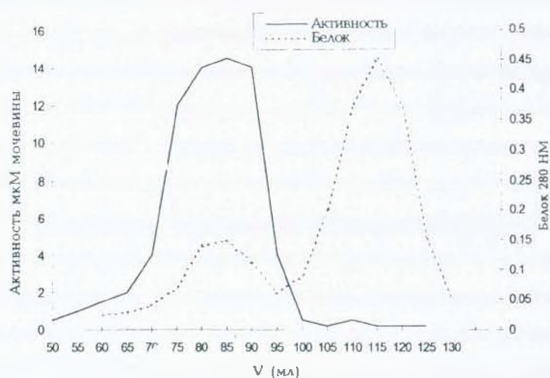


Рис. 2. Гельфильтрация аргиназы печени головастика *R. ridibunda* (стадия 28-29).

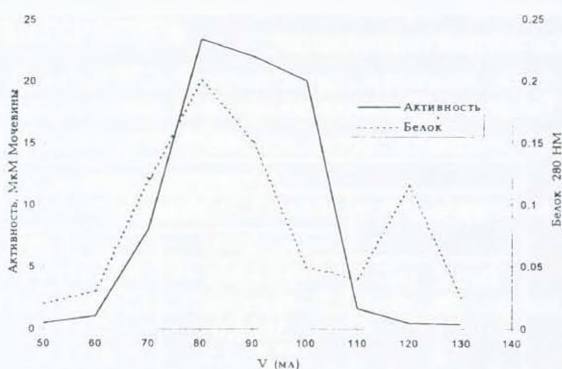


Рис. 3. Гельфильтрация аргиназы печени лягушки *R. ridibunda*.

к активности экстракта печени взрослых лягушек. Это, очевидно, является следствием указанных изменений изоэнзимного спектра аргиназ печени лягушек в течение онтогенеза, что подтверждается и результатами исследований I изоэнзима аргиназы, полученного гельфильтрацией экстракта печени головастика. На стадии развития 27-28 I изоэнзим при 2-часовом кислотном воздействии (рН 3,6) ингибируется на 55%, на стадии 28-29 - на 94%, т. е. почти столько, сколько у взрослых лягушек (1). Таким образом, в ходе развития лягушек меняется степень кислотной инактивации I изоэнзима аргиназы печени, что, вероятнее всего, является изменением количественного соотношения субфракций I изоэнзима (IA, IB, IC). Оценивая полученные данные по изучению кислотной инактивации изоферментов аргиназы, можем утверждать, что они подтверждают заключение об индукции при метаморфозе амфибий определенных изоэнзимов, имеющих характерное поведение при кислотной инактивации.

Таблица 1. Инактивация аргиназы печени головастика *R. ridibunda* при рН 3,6 на разных стадиях развития

Время, ч	Активность аргиназы, мкмоль/г белка			
	Экстракт		Аргиназа I	
	ст. 27-28	ст. 28-29	ст. 27-28	ст. 28-29
Исход. акт.	53,4±4,2	68±12,1	82,1±6,4	170±32
30'	48,7±3,2	60±3,1	50±3,5	44±9,6
1	38±2,8	54±2,4	41±2,4	15,8±3,4
2	27,6±2,5	37±6,3	37±2,3	10,2±2,7
3	16,7±2,4	21±5,6	18±1,7	7,3±1,8
6	9±2,2	13±3,2	-	-

Аргиназа экстракта печени лягушек, как и частично очищенная аргиназа (I изоэнзим, полученный гельфильтрацией и его субфракции IA, IB, IC, полученные ионообменной хроматографией на ДЭАЭ целлюлозе) значительно инактивируются сразу после добавления ЭДТА [1].

Таблица 2. Инактивация аргиназы печени головастика *R. ridibunda* под действием ЭДТА на разных стадиях развития

Время, мин	Активность аргиназы, мкмоль/г белка					
	Экстракт		Аргиназа I		Аргиназа II	
	ст. 27	ст. 28-29	ст. 27	ст. 28-29	ст. 27	ст. 28-29
Исх. акт.	43,7±2,8	68±12,1	61,4±5,6	170±32	16,6±1,2	13,5±0,98
1	0,72±0,05	1,72±0,42	3,3±0,4	6,8±1,4	16,6±1,2	13,5±0,98
30	0,44±0,03	1,6±0,2	4±0,6	6,8±1,4	0	0
60	0,43±0,03	1,7±0,18	3,02±0,18	6,8±1,4	0	0
120	0,44±0,03	1,6±0,2	2,87±0,12	6,8±1,4	0	0

Согласно данным табл. 2, ЭДТА сразу ингибирует аргиназную активность экстрактов, а также I изоэнзима, полученного гельфильтрацией экстрактов печени на различных стадиях развития. Таким образом, I

изоэнзимы по степени ингибирования ЭДТА до и после метаморфоза проявляют одинаковый характер. Что же касается II изоэнзима аргиназы, обнаруживаемого при гель-фильтрации экстракта печени только до метаморфоза, который репрессируется при метаморфозе и, очевидно, является неуретелическим, он не ингибируется в первые минуты действия ЭДТА, что обычно обусловлено наличием в молекуле фермента более прочно связанных с белком ионов Mn^{2+} .

Таким образом, полученные данные являются дополнительным доказательством присутствия в печени лягушек различных изоэнзимов аргиназы (обладающих разными структурными особенностями), количественное соотношение которых меняется в ходе онтогенеза механизмами индукции и репрессии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арцруни Н.А., Барсегян Э.Х., Давтян М.А. Биолог. журн. Армении, 49, 3-4, 156-157, 1996.
2. Барсегян Э.Х., Никогосян Ф.Ц., Давтян М.А. Биолог. журн. Армении, 30, 6, 12-20, 1977.
- 3.. Барсегян Э.Х., Никогосян Ф.Ц., Месропян М.Б. Биолог. журн. Армении, 30, 12, 73-76, 1977.
4. Давтян М.А. Вопр. биохимии мозга, 46, 237-266, 1968.
5. Давтян М.А., Бунятян Г.Х., Геворкян Д.М., Петросян Л.А. Вопр. биохимии мозга, 6, 15-22, 1970.

Поступила 10.XI.1997

ОТСУТСТВИЕ НУКЛЕОСОМ И ПОЛНОЕ УДАЛЕНИЕ ГИСТОНОВ В ПОЛИ (А) ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ ХРОМАТИНА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

А.Р. ДЖЕРБАШЬЯН

Институт молекулярной биологии НАН РА, 375014, Ереван

Изучали структуру хроматина и содержание гистонов поли (А) последовательностей эмбрионов *Drosophila melanogaster*. Использовали методы анализа стафилококковой нуклеазы, ДНК-азы I и метод *in situ* ковалентной пришивки гистонов к ДНК диметилсульфатом. Выявлено отсутствие нуклеосом и десяти пар нуклеотидных повторов в поли (А) последовательностях хроматина. Гистоновые белки полностью удалены и не пришиваются в поли (А) последовательностях хроматина. Предполагается, что поли (А) последовательности играют регуляторную функцию при транскрипции.

Յետազոտվել են *Drosophila melanogaster* էմբրիոնների բրոմատինի կառույցը և հիսթոնների առկայությունը պոլի (Ա) հաջորդականություններում: Օգտագործվել են ստաֆիլոկոկային նուկլեազային, ՂԵԹ-ազա I մշակման և *in situ* ՂԵԹ-հիսթոնների դիմեթիլսուլֆատով կովալենտ կապման մեթոդները: Ստացված տվյալները ցույց են տվել, որ պոլի (Ա) հաջորդականություններում բացակայում են նուկլեոսոմները և 10 զույգ նուկլեոտիդային ՂԵԹ սանդղակը: Հիսթոնային սպիտակուցները ամբողջությամբ հեռացված են և չեն կարժում բրոմատինի պոլի (Ա) հաջորդականություններում: Ենթադրվում է, որ պոլի (Ա) հաջորդականությունները ունեն տրանսկրիպցիայում կարգավորիչ դեր:

Drosophila melanogaster poly (A) chromatin structure and histones content of embryos poly (A) sequences using the methods of staphylococcal nuclease, DNAase I and DNA-histones *in situ* covalent cross-linking by dimethylsulfate have been investigated. The absence of nucleosomes and 10 pairs of nucleotides replays in poly (A) chromatin has been revealed and histones molecules are completely removed. The chromatin poly (A) sequences presumably play regulatory role in transcription.

Хроматин - гистоны - нуклеосомы - поли (А) ДНК

В литературе описаны различные структурные изменения хроматина нуклеосом при транскрипции: разрушение нуклеосом [12, 13], деление их на две половинки [20], образование необычных по размеру [24], разрезание [15], перераспределение [10], утрата (H2A-H2B) димеров [5], избирательное удаление молекул гистонов H1 [7].

Имеются также данные, показывающие отсутствие структурных изменений хроматина нуклеосом при транскрипции [16].

В наших исследованиях мы показали различное содержание гистонов в функционально различных участках рибосомного гена *Drosophila melanogaster* [1], используя разработанный нами метод *in situ* ковалентной пришивки ядерных белков к ДНК [19] и наличие специфических негистоновых белков [6].

Специфические негистоновые белки модулируют, разрушают нуклеосомную структуру хроматина при высоких уровнях транскрипции [8, 22]. Это обеспечивает доступ к ДНК молекул РНК полимераз и регуляторных факторов транскрипции [23].

Наши недавние результаты показали разрушение нуклеосом при высоких уровнях транскрипции протоонкогена рецептора эпидермального фактора роста и гена инсулина человека [2, 3].

Исходя из этого, мы предполагаем, что структурные изменения хроматина при высоких уровнях транскрипции бывают разных типов в разных генах, и, по-видимому, зависят от особенностей регуляции транскрипции данного гена.

В данной работе мы изучали структуру хроматина поли (А) последовательностей эмбрионов *D. melanogaster*, используя стафилококковый нуклеазный и ДНК-аза I анализы и блот-гибридизацию.

Методом *in situ* ковалентной пришивки гистонов к ДНК и блот – гибридной изацией изучено также количественное содержание гистонов в поли (А) последовательностях хроматина эмбрионов *D. melanogaster*.

Показано, что в поли (А) последовательностях хроматина эмбрионов *D. melanogaster* отсутствуют нуклеосомы, и гистоны полностью удалены.

Материал и методика. В работе были использованы трисоксиметиламинометан, фенолметансульфонилфлуорид (PMSF) фирмы Sigma, агароза фирмы Bio-Rad, стафилококковая нуклеаза и ДНК-аза I фирмы Serva, нейлоновые фильтры Nybond фирмы Amersham, нитроцеллюлозные фильтры фирмы Sigma.

Эмбрионы *D. melanogaster* были выращены в течение 16-18 ч как описано в [11].

Выделение очищенных ядер, обработку ядер стафилококковой нуклеазой и выделение фрагментов ДНК проводили по описанному ранее методу [2].

Обработку очищенных ядер ДНК-азой I проводили в растворе 20 мМ трис HCl pH 7.4, 3 мМ MgCl₂, 2мМ CaCl₂, добавляя ДНК-азу I в концентрации 10мкг/мг ДНК ядер. Реакцию останавливали добавлением Na-ЭДТА до конечной концентрации 25мМ и Na-додецилсульфат до конечной концентрации 0.5%.

Ковалентную *in situ* пришивку гистонов к ДНК диметилсульфатом, двумерный электрофорез пришитого хроматина и электроперенос проводили по [1]. Введение метки ³²P в плазмидную ДНК проводили методом ник-трансляции [17]. Соутерн блот - по методу [21], гибридную изацию - по методу [9].

Агарозный электрофорез ставили по системе трис-борат (pH 8.0) [4], полиакриламидный гель электрофорез ДНК по методу [18].

Результаты и обсуждение. На рис. 1 приведены результаты последовательных гибридных изаций электрофоретически разделенных фрагментов ДНК после стафилококкового нуклеазного перевара очищенных ядер эмбрионов *D. melanogaster* с нетранскрибируемой вставкой II типа рибосомного гена *D. melanogaster*, рис. 1 (А), и с поли (Т), рис. 1 (Б). Как видно, гибридная изация с нетранскрибируемой вставкой II типа рибосомного гена дает обычный нуклеосомный повтор. При гибридной изации с поли (Т) картина смазанная и нуклеосомный повтор отсутствует.

На рис. 2 приведены результаты последовательных гибридных изаций электрофоретически разделенных ДНК фрагментов после перевара очищенных ядер эмбрионов *D. melanogaster* с ДНК-азой I, с нетранскрибируемой вставкой II типа рибосомного гена *D. melanogaster* рис. 2 (А), и с поли (Т), рис. 2 (Б).

Гибридная изация с нетранскрибируемой вставкой II типа рибосомного гена *D. melanogaster* выявляет обычный 10 парнуклеотидный повтор, тогда как при гибридной изации с поли (Т) 10 этот повтор отсутствует.

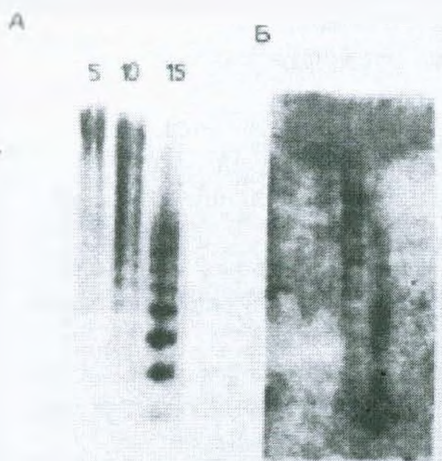


Рис. 1. Микрококково-нуклеазное переваривание ядер эмбрионов *D. melanogaster*, электрофоретическое разделение ДНК, перенос и последовательная гибридизация с А – нетранскрибируемой вставкой II типа рибосомного гена и с Б – поли (Т). Сверху цифрами отмечено время перевара в минутах.

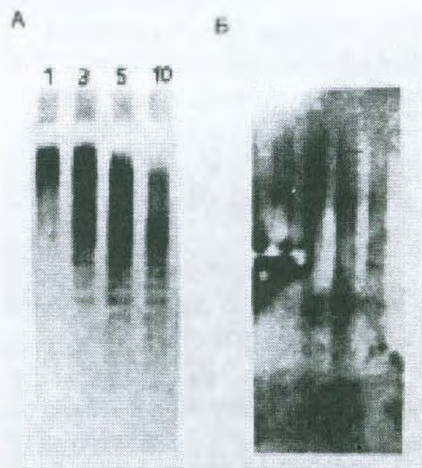


Рис. 2. Переваривание ядер эмбрионов *D. melanogaster* ДНК-азой I, электрофорез ДНК, перенос и последовательная гибридизация с А – нетранскрибируемой вставкой II типа рибосомного гена и БС-поли (Т). Сверху цифрами обозначено время перевара в минутах.

Остается ли какая-то часть гистонов в поли (А) блоках хроматина при разрушении нуклеосом или они полностью удаляются из вышеуказанных последовательностей? Для решения этого вопроса была поставлена *in situ* ковалентная пришивка гистонов к ДНК в ядрах диметилсульфатом. Кор гистоновые и гистон Н1 ДНК диагонали были разделены двумерным полиакриламидным гель-электрофорезом и последовательно блот-гибридизированы с нетранскрибирующей вставкой II типа рибосомного гена *D. melanogaster* и с поли (Т). Как видно на рис. 3А, гибридизация с

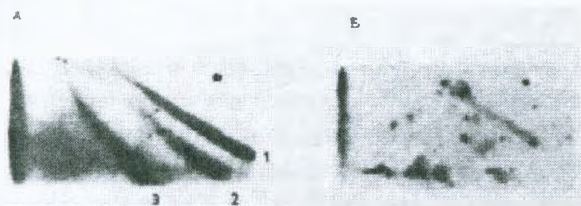


Рис. 3. Ковалентная пришивка гистонов к ДНК, двумерный полиакриламидный гель-электрофорез, электроперенос и последовательная гибридизация с А – нетранскрибируемой вставкой II типа рибосомного гена и Б с поли (Т). 1 – диагональ свободной ДНК, 2 – диагональ коровых гистонов, 3- диагональ гистона Н1.

нетранскрибируемой вставкой II типа дает полный набор гистонов, (диагональ кор гистонов-2, диагональ гистона Н1-3, вместе с диагональю свободной ДНК (диагональ 1). При гибридизации с поли (Т) не выявляются диагонали кор гистонов и гистона Н1, а выявляется

только диагональ свободной ДНК, рис. 3Б (диагональ 1).

Таким образом, при разрушении нуклеосом в поли (А) блоках в хроматине не остаются какие-то количества гистоновых белков, они полностью удаляются. Эти данные показывают, что в поли (А) последовательностях хроматина эмбрионов *D. melanogaster* отсутствуют нуклеосомы и гистоны не пришиваются. Так, известно, что поли (dA) poly (dT) последовательности не образуют нуклеосомы при *in vitro* реконструкции нуклеосом [14]. По-

видимому, сферические особенности поли (А) последовательностей препятствуют образованию нуклеосомных структур. Можно предположить, что поли (А) последовательности в хроматине имеют при транскрипции регуляторную функцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Джербашьян А.Р., Вашакидзе Р.П., Карпов В.Л., Колчинский А.М., Мирзабеков А.Д. Мол. биол., 22, вып.1, 231-241, 1988.
2. Джербашьян А.Р., Захарян Р.А., Манукян К.Л., Арутюнян К.Г., Казарян Н.П. Биолог. журн. Армении 50, 3-4, 65-69, 1997.
3. Джербашьян А.Р., Захарян Р.А., Арутюнян К.Г., Манукян К.Л., Казарян Н.П. Биолог. журн. Армении 49, 1-2, 115-118, 1996.
4. Маниатис Т., Фрич Э., Сембрук Д.Ж. Методы генетической инженерии. М., 1984.
5. Baer B.W., Rhodes D. Nature 301, 482-488, 1983.
6. Belikov S.V., Dzherbashyan A.R., Preobrazhenskaya O.V., Karpov V.L., Mirzabekov A.D. FEBS Lett. 273, 205-207, 1990.
7. Bresnick B.H., Bustin M., Marsaud V., Richard-Foy H., Hager G.L. Nucl. Acids Res. 20, 273-278, 1992.
8. Chasman D.I., Lue N.F., Buchman A.R., LaPointe J.W., Lorch Y., Kornberg R.D. Genes & Dev. 4, 503-514, 1990.
9. Church G.M., Gilbert W. Pror. Natl. Acad. Sci. USA, v. 81, p. 1991-1995, 1984.
10. Clark D.J., Felsenfeld G. Cell 71, 11-22, 1992.
11. Elgin S.C.R., Miller D.W. In "The genetics and biology of Drosophila" M. Ashburner, T. Wright, eds. (Academic Press, New York), v. 2A, p. 112-121, 1978.
12. Franke W.W., Scheer U., Trendelenburg M.F., Spring H., Zentgraf H. Cytobiologie 13, 401-434, 1976.
13. Gallego F., Fernandez-Busquets X., Daban J.-R. Biochemistry 34, 6711-6719, 1995.
14. Kunkel G.R., Martinson H.G. Nucleic Acids Res. 9, 6869-6888, 1981.
15. Lee M.-S., Garrard W.T. EMBO J. 10, 607-615, 1991.
16. Losa R., Brown D.D. Cell 50, 801-808, 1987.
17. Maniatis Y., Jeffrey A., Kleid O. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 1184-1189, 1985.
18. Maxam A.M., Gilbert W. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, v. 74, p. 560-564, 1977.
19. Mirzabekov A.D., Karpov V.L., Preobrazhenskaya O.V., Bavikyn S. G., Dzherbashyan A.R., Shick V.V., Belyavsky A.V. Current Trends in Life Sciences XII, 1-7, 1983.
20. Prior C.P., Cantor C.R., Johnson E.M., Littau V.C., Allfrey V.G. Cell 34, 1033-1042, 1983.
21. Southern E.M. Y. Mol. Biol. 98, 503-517, 1975.
22. Tsukiyama T., Becker P.B. & Wu C. Nature 367, 525-532, 1994.
23. Tumber T., Sudlow G., Belmont A.S. J. Cell. Biol. 145, 1341-1354, 1999.
24. Xu M., Barnard M.B., Roso S.M., Cockerill P.N., Huang S.-Y., Garrard W.T. J. Biol. Chem. 261, 3838-3846, 1986.

Поступила 24.IX.1999

ՄԱՏՈՒՏԱԿԻ ԴԵՐԸ ԵՐԿԱՐԱՏԵԿ ԹՐԹՈԱՅԱՐՄԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԻՑ
ԿԱՏԱԼԱԶԱ ՖԵՐՄԵՆՏԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅԱՆ
ՍԵՒԱՆՆԻՋՄՈՒՄ

Կ.Ռ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

Երևանի պետական համալսարան, մարդու և կենդանիների
ֆիզիոլոգիայի ամբիոն, 375025

Փորձնական կենդանիները մինչ քրթռահարումը և նրա ընթացքում 30-ական օր ստացել են մատուտակի արմատների (*Glycyrrhiza glabra* L.) պատրաստուկ փոշու ձևով: Ստացված արդյունքներից պարզվել է, որ պատրաստուկը քրթռահարման ընթացքում նվազեցնում է առնետների շրջանառու արյան կառավարող ֆերմենտի ակտիվությունը, ճնշելով ջրածնի գերօքսիդի սինթեզը: Օժտված լինելով հակաօքսիդանտային հատկությամբ, մատուտակի պատրաստուկը բարձրացնում է քրթռահարված կենդանիների օրգանիզմի ռեզիստենտությունը և ակտիվությունը:

Подопытные животные предварительно в течение 30 дней получали препарат из корней солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.) в виде порошка и на этом фоне подвергались комбинированному воздействию вибрации с солодкой (30 дней). Установлено, что препарат в динамике вибрации понижает активность фермента каталазы периферической крови крыс, угнетая синтез перекиси водорода. Обладая антиоксидантным свойством, солодка повышет резистентность и активность животных, подвергшихся воздействию вибрационного стресса.

The powdered preparation from roots of *Glycyrrhiza glabra* L. were used for the preliminary nutrition of examined animals during 30 days. Then, animals were exposed under combined vibration with *Glycyrrhiza glabra* L. (30 days). It was found, that preparation decreases the catalase activity in peripheric blood of animals by inhibition of H_2O_2 synthesis. *Glycyrrhiza glabra* L. which has an antioxidant property, may positively affect on the organism and drastically increases the resistance of animals under vibration stress.

Կատալազային ակտիվություն - մատուտակ - քրթռահարում

Թրթռումը կենսաբանական մեծ ակտիվությամբ օժտված և լայնորեն տարածված էկոլոգիական գործոն է: Նրա ազդեցությունից առաջանում են օրգանիզմի և նյութափոխանակության գործընթացների այնպիսի փոփոխություններ, որոնք հանգեցնում են ծանր ախտաբանական երևույթների: Դա արտահայտվում է կլինիկական բազմաբնույթ ախտանշաններով, հոմեոստազի խախտումով, ուստի դիտվում է որպես ամբողջական օրգանիզմի ընդհանուր հիվանդություն [7, 12]: Չնայած մինչ այժմ քրթռման ազդեցությունն ուսումնասիրվել է կլինիկական և փորձառական բազմազան մեթոդներով, սակայն դեռևս քրթռային ազդեցության ախտածնությանը վերաբերող չուսումնասիրված վիճելի շատ հարցեր կան:

Թրթռման ուրույն ազդեցության պայմաններում օրգանիզմի նյութափոխանակության և վեգետատիվ գործընթացների նյարդահումորալ կարգավորումը այլ մեխանիզմների հետ որոշ չափով պայմանավորված է նաև ֆերմենտների գործունեությամբ [2, 12]: Թրթռահարման հետևանքով բարձրանում է օրգանիզմի ոչ սպեցիֆիկ ռեզիստենտության գործում կարևոր դեր ունեցող

կենսաբանորեն ակտիվ նյութերի քանակը, փոփոխվում օքսիդավերականգնման գործընթացները [3]: Օրինակ, այդ մեխանիզմում հայտնի է օրգանիզմի բնական հակաօքսիդանտային համակարգում կատալազա ֆերմենտի կենտրոնական դերը [9]: Միաժամանակ բացահայտված է այդ ֆերմենտի ակտիվության մակարդակի փոփոխությունը, որպես օքսիդավերականգնման գործընթացների վիճակը բնորոշող կարևոր ցուցանիշ [9, 15]:

Հայտնի են նաև օրգանիզմի իմունիտետը բարձրացնող և ախտաբանական երևույթները նվազեցնող բուսական մի շարք հակաօքսիդանտներ, որոնցից է բակլազգի բազմամյա խոտաբույս մատուտակը (քաղցրարմատ - *Glycyrrhiza glabra* L.): Բացահայտվել են մատուտակի հակաօքսիդանտային և հակաբորբոքական հատկությունները: Այն քիմիապես իր ազդեցությամբ նմանվում է արտաքին անբարենպաստ գործոնների ազդեցության նկատմամբ օրգանիզմի ոչ սպեցիֆիկ ռեզիստենտությունը բարձրացնող կորտիկոստերոիդ հորմոններին: Հաստատված է, որ մատուտակի նշված ազդեցությունը պայմանավորված է նրա ֆարմակոլոգիական հատկությամբ: Այն պարունակում է գլիցիրիզին (6-12%), որը գլիցիրիզինաթթվի Na-K-ական աղն է: Գլիցիրիզինաթթուն օրգանիզմում ենթարկվելով փոխարկումների, ունենում է կորտիկոստերոիդանման, հատկապես դեզօքսիկորտիկոստերոնի ազդեցություն և զնահատվում է ֆարմակոլոգիական այդ հատկությունը [6, 11, 14]: Բուժական նպատակներով օգտագործվում է կեղևից մաքրված նրա արմատը:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտությունները կատարվել են 180-200 գ կշիռ ունեցող սեռահասուն 30 արու սպիտակ առնետների վրա: Թրթռահարումը կատարվել է ՅՅ-1 սարքով (60 Հց հաճախությամբ, 0,4 մմ տատանասահմանով) 30 օր, օրական 2 ժամ տևողությամբ: Արյան կատալազա ֆերմենտի ակտիվությունը որոշվել է Բախ-Չուբկովայի մանգանմետրիկ եղանակով [5]: Որոշվել է կատալազայի թիվը, ցուցիչը, չրջանառու արյան էրիթրոցիտների և հեմոգլոբինի բացարձակ քանակը: Արյունը վերցվել է առնետի պոչի խոշոր երակից: Կենդանիներին մատուտակի արմատների պատրաստուկը տրվել է փոշու ձևով 100գ/150մգ չափով սննդի հետ միասին օրական մեկ անգամ, ալիմենտար ճանապարհով: Կենդանիները պահվել են վիվարիումի սովորական պայմաններում, ջուրը տրվել է անսահմանափակ քանակով: Փորձերը կատարվել են 4 տարբերակով: Առաջին տարբերակում կենդանիները ենթարկվել են միայն թրթռահարման ազդեցությանը: Երկրորդ տարբերակի կենդանիները 30 օր սննդի հետ ստացել են մատուտակի արմատների պատրաստուկ: Երրորդ տարբերակի առնետներն ամեն օր ստացել են նշված պատրաստուկը և թրթռահարվել (30 օր), իսկ չորրորդ տարբերակի առնետները մինչ թրթռահարումը և նրա ընթացքում 30-ական օր ստացել են մատուտակի պատրաստուկ: Փորձերի արդյունքները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման:

Արդյունքներ և քննարկում: Աղյուսակում ներկայացված տվյալներից հետևում է (I խումբ), որ թրթռահարումից հետո 5-րդ օրը դիտվել է առնետների արյան կատալազայի ակտիվության (ԿԱ), էրիթրոցիտների քանակի (ԷՔ) և հեմոգլոբինի պարունակության (ՀՊ) ավելացում, համապատասխանաբար կազմելով, % 12,10; 61,14; 17,69: Այսպիսի փոփոխությունները հակված ենք բացատրել չրջանառու արյան վերաբաշխումով: Հետագա օրերին դիտվում է ԿԱ և ՀՊ նվազում, բայց ԷՔ ավելացում: Քանի որ կատալազա ֆերմենտը մեծ չափով պարունակվում է էրիթրոցիտների հենքում, ուստի թվում է, որ նրա ակտիվության և էրիթրոցիտների բացարձակ քանակի փոփոխությունները միշտ պետք է ընթանան

Աղյուսակ 1. Մատուտակի պատրաստուկ ստացած առնետների արյան որոշ ցուցանիշների փոփոխությունները թրթռահարման պայմաններում

Հետազոտված օրեր	Խմբեր և ցուցանիշներ (M±m)											
	I			II			III			IV		
	Հեմոգլոբին	Էրիթրոցիտներ	Կատալազայի ցուցիչ	Հեմոգլոբին	Էրիթրոցիտներ	Կատալազայի ցուցիչ	Հեմոգլոբին	Էրիթրոցիտներ	Կատալազայի ցուցիչ	Հեմոգլոբին	Էրիթրոցիտներ	Կատալազայի ցուցիչ
Ֆոն	14,7±0,14	7,72±0,04	1,57±0,06	15,2±0,37	6,32±0,15	1,54±0,006	16,0±0,12	6,53±0,28	1,58±0,04	17,9±0,71	10,47±0,36	0,56±0,10
5	17,3±0,29***	12,44±0,5***	1,76±0,17	-	-	-	-	-	-	16,2±1,03	10,35±0,47	0,93±0,05**
10	18,7±0,34***	6,94±0,22**	1,35±0,07*	17,6±0,30***	7,43±0,07***	1,37±0,01***	17,4±0,29***	7,47±0,10**	1,31±0,03***	15,6±0,08**	11,03±0,36	0,72±0,06
15	13,1±0,11***	6,58±0,06***	1,52±0,07	-	-	-	-	-	-	17,2±0,44	8,97±0,12***	1,18±0,13**
20	15,5±0,14**	7,24±0,18*	1,36±0,03**	16,7±0,32*	6,89±0,20*	1,01±0,03***	15,4±0,13**	6,91±0,15	1,36±0,03***	15,4±0,67*	7,51±0,48**	1,11±0,14*
25	14,7±0,23	8,82±0,008***	1,49±0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	13,7±0,55	9,01±0,13***	1,27±0,02***	17,9±0,71*	10,47±0,36**	0,56±0,10***	16,6±0,14**	7,72±0,15**	1,06±0,05***	12,3±0,29***	8,33±0,51**	0,94±0,01**

Ծանոթություն՝ *P<0,05-0,02; **P<0,01; ***P<0,001: Հեմոգլոբին - գ%, էրիթրոցիտներ - մլն:

զուգահեռաբար: Սակայն գրականության տվյալներն այդ չեն հաստատում [10]:

30 օր մատուտակ ստացած (II խումբ) առնետների արյան ԿԱ հետազոտման բոլոր օրերին նվազել է, 20-րդ օրը կազմելով 34,42%, 30-րդ օրը 63,64%: Իսկ էրիթրոցիտների քանակը 20-րդ օրը աճել է 9,02%, 30-րդ օրը նախնական տվյալներին գերազանցել է 65,66%-ով: Նախնական արդյունքների համեմատ 37 վիճակագրորեն հավաստի աճ է նկատվել 17,76%: Այսպիսի բարձր մակարդակները դիտվում են որպես էրիթրոպոեզը խթանող մատուտակի գլյուկոկորտիկոիդանման, հատկապես կորտիկոստերոնի ազդեցություն [1, 8]: Թրթռահարման հետ 30 օր մատուտակ ստացած (III խումբ) առնետների ԿԱ փոփոխության բնույթը համարյա նման է առաջին տարբերակի տվյալներին, միայն տարբերվում է 30-րդ օրը ակտիվության առավել նվազումով 32,91%: Էրիթրոցիտների և հեմոգլոբինի քանակները համարյա փոփոխության չեն ենթարկվել: Ենթադրվում է, որ մատուտակի ազդեցությունը փոխհատուցել է թրթռահարման ազդեցությունից առաջացող էրիթրոպենիային:

Մինչ թրթռահարումը և նրանից հետո 30-ական օր մատուտակի պատրաստուկ ստացած (IV խումբ) փորձնական կենդանիների արյան կատալազայի ակտիվությունը աստիճանաբար բարձրացել է, սակայն չի հասել նախնական տվյալների մակարդակին: Հետազոտման 20-րդ օրն այն աճել է 98,21%-ով, իսկ 30-րդ օրը՝ 67,86%: Անհրաժեշտ է նշել, որ ԿԱ այսպիսի բարձրացմանը զուգընթաց նվազել է էՔ և 37: Այս տվյալները վկայում են թրթռահարման ազդեցությունից օրգանիզմում առաջացած թթվածնաքաղցի մասին: Այս պայմաններում հյուսվածքներն էներգիայով ապահովվում են անաէրոբ փոխանակության ակտիվացման շնորհիվ: Այս տեսակետից մեծ դեր է կատարում սուկցինատդեհիդրոգենազա ֆերմենտը: Այն շնչառական շղթայի գլխավոր օղակներից մեկն է և լինելով բացառապես անաէրոբ փոխանակությունն իրականացնող ֆերմենտ, օժտված է "մենաշնորհ" փոխհատուցողական դերով, այսինքն, արտակարգ գործոնների ազդեցությունից ստեղծված թթվածնաքաղցի պայմաններում հյուսվածքներին ապահովում է էներգիայով [4, 13]:

Այսպիսով, ստացված տվյալներից հետևում է, որ մատուտակի (*Glycyrrhiza glabra* L.) արմատների պատրաստուկը նվազեցնում է առնետների շրջանառու արյան կատալազա ֆերմենտի ակտիվությունը, որը վկայում է օրգանիզմում H_2O_2 -ի սինթեզի ճնշման մասին: Ունենալով կորտիկոստերոիդանման ազդեցություն, մատուտակը խթանում է էրիթրոպոեզը և օժտված լինելով հակաօքսիդանտային հատկությամբ, բարձրացնում է թրթռահարված առնետների օրգանիզմի ռեզիստենտությունը և ակտիվությունը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Алешин Б.В., Генес С.Г., Возралик В.Г. Руководство по эндокринологии. М., Медицина, 231-265, 1973.
2. Артамонова В.Г., Шаталов Н.Н. Профессиональные болезни. М, 125-157, 1988.

3. Баскович Г.А., Тхоржевская З.С. и др. Гематол. и трансфузиол. 3, 13-16, 1993.
4. Белокриницкий В.С., Никитина Н.Г. Врачебное дело. 3, 127-131, 1976.
5. Березов Т.Т. Руковод. к лаборатор. занят. по биологич. химии. М., 81-83, 1976.
6. Йорданов Д., Николов П. и др. Фитотерапия, лечение лекарственными травами. Медицина и физкультура. София. 172-173, 1976.
7. Карпова Н.И. Вибрация и нервная система. М., 1976.
8. Корнеев Г. Физиология эндокринной системы. Л., Наука, 292-324, 1979.
9. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Лаб. дело, 1, 16-18, 1988.
10. Лобачева Г.В., Петина В.П. Гигиена и санитария. 10, 78-80, 1986.
11. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Т. 1, Харьков, 345-346, 1997.
12. Мельникова М.М. Медицина труда и промышленная экология, 5, 36-42, 1995.
13. Оганисян А.О., Оганесян К.Р. 2-ая конф. Укр. общ. нейронаук. Донецк, 59-60, 2001.
14. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям. Фитотерапия. М., Медицина, 208-211, 1988.
15. Чуксеева Т.П. Диагностика и методы повышения функциональной подготовленности спортсменов. Волгоград, 94-99, 1980.

Поступила 12.XI.2001

ЦИРКУЛЯЦИЯ АРБОВИРУСОВ И ИХ ПЕРЕНОСЧИКОВ В АРМЕНИИ

С.А. ШАХНАЗАРЯН*, Д.В. МАНУКЯН*, А.С. ОГАНЕСЯН*,
Ю.Т. АЛЕКСАНИЯН*, Э.Н. АКОПЯН*, Г.Р. АКОПЯН*,
Н.О. БАРНАБИШВИЛИ**

*НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии
им. А.Б.Алексаняна МЗ Армении, 375009, Ереван

**Национальный центр контроля заболеваний Минздрава
Республики Грузия, г. Тбилиси

В Армении за 1986-1996 гг. от клещей и комаров выделено и идентифицировано более 100 штаммов различных арбовирусов. Вирусы Батаи, Западного Нила, клещевого энцефалита, Синдбис и Гета выделены впервые.

1986-1996 թթ. Հայաստանում տզերի և մոծակների վիրուսաբանական հետազոտություններից անջատվել են և իդենտիֆիկացվել 100 - ից ավելի վիրուսային շտամներ: Ընդ որում, Բատայի, Արևմտյան Նեղոսի, տզային ուղեղաբորրի, Գետայի եւ Սինդբիսի վիրուսները հայտնաբերվել են առաջին անգամ:

More than 100 strains of different arboviruses during the period of 1986-1996 were isolated and identified. Batai, West Nile, tick - born encephalitis, Sindbis and Geta viruses were isolated for the first time in Armenia.

Арбовирусы - экология арбовирусных инфекций

Первые исследования арбовирусов в Армении относятся к 1968-1972 гг, когда серологическими исследованиями было установлено наличие арбовирусных инфекций [8, 14]. Был начат поиск арбовирусов на территории республики вирусологической лабораторией Республиканской СЭС в комплексе с Институтом полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. В результате исследований ряда авторов [9-13] было выделено 13 штаммов арбовирусов, относящихся к трем вирусам: Крымской геморрагической лихорадке (КГЛ), Бханджа, Дхори. Впервые были изолированы от пастбищных клещей 4 - х видов 7 штаммов вируса КГЛ, в том числе 4 штамма от клещей *Hyalomma plumbeum plumbeum* и по одному из клещей *H. anatolicum*, *Boophilus calcaratus* и *Rhipicephalus bursa*. Штаммы вируса КГЛ выделены в пяти районах пояса горных степей. Вирус Бханджа изолирован при обследовании клещей *Dermacentor marginatus*, снятых с овец в двух районах, расположенных в горно - степном поясе. Из этих клещей, снятых с овец в одном горном районе республики, выделен еще один штамм вируса Дхори. Вирусологическая разведка, проведенная в Армении с 1972 по 1975 гг. сотрудниками Института им. Д.И. Ивановского АМН СССР и ИЭВиМП им. А. Б. Алексаняна, позволила выделить и изучить три вируса: Бханджа, Раздан и Арташат. Последние два являются новыми для науки. Вирусы Бханджа и Раздан выделены от клещей *D. marginatus* в районах озера Севан, а вирус Арташат - от *Alectorobius (Ornithodoros) alactagalis*, собранных из нор грызунов в Арташатском районе [2, 3, 7, 15].

С 1976 по 1980 гг. сотрудниками ИЭВиМП им. А. Б. Алексаняна продолжалось изучение распространения арбовирусов в республике. Эти исследования включали энтомологические, вирусологические и серологические обследования членистоногих, позвоночных животных и населения. За этот период вирусологическими исследованиями клещей и комаров выделено 9 штаммов арбовирусов. От клещей *Alveonassus lahorensis* из двух районов изолировано 2 штамма КГЛ [1], от *H. asiaticum* с. Зовашен Арташатского района - вирус Зовашен (новый для науки) [6] и Аштаракского - вирус Тамды [5]. Из смешанного пула комаров *Culex pipiens* и *Aedes caspius* в Арташатском районе изолирован вирус Тягиня [4].

Цель настоящей работы заключалась в обобщении данных за 1986-1996 гг. по изучению циркуляции арбовирусов и выяснению роли кровососущих членистоногих в качестве возможных переносчиков арбовирусов в Республике Армения.

Материал и методика. В различных природно - климатических поясах, включающих 109 населенных пунктов, 27 административных районов Армении за период с 1986 по 1996 гг., проведен сбор комаров и клещей. Комаров собирали из дневных убежищ, иксодовых клещей - со скота при осмотрах на пастбищах, кошением с растительности на флаг и волокушу, а аргасовых клещей - из зимних овчарен, где они концентрировались в трещинах стен и балок. Выловлено всего 59202 комара, 40200 иксодовых и 1159 аргасовых клещей. После энтомологической идентификации материал был сгруппирован и до вирусологических исследований хранился в сосудах Дьюара в жидком азоте при температуре -196°. Вирусологическому исследованию подвергнут также мозг 13 диких птиц, 17 грызунов и биоматериал (кровь и спинномозговая жидкость) остролихорадящих больных с неясной этиологией.

Выделение вирусов проводили на 1-2-дневных мышах-сосунках заражением в мозг. После инкубационного периода на пике клинических проявлений у животных брали мозг. Из мозга готовили антиген по общепринятой методике. Дальнейшую идентификацию вирусных агентов методами РСК и ИФА проводили в лаборатории арбовирусов Национального центра контроля заболеваний Департамента общественного здравоохранения МЗ Республики Грузия. Все сыворотки, антигены и ИФА - конъюгаты для идентификации арбовирусов - были получены из лаборатории экспериментального производства Института вирусологии им. Д.И.Ивановского АМН СССР. Все эти препараты прошли испытания в Институте стандартизации и контроля им. Л.А.Тарасевича. Лаборатория арбовирусов этого центра работала только с полевым и клиническим материалом. Эталонные штаммы вирусов имелись только в музее вирусов, в совершенно разных лабораториях, что исключает возможность контаминации вирусов исследуемого материала музейными штаммами вирусов.

Результаты и обсуждение. В процессе сбора материала на территории Республики Армения была произведена работа по выявлению фауны кровососущих членистоногих, их биологических ниш наиболее многочисленных видов. Выловлено 59202 комара, из коих 43674 комара *Anopheles* (73,7%), 9837 *Culex* (16,6%) и 5691 *Aedes* (9,6%). Видовой состав комаров был представлен 4 видами *Anopheles*: *An. maculipennis*, *An. claviger*, *An. hyrcanus*, *An. superpictus* и 3 видами неалярийных комаров - *C. pipiens*, *C. theileri* и *Ae. caspius*.

В целом по республике в течение последних лет наблюдается возрастание численности рода *Anopheles*. Установлено, что наиболее массовыми видами

комаров в изучаемых местностях являются *An. maculipennis*, *C. pipiens*, *C. theileri*. В помещениях комары появлялись со второй декады июня, заметные подъемы численности отмечены в начале июля и в конце августа. Для суждения о состоянии популяции комаров были проведены дополнительно экстенсивные обследования в трех районах республики. Обследовались жилые помещения, хлева, курятники, свинарники и другие подсобные помещения, в которых производился полный вылов комаров. Среднее обилие комаров *Anopheles* равнялось 5.8-4.3, а обилие на одно помещение с добычей достигало 53.2-43.4. Среднее обилие *Culex* в хлевах равнялось 3.9-2.6, а в жилых помещениях - 0.9-0.4.

Кроме комаров, из разных климатических поясов республики собрано 40200 иксодовых клещей 12 видов, 1159 аргасовых клещей одного вида *A. lahorensis*. Из иксодовых клещей самым многочисленным и распространенным оказался *D. marginatus*. Этот вид чаще был отмечен при сборах с мелкого рогатого скота. Индекс доминирования составил 70.3%. Другими фоновыми видами были: *H. asiaticum* - 4.1%, *B. annulatus* - 4.0%, *Haemaphysalis sulcata* - 3.6%, *H. punctata* - 3.5%, *Rh. bursa* - 3.2%, *Ixodes ricinus* - 3.0%, *Rh. sanguineus* - 2.3%, *D. verticillatus* - 2.0%, *H. marginatus* - 2.0% и *H. parva* - 2.0%. Максимальная встречаемость клещей на животных в разных районах колебалась от 67.3% до 87.6%. В динамике активности клещей отмечено два подъема: весенний и осенний.

Результаты выделения арбовирусов от комаров и клещей представлены в табл. 1.

Таблица 1. Изоляция арбовирусов за период 1986 - 1996 гг.

NN п/п	Количество штаммов	Вид членистоногого	Арбовирусы
1	6	5 - <i>An. maculipennis</i> 1 - <i>An. maculipennis</i> + <i>C. pipiens</i>	Тягиня
2	28	17 - <i>An. maculipennis</i> 11 - <i>An. maculipennis</i> + <i>C. pipiens</i>	Батаи
3	22	12 - <i>An. maculipennis</i> 10 - <i>An. maculipennis</i> + <i>C. pipiens</i>	ЗН
4	12	<i>An. maculipennis</i> + <i>Ae. caspius</i>	Гета
5	14	4 - <i>An. maculipennis</i> + <i>An. claviger</i> 10 - <i>An. maculipennis</i> + <i>Ae. caspius</i>	Синдбис
6	4	<i>An. maculipennis</i>	КЭ
7	4	<i>D. marginatus</i>	ЗН
8	3	<i>D. marginatus</i>	КГЛ
9	10	<i>D. marginatus</i>	Дхори
10	2	<i>D. marginatus</i>	Бханджа
11	6	<i>D. marginatus</i>	КЭ
12	3	<i>Rh. bursa</i>	КЭ
13	4	<i>Rh. sanguineus</i>	КЭ
14	2	<i>Hi. asiaticum</i>	КЭ
15	3	<i>B. annulatus</i>	КЭ

Как видно из представленных данных, нами впервые в республике выделено 28 штаммов вируса Батаи, причем 17 от *An. maculipennis* и 11 от смешанного пула *An. maculipennis* и *C. pipiens* (Аштаракский, Абовянский и Армавирский районы). От комаров выделены и вирусы Западного Нила (ЗН) - 12 штаммов от *An. maculipennis* и 10 - от смешанного пула *An. maculipennis* и *C. pipiens*; вирус Гета - 12 штаммов - от смешанного пула *An. maculipennis* и *Ae. caspius*; вирус Синдбис - 14 штаммов, причем 4 - от смешанного пула *An. maculipennis* и *An. claviger* и 10 - от *Ae. caspius* и *An. maculipennis*. Вирусы Гета, ЗН и Синдбис выделены в четырех районах республики: Армавирском, Арташатском, Аштаракском и Абовянском. От комаров *An. maculipennis* выделен также вирус клещевого энцефалита (КЭ) - 4 штамма в Аштаракском районе.

Следует отметить, что вторично в республике выделено 6 штаммов вируса Тягиня - один штамм от смешанного пула *An. maculipennis* и *C. pipiens* (Армавирский район) и пять - от комаров *An. maculipennis*, отловленных в Армавирском и Арташатском районах. Вышеизложенное указывает на участие комаров в циркуляции арбовирусов в Армении. Установлено, что немалую роль в передаче арбовирусов играют и клещи. Как было указано выше, самым многочисленным и распространенным в обследованных местностях был *D. marginatus*, и не случайно, что именно от этого вида клеща выделены в Абовянском районе по 4 штамма вируса ЗН и КЭ, в Сисианском - 3 штамма КГЛ, из районов Севанского бассейна - 10 штаммов Дхори, 2 штамма Бханджа, в Капанском районе - 2 штамма КЭ. От клещей *Rh. sanguineus* выделено 4 штамма КЭ: 2 - в Тавушском районе, 2 - в Вайкском районе, от *Rh. bursa* - 3 штамма в Вайкском районе. Пять штаммов выделены от клещей *H. asiaticum* и *B. annulatus*, из них 4 - в Тавушском районе, 1 - в Вайкском районе.

При вирусологическом исследовании мозга птиц и грызунов получен отрицательный результат, а при исследовании спинномозговой жидкости и крови неврологических и остролихорадящих больных с неясной этиологией выделено три инфекционных окончательно неидентифицированных агента.

Таким образом, за период 1986 - 1996 гг. на территории Армении нами было выделено и идентифицировано более 100 штаммов различных арбовирусов. Вирусы ЗН, КЭ ассоциированы с комарами и клещами. Вирусы Батаи, ЗН, КЭ, Синдбис и Гета выделены в Республике Армения впервые. Полученные данные, наряду с данными ранее проведенных исследований, свидетельствуют о широкой циркуляции арбовирусов в Армении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисян В.А., Чубкова В.И., Закарян В.А., Акопян Г.С., Манукян Д.В., Шахназарян С.А., и др. Сб. Актуальные вопросы краевой инфекционной патологии; 7, 155 - 157, Ереван, 1986.
2. Закарян В.А., Громашевский В.Л., Акопян Г.С., Скворцова Т.М. Сб. Экология вирусов, 2, 82 - 84, М., 1974.

3. Закарян В.А. Автореф. канд. дисс., М., 1975.
4. Закарян В.А., Шахназарян С.А., Манукян Д.В., Овсепян Л.А. Сб. Экология вирусов, 100 - 102, М., 1980.
5. Закарян В.А., Скворцова Т.М., Шахназарян С.А., Акопян Г.С. и др. Сб. Актуальные вопросы краевой инфекционной патологии; 7, 161-164, Ереван, 1981.
6. Закарян В.А., Аветисян В.А., Чубкова В.И., Акопян Г.С., Шахназарян С.А., Манукян Д.В. и др. Сб. Актуальные вопросы краевой инфекционной патологии. 7, 157 - 161, Ереван, 1981.
7. Львов Д.К., Тимофеева А.А., Громашевский В.Л., Карась Ф.Р., Скворцова Т.М. и др. Вопросы мед. вирусологии, 322 - 324, М., 1975.
8. Матевосян К.Ш., Карасева П.С., Решетников А.А., Семенов Б.Ф. Актуальные проблемы вирус. и профилак. вирус. заболеваний, 303, М., 1972.
9. Матевосян К.Ш. Автореф. канд. дисс., М., 1974.
10. Матевосян К.Ш., Семашко И.В., Рубин С.Г., Чумаков М.П. Мед. паразит., 22, 173 -175, М., 1974.
11. Матевосян К.Ш., Семашко И.В. Экспер. и клин. медицина АН Арм. ССР, 16, 6, 38, Ереван, 1976.
12. Семашко И.В., Матевосян К.Ш., Пиванова Г.П., Чумаков М.П. Мед. вирусология, 21, 2, 160 - 164 М., 1973.
13. Семашко И.В. и др. Итоги работ в 1972 - 1974 гг. по выделению и изучению вирусов КГЛ - Конго, Дхори и Бханджа в Азербайджане и Армении, 354 - 355, М., 1975.
14. Туманян Н.Н., Ананян С.А., Чубкова А.И. Тр. Ин-та полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР, 12, 347 - 353, М., 1968.
15. Lvov D.K., Gromashewsky V.L., Zakaryan V.A. et al. Acta virol., 22, 506 - 508, 1978.

Поступила 16.XI.2001

ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА ВАС-195 НА СОСТОЯНИЕ АДЕНИЛОВОЙ СИСТЕМЫ В ТКАНЯХ ПРИ РАДИАЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ

П.А. КАЗАРЯН, А.А. ПЕПАНЯН, Л.С. СААКЯН

Республиканский гематологический центр МЗ Армении, 375014, Ереван

Установлено, что введение препарата ВАС-195 после ионизирующего облучения сопровождается определенной нормализацией уровня АТФ, АДФ и АМФ в клетках печени, миокарда, легких и коркового слоя почек.

Հաստատված է, որ իոնիզացնող ճառագայթումից հետո ՎԱՍ-195 պրեպարատի ներարկումը ուղեկցվում է լյարդի, սրտամկանի, թոքերի և երիկամների կեղևային շերտի քիմիկատներում ԱՏՖ-ի, ԱԿՖ-ի և ԱՄՖ-ի մակարդակի որոշակի նորմալացմամբ:

It is revealed, that after ionizing irradiation the injection of VAS-195 preparation is accompanied with the definite normalization of ATP, ADP and AMP level in the cells of liver, myocardium, lungs and cortical layer of kidneys.

Адениновые нуклеотиды - радиация - препарат ВАС-195 - печень - миокард - почки - легкие

Биосинтез нуклеиновых кислот (НК) является одним из наиболее радиочувствительных метаболических процессов в клетке, механизмы радиационного нарушения которого в тканях еще недостаточно выяснены. В то же время пострадиационные изменения фонда свободных предшественников НК могут быть одним из механизмов нарушения нуклеинового обмена в клетках тканей облученного организма [4, 9].

Исследования механизма действия радиозащитных веществ в противолучевом эффекте с несомненностью показывают, что многие из защитных агентов оказывают благоприятное действие на выживаемость животных именно благодаря влиянию на процессы биосинтеза НК в органах и тканях облученных организмов [4-9].

Известно, что большинство метаболитов, принимающих участие в синтезе ДНК, белковой или нуклеотидной природы. Поэтому в последнее время было обращено внимание на то, что нормализовать метаболизм ДНК и РНК в облученной клетке можно с помощью продуктов нуклеинового обмена (пуриновые и пиримидиновые производные, нуклеозиды и нуклеотиды).

В настоящее время факт нарушения энергетического обмена в тканях животного организма под воздействием ионизирующих излучений является общепризнанным. Заметное уменьшение содержания АТФ в тканях имеет место в период клинических проявлений лучевой патологии. Разобшение окислительного фосфорилирования считают первичным биохимическим проявлением лучевого поражения, чем подчеркивается роль этих нарушений в патогенезе лучевой болезни [2, 11, 12].

Для выяснения патогенетического значения разобшения окислительного фосфорилирования в развитии лучевой патологии, а также для уточнения зависимости развития и исхода лучевых повреждений от наличия и степени

выраженности дефицита макроэргов необходимо прежде всего изучение содержания адениновых нуклеотидов различной степени фосфорилирования в тканях при ионизирующем облучении.

В настоящее время существует целый ряд препаратов, способных стимулировать процессы регенерации и репарации, усиливать первичный и вторичный иммунные ответы, повышать неспецифическую резистентность организма. К числу таких биологически активных веществ относится и препарат ВАС-195 - производное двуазотсодержащего пятичленного гетероциклического соединения - гидразид пиразолона, синтезированный на кафедре органической химии Ереванского государственного университета [3]. Исследованиями, проведенными в НИЛ Гематологического центра МЗ РА, доказано мембраностабилизирующее действие этого соединения. Установлено его нормализующее действие на качественный и количественный состав фосфолипидов биомембранных структур клеток различных тканей у облученных животных; установлено значительное подавление процессов ПОЛ [6-8]. Следовало ожидать, что ВАС-195 оказывает также регулирующее действие на метаболизм адениновых нуклеотидов в тканях облученных животных.

Все вышеизложенное послужило основанием для изучения содержания адениновых нуклеотидов в тканях при ионизирующем облучении и после применения препарата ВАС-195.

Материал и методика. Исследования проводили на белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-210 г. Животных подвергали однократному общему облучению в дозе 3 Гр при помощи установки РУМ-17; фокусное расстояние - 60 см, мощность дозы - 0.26 Гр/мин. Облученным крысам однократно в течение трех дней внутрибрюшинно вводили препарат ВАС-195 в виде 2 %-ного водного раствора из расчета 10 мг/кг массы животного.

Нуклеотиды экстрагировали в 6%-ной хлорной кислоте [5]. Фракционирование адениновых нуклеотидов осуществляли методом ТСХ [10] на силикагеле марки ЛС 5/40 мк (ЧССР). Идентификацию нуклеотидов производили с помощью свидетелей (стандартов), а затем в каждой фракции определяли количество неорганического фосфора [13]. Оптическую плотность фракций измеряли на СФ-46 при 815 мкм. Количество нуклеотидов рассчитывали по формуле с использованием коэффициентов молярных экстинкций.

Для оценки соотношений активности энергосинтезирующих и энергоутилизирующих систем клеток использовали показатель энергетического заряда (ЭЗ) [15]:

$$\text{ЭЗ} = 2 (\text{АТФ}) + \text{АДФ} / 2 \text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ}$$

Рассчитывали соотношение АТФ/АДФ [14]. Соотношение прямых и обратных процессов преобразования АДФ в аденилаткиназной реакции рассчитывали по коэффициенту K_K :

$$K_K = (\text{АТФ}) \cdot (\text{АМФ}) / \text{АДФ}^2 \quad [14].$$

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия достоверности и различий Фишера-Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Действие ионизирующей радиации характеризуется ярко выраженными изменениями показателей адениловой системы во всех изученных тканях подопытных животных. Облучение сопровождается статистически достоверным снижением количества АТФ как в печени (рис. 1, а), так и в легких (рис. 1, б), миокарде (рис. 2, а) и в корковом слое почек (рис. 2, б). Наиболее существенным является снижение этого показателя в гепатоцитах и кардиомиоцитах. Уменьшение содержания

основного макроэрга сопровождается заметным изменением процентного содержания моно- и дифосфорных производных аденозина и, соответственно, соотношения АТФ/АДФ. При этом имеет место статистически достоверное повышение уровня АМФ в клетках печени, миокарда и почек облученных животных. Аналогичная картина наблюдается и в случае АДФ. В ткани легких, по нашим данным, уровень изученных показателей не подвергается статистически достоверным отклонениям от нормы. Обнаруженные изменения приводят к значительному понижению коэффициента соотношения АТФ/АДФ. Наблюдается явно выраженная тенденция к снижению ЭЗ во всех изученных тканях, тогда как K_K заметно уменьшается в гепатоцитах, кардиомиоцитах и клетках коркового слоя почек (рис. 1, 2).

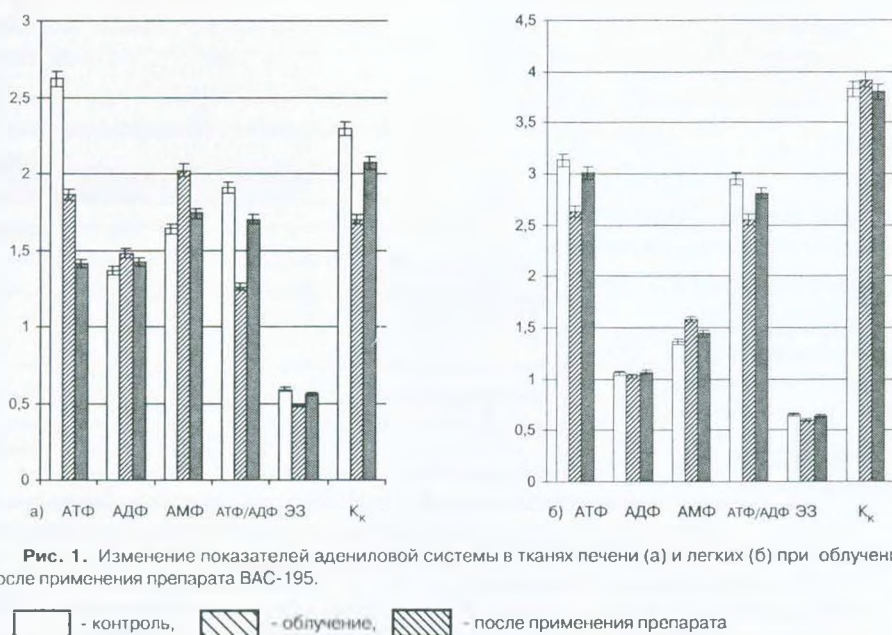


Рис. 1. Изменение показателей адениловой системы в тканях печени (а) и легких (б) при облучении и после применения препарата ВАС-195.

□ - контроль, ▨ - облучение, ▩ - после применения препарата

Таким образом, действие ионизирующего облучения сопровождается существенными изменениями в содержании адениловых производных в клетках печени, почек, миокарда и легких, что в свою очередь приводит к снижению уровня АТФ, ЭЗ и K_K , а также соотношения АТФ/АДФ. Одной из существенных закономерностей в изменениях содержания адениннуклеотидов при облучении является достоверное повышение количества нуклеозидмонофосфатов на фоне заметного снижения концентрации нуклеозидтрифосфатов.

Как известно, обмен фосфатных групп в адениловых соединениях осуществляется путем последовательного фосфорилирования, дефосфорилирования и перефосфорилирования в различных метаболических процессах клеток организма. В связи с этим полученные нами данные позволяют сделать предположение о существовании прямой связи между

указанными сдвигами и расстройствами ферментативных процессов фосфорилирования и дефосфорилирования макроэргических соединений. Именно дисбаланс в реакциях обмена макроэргов определяет резкое увеличение количества монофосфатов в условиях гипоксии и преобладания процессов деградации АТФ над их синтезом [11, 12]. Повышение содержания моно- и в некоторых радиочувствительных тканях (печеночная) дифосфорных производных аденозина может быть и результатом интенсификации процессов биосинтеза нуклеотидов этого ряда. Нет сомнений, что к числу возможных причин уменьшения содержания трифосфатов можно отнести также угнетение активности ферментов тканевого дыхания и подавление окислительного фосфорилирования.

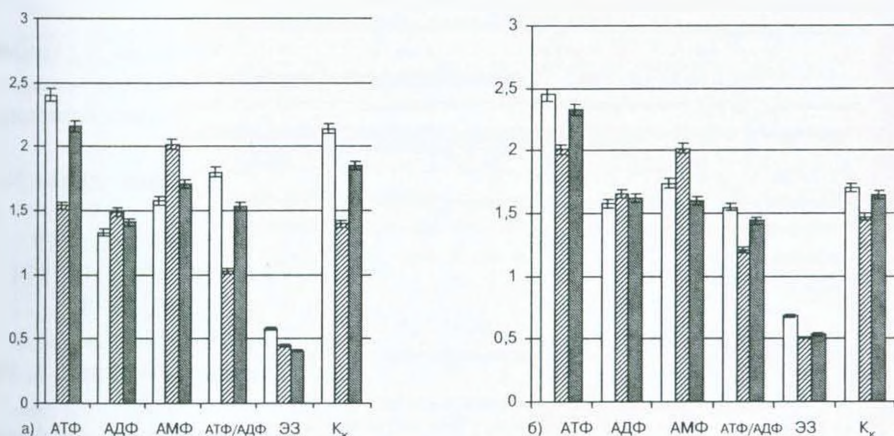


Рис. 2. Изменение показателей адениловой системы в миокарде (а) и почках (б) при облучении и после применения препарата ВАС-195. (Обознач. см. рис. 1).

С целью коррекции нарушенных метаболических процессов в энергетическом обмене в последующих исследованиях нашли целесообразным применение препарата ВАС-195, характеризующегося, как отмечалось выше, регулирующим действием на другие пострadiaционные нарушения клеточного метаболизма [6-8]. После трехкратных инъекций препарата ВАС-195 наблюдалась явно выраженная тенденция к нормализации уровня адениновых нуклеотидов во всех изученных тканях облученных животных (рис. 1, 2), причем эти изменения наиболее выражены со стороны АТФ и АМФ. В этих условиях общее количество адениннуклеотидов и уровень АДФ полностью нормализуется. Наблюдается определенная коррекция и со стороны остальных показателей адениловой системы, главным образом соотношения АТФ/АДФ и К_к.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет заключить, что при лучевой патологии гидразид пиразолона оказывает корригирующее действие на соотношение компонентов адениловой системы, являющихся важнейшими аллостерическими регуляторами клеточного обмена. Этот факт в совокупности с полученными нами результатами ранее проведенных исследований [6-8] указывает на целесообразность применения препарата

ВАС-195 в качестве эффективного мембраностабилизатора, регулирующего также процессы энергообеспечения организма при ионизирующем облучении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асоян А.У., Казарян П.А., Арутюнян В.С. и др. Биолог. журн. Армении, 52, 3-4, 233-236, 1999.
2. Воскобойников Г.В. Вопросы мед. химии, 16, 4, 343-348, 1970.
3. Гусева С.С., Корпанова И.Г., Парупакян Е.А. и др. Авт. свид. СССР N 1510116, 1987.
4. Дэвидсон Дж. Биохимия нуклеиновых кислот. М., Мир, 1976.
5. Захарова Н.Б., Рубин В.И. Лабораторное дело, 12, 735-739, 1980.
6. Казарян П.А. В сб.: "Актуальные проблемы экспер. и клинич. медицины". Ереван, 451-468, 1998.
7. Казарян П.А., Асоян А.У., Саакян Л.С. и соавт. Вопр. экспер. и клинич. медицины, 12, 2, 31-34, 1999.
8. Казарян П.А., Вартамян М.С., Карагезян К.Г. и др. Мед. наука Армении, 38, 1-2, 28-36, 1999.
9. Кузин А.М. Молекулярная радиобиология клеточного ядра. М., Атомиздат., 1973.
10. Куделин Б.К., Каминский Ю.Л. и др. Биохимия, 2, 14, 368-371, 1979.
11. Савицкий И.В., Литовченко И.Н. Радиобиология, 1, 14, 108-110, 1974.
12. Савицкий И.В., Нагиев Э.Р. Радиобиология, 23, 2, 237-240, 1983.
13. Светашев В.И. Автореф. канд. дисс., Владивосток, 25, 1973.
14. Шакиров Д.Ф., Фархутдинов Р.Р., Мамин И.Р. Токсикол. Вестник, 3, 20-27, 2000.
15. Atkinson D.E. Cellular Energy Metabolism and Its Regulation. Academic Press, 1977.

Поступила 19.XII.2000

ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНО - ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ РАВНОВЕСИЕ

А.Е. ЗАКАРЯН, С.А. ГОНЯН, Н.А. САРКИСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 375025

Исследовалось влияние противоопухолевых препаратов на свободнорадикальный окислительный процесс и величину окислительно-восстановительного потенциала биологической мишени (БМ). Выяснилось, что исследуемые соединения подавляют процесс перекисного окисления липидов в разной степени, что отражается в уменьшении интенсивности спонтанной хемилюминесценции (ХЛ). Показано, что испытуемые противоопухолевые препараты снижают также величину окислительно-восстановительного потенциала, из чего следует, что они выступают как восстановители окислительных процессов.

Հետազոտված է հակառնուցային արեպարատների ազդեցությունը կենսաբանական թիրախի ազատ ռադիկալային օքսիդացման պրոցեսի և օքսիդավերականգնման պոտենցիալի վրա: Բացահայտված է, որ բոլոր հետազոտվող արեպարատները ճնշում են լիպիդների զերօքսիդային օքսիդացումը, որը արտահայտվում է քիմիլումինեսցենցիայի մակարդակի նվազմամբ: Ցույց է տրված, որ հակառնուցային արեպարատները իջեցնում են նաև օքսիդավերականգնման պոտենցիալի արժեքը, որից հետևում է, որ նրանք հանդես են գալիս որպես օքսիդացման պրոցեսների վերականգնիչներ:

The influence of some anticancer preparations on free radical oxidative process and redox potential was investigated. It was found out that these preparations suppress lipid peroxidation that is reflected by decrease of chemiluminescence. It was shown that investigated anticancer preparations reduce the value of redox potential therefore they behave as restorer of oxidative processes.

Противоопухолевые препараты - перекисное окисление липидов - спонтанная хемилюминесценция - окислительно-восстановительный потенциал - биологическая мишень

Создание и тестирование противоопухолевых препаратов (ПОП) с последующим выяснением природы и механизмов их действия является одной из актуальных проблем современных медико-биологических наук [3, 5]. Для решения такой задачи важное значение имеет выбор методических подходов и параметров, отражающих природу и механизм влияния изучаемых препаратов на живой организм. Перспективным направлением в этом аспекте может являться изучение свободнорадикального окисления липидов и липидсодержащих структур, а также величины окислительно-восстановительных потенциалов (ОВП) для оценки результативности действия указанных фармакологических соединений [6, 8]. Уровень перекисного окисления липидов, регулирующийся биоантиоксидантной системой организма, и величина ОВП (редокс - потенциал) исследуемых образцов могут рассматриваться как объективный и очень чувствительный показатель состояния организма [10, 7].

Нами исследовалось влияние ряда ПОП на свободнорадикальное окисление липидов и величину ОВП (Еh).

Материал и методика. Для тестирования ПОП в качестве биологической мишени был использован гомогенат мозга крупного рогатого скота в буферном растворе (0,175 М КСl : 0,25 М трисНСl, рН=7,4), приготовленном в соотношении 1:10 соответственно. Гомогенизацию проводили в течение 3 мин с помощью гомогенизатора Потера - Эвельхеима в условиях холода (в присутствии льда).

Были использованы противоопухолевые препараты из различных групп:

1.Алкилирующие: а) сарколизин - как химически чистое вещество, б) циклофосфан - препарат фирмы "Киевмедпрепараты", в) тиофосфамид - препарат фирмы "Мосхимфармпрепараты",

2.Антиметаболиты: а) 5-фторурацил - препарат фирмы "Дарница", Киев, б) фторафур - препарат фирмы "Мосхимфармпрепараты",

3. Вещества растительного происхождения: колхицин - как химически чистое вещество.

Интенсивность СХЛ измеряли на квантометрической установке [1] в импульсном режиме при температуре, близкой к физиологической ($40^{\circ} \pm 0,5$).

Определение величины ОВП осуществляли индифферентным платиновым электродом игольчатого типа [4, 2]. Электродом сравнения служил каломельный полуэлемент. Контакт такого элемента с объектом обеспечивали с помощью трубочек - сифонов, заполненных 3%-ным раствором агар - агара, приготовленным на насыщенном растворе КСl. Значение величины ОВП регистрировали рН-метром-121 после достижения постоянного уровня величины потенциала (10-15 мин).

Изучаемые препараты были использованы в конечной концентрации 10^{-3} М. Полученные результаты подвергались статистической обработке по критерию Стьюдента-Фишера и представлены в виде средних арифметических величин и их среднеквадратичных отклонений, что отражено на графиках и таблице данной работы.

Результаты и обсуждение. Для исследования действия некоторых ПОП

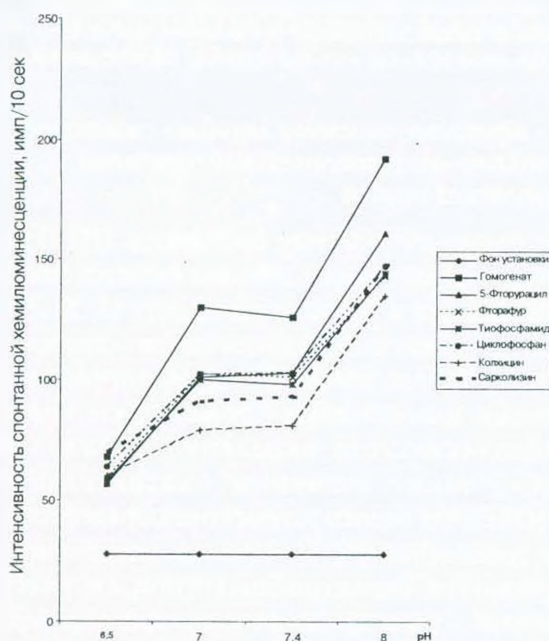


Рис. 1. Влияние противоопухолевых препаратов на спонтанную хемилюминесценцию гомогената мозга при различных значениях рН среды.

на СХЛ биологической мишени при различных значениях рН вначале регистрировали СХЛ гомогената мозга в объеме 2 мл, помещенного в оптическую кювету. Далее к испытываемому образцу добавляли исследуемый препарат. Уровень СХЛ биологической мишени принимали за исходную величину, а изменение ее интенсивности от воздействия противоопухолевых соединений служило мерой для оценки активности испытываемых препаратов.

Как следует из представленных данных, изучаемые ПОП в нейтральной среде (рН - 7,0)

неодинаково уменьшают уровень СХЛ (рис. 1). Наибольшее ингибирующее СХЛ действие наблюдали в случае колхицина (39%), а наименьшее - 5-фторурацила (22%). При изменении pH БМ от слабокислой до слабощелочной наблюдалось усиление СХЛ от 68 ± 2 имп/10сек (pH=6,5) до 192 ± 4 имп/10сек (pH=8,0), то есть, более чем на 282%, что согласуется с литературными данными [9]. При изучении pH-зависимого действия ПОП на СХЛ БМ отмечалось увеличение ингибирующей СХЛ активности исследуемых препаратов. Как видно из рис. 1, наибольшее

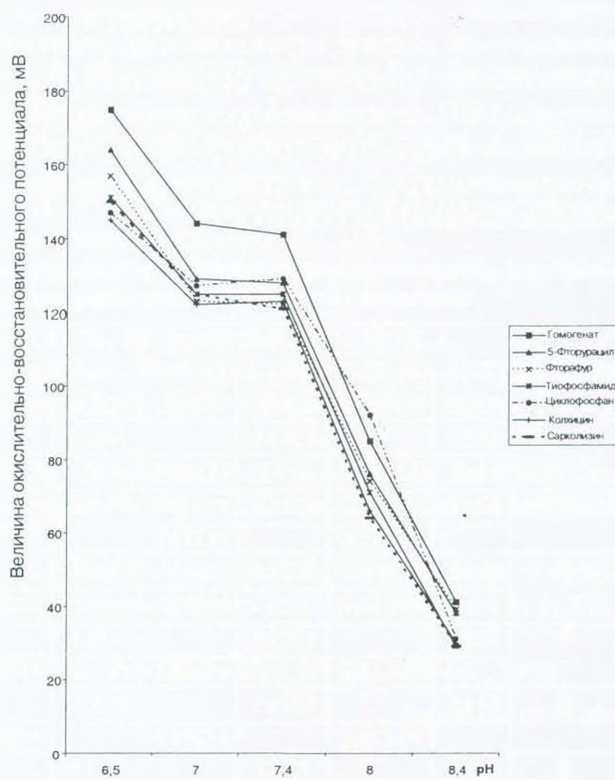


Рис. 2. Изменение величины окислительно-восстановительного потенциала гомогената мозга под действием противоопухолевых препаратов при различных значениях pH среды.

падение интенсивности свечения биологической мишени наблюдается при действии колхицина и фторафура (30% и 25% соответственно), а наименьшее - 5-фторурацила (16%).

Нами исследовалось также изменение величины ОВП БМ при действии изучаемых противоопухолевых соединений. Из полученных результатов (рис. 2) следует, что действие различных противоопухолевых соединений приводит к снижению величины ОВП БМ в разной степени, что указывает на восстановительный характер этих ПОП. Наибольшее угнетение окислительных процессов наблюдается при действии колхицина (15%), а наименьшее - 5-фторурацила (10%) (pH - 7,0). При изучении pH-зависимого действия исследуемых препаратов выяснилось, что с уменьшением значения pH эффект влияния этих препаратов на ОВП ослабляется. Так, при pH - 8,4 сарколизин и колхицин по сравнению с гомогенатом мозга, величина ОВП которого равна $+41 \pm 1$ мВ, вызывают уменьшение редокс - потенциала на 29% и 27% соответственно. При понижении pH до 6,5 величина ОВП БМ увеличивается до $+175 \pm 4$ мВ, однако сарколизин и колхицин, хоть и в небольшой степени, но снова снижают значение редокс - потенциала до $+150 \pm 4$ мВ и $+145 \pm 2$ мВ соответственно, а 5-фторурацил до $+164 \pm 4$ мВ.

Рассматривая полученные данные, можно прийти к выводу о наличии

определенной корреляции между данными, полученными при хемилюминесцентном анализе, отражающем интенсивность свободнорадикальных окислительных процессов, и результатами, полученными при изменении величины ОВП, отражающей состояние окислительно – восстановительного равновесия в организме (табл.1). Видно, что наблюдается отрицательная функциональная связь, то есть большим значениям уровня СХЛ соответствуют меньшие значения величины ОВП.

Таблица 1. Корреляции между интенсивностью спонтанной хемилюминесценции и величиной окислительно-восстановительного потенциала

ПОП \ рН	6,5		7,0		7,4		8,0		г
	СХЛ	ОВП	СХЛ	ОВП	СХЛ	ОВП	СХЛ	ОВП	
Г	68±2		130±8		126±6		192±4		-0,98
		+175±4		+144±1		+141±5		+85±1	
5-Ф	57±2		101±4		103±4		161±7		-0,999
		+164±4		+129±1		+128±2		+76±5	
Ф	59±6		102±5		91±6		143±4		-0,989
		+157±7		+123±1		+122±1		+74±6	
Т	58±6		100±3		88±8		144±4		-0,98
		+151±5		+125±1		+125±4		+71±4	
Ц	64±6		102±5		103±3		147±17		-0,948
		+147±3		+127±3		+129±4		+62±5	
К	60±6		79±3		81±5		135±4		-0,999
		+145±2		+122±3		+123±3		+66±5	
С	65±4		91±3		93±3		148±2		-0,998
		+150±4		+125±4		+121±1		+64±5	

Примечание: ПОП - противоопухолевые препараты, Г - гомогенат мозга, 5-Ф - 5-фторурацил, Ф - фторафур, Т - тиофосфамид, Ц - циклофосфан, К - колхицин, С - сарколизин, г - коэффициент корреляции.

Таким образом, анализируя полученные данные, можно предположить, что все исследуемые нами ПОП угнетают процесс свободнорадикального ПОЛ и действуют на ОВП. Как нам кажется, ингибирующее действие противоопухолевых соединений на СХЛ и ОВП обусловлено наличием у изучаемых препаратов подвижных атомов водорода, играющих определенную роль в восстановительных процессах свободнорадикального окисления с последующим снижением их уровня. Следовательно, при обсуждении механизмов биологического действия вышеуказанных препаратов, необходимо учитывать и их возможную антиокислительную роль для защиты мембранных структур и поддержания равновесия между ПОЛ и биоантиоксидантами во время малигнизации. Полученные данные могут быть учтены при использовании ПОП в клинике и объяснении природы механизмов их действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Закарян А. Е., Цагикян А. Р., Погосян Г. П., Паносян Г. А. Биолог. журн. Армении, 43, 1, 51-54, 1990.
2. Карагулян Э. А., Гонян С. А., Паносян Г. А. Вопросы биологии, 4, 120-129, Ереван, 1984.
3. Напалков Н. П., Филов В. А., Ивин Б. А., Германович М. Л. Лекарственная терапия опухолей в эксперименте и клинике, Л., 1983.
4. Сумаруков Г. В. Окислительное равновесие и радиочувствительность организмов, М., 1970.
5. Хлебнов А. Медицинская газета, 37, спец. вып. 2, 6, 1997.
6. Hamann D., Heinrich H. Radiobiol. Radiother. (Berl.), 30 (6), 527-534, 1989.
7. Khadir A., Verreault J., Averill D. A. Arch. Biochem. Biophys., Oct. 15, 370 (2), 163-175, 1999.
8. Kuzmenko A. I., Morozova R. P., Nikolenko I. A., Donchenko G. V. Jablonski Centennial Cont. Luminescence and Photophys., Torun, 23-27 July, 1998, Book Abstr. – Torun, p. 172, 1998.
9. Oosthuizen Mathys M. S., Engelbrecht Maureen E., Lambrechts Nugo, Greyling Dredre, Levyard D. J. Bioluminescence and Chemiluminescence, 1, 6, 277, 1997.
10. Ray S., Chakrabarti P. Indian J. Exp. Biol., May, 37 (5), 439-443, 1999.

Поступила 08.IV.2002

ЗАВИСИМОСТЬ ПОЛ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОТ ТЕПЛОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

А.Е. ЗАКАРЯН, А.Р. СУКИАСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 375028

Исследовались антиоксидантные свойства препаратов лекарственных растений (ЛР) в зависимости от теплового воздействия на них. В большинстве случаев теплообработка экстрактов ЛР сопровождалась активацией перекисного окисления липидов в последних, приводя к снижению ингибирующей способности изучаемых образцов. При этом почти во всех препаратах наблюдалось некоторое снижение активностей супероксиддисмутазы и пероксидазы.

Ուսումնասիրվել են դեղաբույսերի պատրաստուկների (ԴՊ) հակաօքսիդիչ հատկությունները կախված ջերմային ազդեցությունից: Մեծամասամբ ջերմային ազդեցությունը նպաստում է ԴՊ լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման ակտիվացմանը, որն իր հերթին հանգեցրել է ուսումնասիրվող փորձանմուշների հակաօքսիդիչ հատկության նվազմանը: Ինչպես նաև ջերմամշակման դեպքում բոլոր պատրաստուկներում նկատվում է սուպերօքսիդիչսմուտազի և պերօքսիդազայի ակտիվությունների նվազում:

The antioxidant properties of drug plant's preparations depending on thermal influence have been investigated. In the most of cases thermal influence on drug plant extracts is accompanied by intensification of lipid peroxidation in these samples decreasing of their inhibitory action. Also the thermal influence promotes some increasing of superoxid dismutase and peroxidase activities.

Лекарственные растения - перекисное окисление липидов - теплообработка - антиоксидантная активность - супероксиддисмутаза - пероксидаза

В организме существует определенный физиологический уровень свободнорадикальных процессов, необходимых для регуляции нормального функционирования липидного состава мембранных структур, баланса между антиоксидантной и прооксидантной системами, а также других метаболических процессов. Патологические повреждения в организме выступают своеобразными индукторами, вызывающими окислительные стрессы, приводя к интенсификации перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2]. Поэтому актуальными считаются исследования, посвященные изысканию и изучению препаратов, способных защитить организм от окислительных повреждений, в частности, исследования экстрактов лекарственных растений (ЛР), которые, обладая в основном комплексным воздействием на организм человека, способны регулировать возникшие активации свободнорадикальных окислений в липидсодержащих структурах [8, 10].

Целью данной работы явилось изучение антиоксидантной системы препаратов некоторых ЛР в зависимости от температурных режимов их экстракции.

Материал и методика. Объектом исследований служили экстракты ЛР из аптечных образцов коры дуба, трав зверобоя, полыни горькой, чистотела, шалфея и листьев крапивы. Для получения экстрагированных препаратов брали измельченные до порошка образцы ЛР и гомогенизировали в буферном растворе аппаратом Поттера-Эльвегейма. Полученный гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 5000 об/мин (центрифуга типа ОПн - 8), используя в дальнейшем надосадочную жидкость – супернатант. Тепловую обработку проводили путем выдерживания полученного супернатанта в кипящей водяной бане в разных экспозициях (10, 15, 20, 30 и 40 мин) с последующим охлаждением для определения конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА). При определении ферментативной активности супероксиддисмутазы (СОД) и пероксидазы были использованы препараты, подвергнувшиеся только 15-минутной теплообработке.

Содержание МДА в экстрактах ЛР определяли по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) методом [6]. Ингибирующую активность исследуемых препаратов изучали при действии последних на ПОЛ биологической мишени (супернатант гомогената мозга крупного рогатого скота). Количественное определение МДА проводили путем оценки оптической плотности образцов на спектрофотометре СФ-46 "ЛОМО" (Россия) при длине волны 532 нм и выражали в нмоль/мг белка [9].

Активность СОД измеряли методом, основанным на способности данного фермента конкурировать с нитросиним тетразолином (НСТ) за супероксидные анион-радикалы [7]. Для этого в измерительную кювету вносили по 0,5 мл растворов 1,06мМ рибофлавина, 21,5мМ метионина, 2,08 мМ НСТ, экстракта ЛР в 0,15М фосфатном буфере (рН 7,8) и 1мл 0,6мМ ЭДТА – буфера (рН 7,8). Оптическую плотность проб определяли при длине волны 560 нм, активность фермента выражали в относительных единицах на мг белка [4].

Активность пероксидазы в экстрактах ЛР (в 0,15М фосфатном буфере, рН 7,2) определяли по изменению оптической плотности продуктов окисления йодида калия через каждые 20 сек в течение 2 мин при длине волны 353 нм по методу [5].

Полученные результаты представлены в виде среднеарифметических величин и их стандартных ошибок с учетом критерия достоверности по Стьюденту-Фишеру.

Результаты и обсуждение. На

рис.1 представлены данные о содержании МДА в экстрактах ЛР. Установлено, что продление времени теплового воздействия на экстракты, как правило, сопровождается интенсификацией ПОЛ, выраженной увеличением количества МДА для препаратов из коры дуба, зверобоя и чистотела (кривые 1, 4, 3). Это увеличение много больше по сравнению с опытами крапивой и шалфеем (кривые 5, 2). В отличие от приведенных данных, обратная динамика образования ТБК - активного продукта наблюдается для экстракта полыни горькой (кривая 6). В этом случае увеличение времени теплообработки сопровождается понижению уровня ПОЛ. Приведенные данные хорошо коррелируют с результатами,

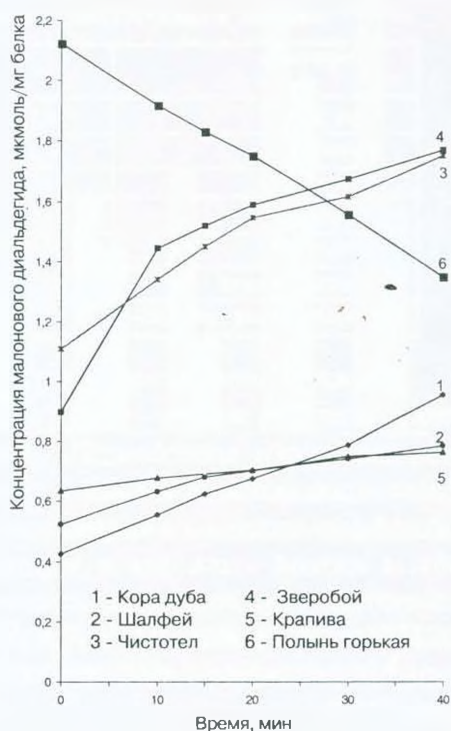


Рис. 1. Изменение концентрации малонового диальдегида при теплообработке экстрактов лекарственных растений.

полученными при изучении спонтанной хемилюминесценции экстрактов полыни горькой (содержащих термолабильные компоненты, достаточно быстро разрушающиеся даже при комнатной температуре (+20°) без соответствующей теплообработки) [3].

Далее изучали действие экстрактов ЛР на пероксидацию липидов биологической мишени, содержание МДА в котором принимали за контрольное значение, а его количественные изменения в присутствии экстрактов служили мерой антиоксидантной активности (АОА) последних. Полученные результаты (таблица 1) свидетельствуют, что не подвергшиеся теплообработке экстракты коры дуба, крапивы и шалфея подавляют уровень ПОЛ контрольных образцов в среднем на 77%, зверобоя и чистотела - на 62%, а полыни горькой - на 34%. В зависимости от теплового воздействия наблюдаются изменения и в степени ингибирующей активности экстрактов ЛР, при этом АОА теплообработанных экстрактов коры дуба, зверобоя, крапивы, чистотела и шалфея уменьшилась почти в 1,5 раз, а экстракт полыни горькой, наоборот, вызвал увеличение ингибирующей активности на 29%. Анализируя полученные данные, можно заметить, что количественные изменения значений МДА в общих чертах отражают картину АОА исследуемых препаратов ЛР.

Таблица 1. Изменения концентрации малонового диальдегида биологической мишени в присутствии препаратов лекарственных растений

Варианты	Концентрация МДА, нмоль/мг белка	
Кора дуба	4,100 ± 0,501	8,305 ± 0,655
Крапива	8,326 ± 0,787	9,280 ± 0,725
Шалфей	9,949 ± 0,407	12,370 ± 1,011
Зверобой	11,050 ± 0,479	18,813 ± 0,809
Чистотел	13,131 ± 0,942	13,689 ± 0,884
Полынь горькая	21,054 ± 0,934	15,878 ± 1,030
Биологическая мишень	31,717 ± 0,909	

В последующих экспериментах в экстрактах ЛР исследовали ферменты антиоксидантной защиты - СОД и пероксидазу - до и после теплообработки вышеописанным способом. Из представленных на рис. 2 данных по определению активности СОД в препаратах ЛР видно, что относительно высокой ферментативной активностью отличаются образцы крапивы и коры дуба, а низкой - шалфея и чистотела. Теплообработка приводила к незначительному повышению активности фермента в экстрактах коры дуба (на 36%) и подавляла в случае зверобоя (на 76%), при этом в остальных препаратах изменение активности СОД было незначительным (в среднем около 11 %).

Результаты по определению активности пероксидазы, обобщенные на рис. 3, показывают, что наибольшей ферментативной активностью

отличаются экстракты коры дуба и зверобоя, а наименьшей – чистотела и крапивы. Теплообработка исследуемых препаратов вызвала в основном уменьшение активности пероксидазы, что может являться причиной ослабления их АОО (табл. 1). Полученные результаты согласуются с известными литературными данными, согласно которым кипячение в наибольшей степени ингибирует пероксидазную активность в растительных объектах [1].

Таким образом, можно говорить об определенной связи между АОО препаратов ЛР и способом их приготовления. Согласно экспериментальным данным, в основном теплообработка изучаемых препаратов вызывает активацию ПОЛ, что может свидетельствовать об ослаблении их АОО, следовательно, и фармакологической эффективности. Полученные данные могут быть рекомендованы для выбора способов приготовления препаратов при их использовании в медицинской практике.

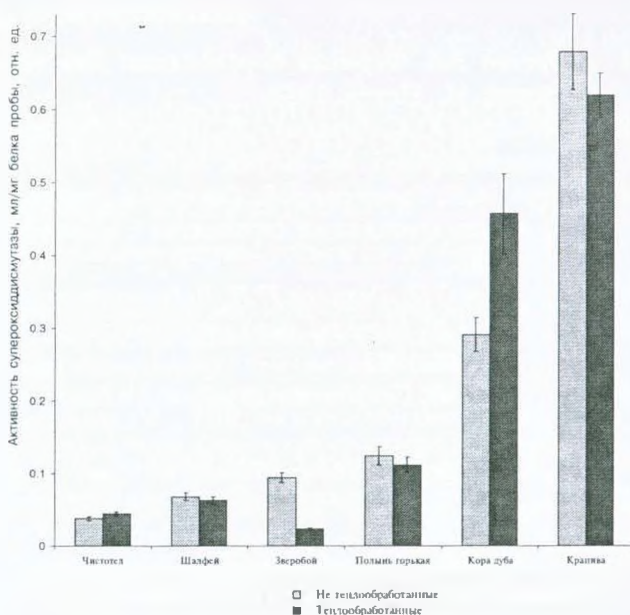


Рис. 2. Активность супероксиддисмутазы в экстрактах лекарственных растений.

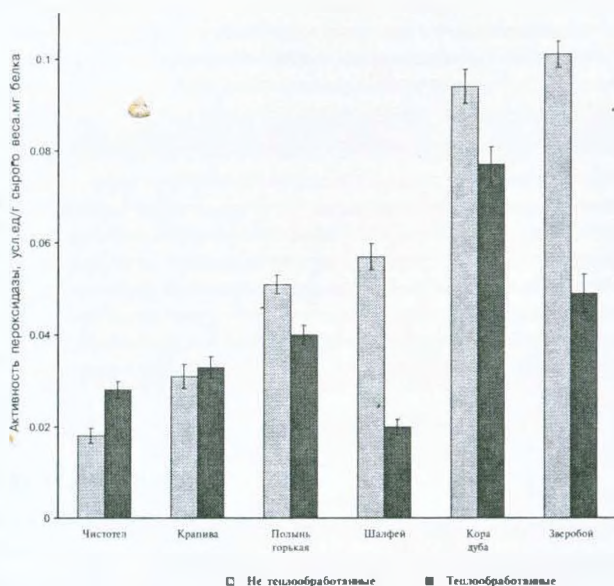


Рис. 3. Активность пероксидазы в экстрактах лекарственных растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева В.А. Фермент пероксидаза: Участие в защитном механизме растений. М., Наука, 1988.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., Наука, 1972.
3. Закарян А.Е., Сукиасян А.Р., Гонян С.А., Акопян Г.С. В кн.: Сборник научных трудов ассоциации терапевтов – интернистов Армении. Ереван, 3, 76-78, 2000.
4. Макаревич О.П., Голиков П.П. Лабораторное дело. 6, 24-27, 1983.
5. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования. Киев, Наукова думка, 41-43, 1982.
6. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии. М., Медицина, 66-68, 1977.
7. Beauchamp C., Fridovich I. Anal. Biochem., 41, 1, 276-287, 1971.
8. Desmarchelier C., Romao R.L., Coussio J., Ciccio G. J. Ethopharmacol, Oct., 67, 1, 69-77, 1999.
9. Lowry O.H., Roserbrough W.O., Farr A.L. J. Biol. Chem., 193, 1, 265, 1951.
10. Masaki H., Saçaki S., Atsumi T., Sakurai H. Biol. Pharm. Bull., Jan., 18, 1, 162-166, 1995.

Поступила 20.III.2002

РЕГУЛИРУЮЩАЯ РОЛЬ ФОСФОЛИПИДОВ В ЗАЩИТНОМ ЭФФЕКТЕ ПОЗДНИХ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЙ

И.В. АВЕТИСЯН, Е.Г. ДЖАНПОЛАДЯН

Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци, 375025

У крыс, подвергшихся однократному облучению летальной дозой радиации, на 30-е сутки выявлены глубокие деструктивные сдвиги в фосфолипидном составе кардиомиоцитов. Исследование радиозащитного действия иммуномодуляторов типа низкомолекулярных РНК (Ca^{2+} -РНК и нуклеината натрия) показало наличие такового у них. Установлено, что как Ca^{2+} -РНК, так и нуклеинат натрия повышали процент выживаемости животных, а также в определенной степени нормализовали качественные и количественные сдвиги на уровне фосфолипидного бислоя мембран. Анализ полученных данных свидетельствует о достаточно высокой противорадиационной активности Ca^{2+} -РНК.

Սահացու ղոգայով միանվագ ճառագայթման ենթարկված առնետների մոտ 30-րդ օրը կարդիոմիոցիտների Ֆոսֆոլիպիդային կազմում բացահայտվել են խորը դեստրուկտիվ փոփոխություններ: Ցածրամոլեկուլյար ՌՆԹ-ների (Ca^{2+} -ՌՆԹ և նատրիումի նուկլեինատ) տիպի ինունոմոդուլյատորների հետազոտությունը ցույց տվեց նրանց մոտ ռադիոպաշտպանողական ազդեցության առկայություն: Պարզվեց, որ Ca^{2+} -ՌՆԹ և նատրիումի նուկլեինատը բարձրացնում են կենդանիների կենսունակության տոկոսը, միաժամանակ զգալիորեն նորմալացնելով Ֆոսֆոլիպիդային երկշերտ թաղանթի մակարդակով քանակական և որակական խախտումները: Ստացված տվյալների վերլուծությունը վկայում է Ca^{2+} -ՌՆԹ-ի հակաճառագայթային բավական բարձր ակտիվության մասին:

In rats undergone the single irradiation with critical dosage there were revealed the profound destructive displacements in the phospholipid composition of cardiomyocytes after 30 days. The study of radioprotective action of the low-molecular immunomodulators (Ca^{2+} -RNK and sodium nucleinate) showed the presence of such shifts in their organisms. Either Ca^{2+} -RNK, or sodium nucleinate increased the percentage of animals' survival, and to a certain extent normalized the quantitative and qualitative displacements on the level of phospholipid bi-layer of membranes. The analysis of the received data gives an evidence of the rather high anti-radiative activity of Ca^{2+} -RNK.

Радиация - Ca^{2+} -РНК - нуклеинат натрия - фосфолипиды - миокард - стресс

Экспериментальными работами показано, что в медленно обновляющихся тканях, в частности миокарде, даже элементарные повреждения клеток, вызванные ионизирующей радиацией, не элиминируют, а постепенно накапливаются, понижая функциональные потенции органов [2, 3].

Структурные изменения клеточной поверхности, включая модификацию липидных компонентов плазматических мембран, в значительной степени являются первоосновой патологических изменений в организме. Функционирование интегральных мембранных белков, ферментов и переносчиков зависит от динамических свойств их липидного окружения [4]. Поскольку в поддержании гомеостаза клеток миокарда мембраны имеют особое значение, нам представлялось актуальным как с практической, так и с

теоретической точки зрения изучение действия иммуномодуляторов $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК и нуклеината натрия (НН) на качественные и количественные сдвиги в фосфолипидном составе кардиомиоцитов белых крыс на 30-е сутки после облучения их летальной дозой 6 Гр.

Материал и методика. Исследования были проведены на 130 беспородных белых крысах-самцах массой 200-220 г, разделенных на 4 группы. 1) норма – интактные животные; 2) контроль – облученные крысы (ОК); 3) ОК+ $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК; 4) ОК+НН.

В эксперименте использовали $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК, полученную по описанному ранее методу [1], и коммерческий препарат НН. Исследуемые препараты вводили животным в/б за 6 ч до облучения в следующих дозах: $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК – 150 мкг/крыса, НН – 50 мкг/крыса. Облучение проводили с помощью аппарата РУС-11 летальной дозой 600 рентген (6 Гр) в течение 15 мин, кожно-фокусное расстояние 50 см. Наблюдение за облученными животными продолжалось 30 дней, после чего животных забивали. Дальнейшие исследования по определению изменений в фосфолипидном составе проводили на миокарде облученных животных. При помощи хлороформ-метаноловой смеси фосфолипиды (ФЛ) извлекали из миокардиальной ткани и фракционировали в тонком слое силикагеля на пластинках фирмы "МЕРК" с использованием в качестве свидетелей ФЛ фирмы "Сигма". Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде с серной и азотной кислотами. Количество ФЛ определяли по содержанию фосфора [8].

Установлено присутствие следующих ФЛ: лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), фосфатидилинозитов (ФИ), сфингомиелинов (СФМ), фосфатидилхолинов (ФХ), фосфатидилсеринов (ФС), фосфатидилэтаноламинов (ФЭ), кардиолипидов (КЛ).

Результаты и обсуждение. Результаты исследований противолучевой эффективности нуклеиновых кислот при облучении представлены в таблицах 1 и 2.

Как свидетельствуют данные, приведенные в табл. 1, после действия ионизирующей радиации в дозе 6 Гр выживаемость животных составила всего 5%. При предварительном введении подопытным животным НН и $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК выживаемость значительно повысилась и составила соответственно 20 и 50%. Этот факт свидетельствует о радиопротекторном эффекте исследуемых препаратов, который был особенно выражен у $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК.

Таблица 1. Сравнительная характеристика защитного действия нуклеиновых кислот на выживаемость при облучении

Группа животных	Выживаемость, %
Контроль	5
Облучение+НН	20
Облучение+ $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК	50

Примечание: n=40.

Известно, что $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК является продуцентом интерферона, который обладает значительным радиопротекторным действием [6]. Однако в наших условиях препараты вводили животным за 6 ч до облучения, этого времени недостаточно для полной выработки интерферона под воздействием $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК. Данные позволяют заключить, что полученный радиопротекторный эффект – результат непосредственного воздействия $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК на деструктивные процессы в организме животных, вызванные облучением.

Общеизвестно, что ионизирующая радиация в природе - это экологический стресс-агент. Человек и высшие животные не располагают рецепторами для адекватного восприятия энергии ионизирующего излучения [2], но стресс-реакция, тем не менее, в их организме развивается. Эта реакция генетически обусловлена и обеспечивает быструю перестройку живой системы на функционирование в неблагоприятных условиях [7].

Неспецифический компонент радиационной патологии - перекисное окисление липидов (ПОЛ), который рассматривается как проявление общего адаптационного синдрома стресса, включает поражение клеточных мембран и мембранных структур. Следует отметить, что все эти эффекты наблюдаются также при введении в организм радиопротекторов в эффективных дозах [3].

Таким образом, можно заключить, что введение радиопротекторов до облучения индуцирует эту стрессовую реакцию, тем самым повышая устойчивость живой системы к последнему.

Весьма существенным в этом аспекте представляется изучение пост-радиационных изменений в фосфолипидном составе мембран кардиомиоцитов, а также их коррекция с помощью иммуномодуляторов.

Как показали результаты исследований качественного и количественного содержания ФЛ (табл. 2), на 30-е сутки в миокарде контрольных животных наблюдается значительное падение уровня суммарных ФЛ, по сравнению с нормой на 15 %. На фоне достоверного увеличения ЛФХ, ФИ, СФМ происходит снижение уровней ФХ, ФС, ФЭ, КЛ.

Таблица 2. Изменение суммарных и индивидуальных показателей фосфолипидов в ткани миокарда белых крыс на 30-е сутки после облучения дозой 6 Гр на фоне предварительного введения Ca^{2+} -РНК и ИИ

Показатели	Норма		Контроль (без лечения) облученные		Облучение + РНК		Облучение + ИИ	
	мкг липидного фосфора/ 1г влаж. ткани	%	мкг липидного фосфора/ 1г влаж. ткани	%	мкг липидного фосфора/ 1г влаж. ткани	%	мкг липидного фосфора/ 1г влаж. ткани	%
ЛФХ	32,5±3,48	3,48	54,7 ±6,2**	6,47	39,8±6,13	4,25	44,66±8,31	5,12
ФИ	137,72±4,8	14,45	158,8±5,7***	18,79	131,32±6,99	14,03	145,25±14,43	16,66
СФМ	117,31±4,12	12,32	171,3±3,37*	20,27	155,22±5,3*	16,58	169,75±19,11**	19,47
ФХ	251,04±15,25	26,26	167,0±13,43**	23,34	224,24±12,14	21,82	213,14±16,91	21,59
ФС	105,2±3,26	10,37	76,3±4,98*	9,06	111,75±4,88	11,94	90,63±4,78***	10,39
ФЭ	128,36±7,42	13,47	88,18±6,97*	10,4	130,27±6,24	13,94	119,53±8,35	13,71
КЛ	187,12±18,31	19,60	98,63±9,31*	11,67	163,28±5,28	17,44	113,7±10,4*	13,00
Суммарные фосфоли- пиды	959,28	100	814,91	100	935,88	100	896,66	100

Примечание: сравнение данных экспериментов проведены с нормой *P<0,001, **P<0,01, ***P<0,02

Повышение уровня ЛФХ на фоне снижения уровней ФХ и ФЭ свидетельствует об активации фосфолипазы A_2 , приводящей к интенсификации процессов ПОЛ в миокарде. Эти процессы не могут не отразиться на качественных и количественных характеристиках фосфолипидного состава

миокарда облученных животных. Почти двукратное уменьшение КЛ в миоцитах сердечной мышцы говорит о глубоких нарушениях в электрон-транспортующей функции [10].

Известно, что КЛ являются одной из составляющих липидного спектра мембран митохондрий кардиомиоцитов и обуславливают активность ряда ферментов окислительной цепи (цитохром-с-оксидаза, цитохром-с-редуктаза) [9].

Усиление окислительных реакций в мембранах кардиомиоцитов приводит к накоплению в них СФМ и, как следствие, к повышению ригидности липидной компоненты. От состава липидов и их структурной вязкости зависит активность важнейших регуляторных ферментов клетки. Уменьшение в миокарде количества легкоокисляемого ФС косвенно свидетельствует о снижении чувствительности аденилатциклазы кардиомиоцитов к катехоламинам.

На фоне столь глубоких нарушений метаболизма, происходящих в липидном слое мембран кардиомиоцитов в пострadiационный период, довольно значимое повышение ФИ представляет большой интерес. Скорее всего, повышенный уровень ФИ в наших экспериментах связан с изменением функции некоторых метаболических регуляторов, а именно с аденилатциклазой. Известно, что чувствительность аденилатциклазы к действию гормонов находится в прямой зависимости от уровня ФИ [11]. На основании этого можно предположить, что в условиях серьезных повреждений клеточных мембран происходящая модификация состава ФЛ за счет увеличения количественных показателей ФИ позволяет в течение определенного промежутка времени сохранять в кардиомиоцитах на соответствующем уровне функциональную активность аденилатциклазой системы. Повышение уровня ФИ в этом случае, скорее всего, носит временный адаптационный характер. При летальных дозах радиации ответных реакций живой системы недостаточно для обрыва и нейтрализации индуцированных облучением процессов. Глубокие сдвиги, происшедшие в фосфолипидном бислое мембран кардиомиоцитов, 5%-ная выживаемость животных свидетельствуют о необратимых деструктивных процессах в миокарде облученных животных.

Предварительное введение облученным животным нуклеиновых кислот заметно изменило картину пострadiационных сдвигов в фосфолипидном составе мембран кардиомиоцитов на 30-е сутки после облучения. В группе животных, получивших $\text{Ca}^{2+}_{\text{лс}}$ -РНК, наблюдалось снижение уровней ЛФХ и ФИ. Оно было более значимо, чем в группе животных с предварительным введением НН. Содержание СФМ в обеих группах продолжало оставаться на достаточно высоком уровне. Особого внимания заслуживает повышение уровней КЛ и ФС под воздействием $\text{Ca}^{2+}_{\text{лс}}$ -РНК. Нормализация этих показателей свидетельствует о восстановлении электрон-транспортующей функции митохондрий и повышении чувствительности аденилатциклазы кардиомиоцитов к катехоламинам. Действие НН на эти показатели были менее значимы. Уровень их был ниже нормы, но выше контрольных величин.

Таким образом, на основании полученных нами результатов можно

сделать заключение об эффективности применения иммуномодуляторов Ca^{2+} -РНК для предупреждения пострadiационных повреждений миокарда в отдаленные сроки после облучения летальной дозой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агабалян А.С., Давтян О.Я., Багдасарян А.А. ДАН Армении, 179-183, 1987.
2. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. Киев, Наукова думка, 256, 1991.
3. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.В. Перекисное окисление и стресс. С-Пб: Наука, 148, 1992.
4. Бурлакова Е.Б., Алесенко А.В., Молочкина А.М. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М., Наука, 211, 1975.
5. Бурлакова Е.Б. Сб.: Биохимия липидов в обмене веществ. М., Наука, 23, 1981.
6. Ершова Ф.И., Новахатский А.С. Интерферон и его индукторы. Медицина, 263, 1980.
7. Лобанок Л.М., Антоненко А.Н. Радиационная биология. Радиоэкология. 41, 1, 10-15, 2001.
8. Прохорова И.А. Методы биохимических исследований. Изд-во. Ленинградского Университета. 54-62, 1982.
9. Awasthi I.C., Chung T.F., Keenon T.W. Biochem. Biophys. Res. Commun. 39. 822-830, 1970.
10. Bidlak W.R., Tappel A.L. Lipids. 8, 177-182, 1973.
11. Lewey G.S. J. Biol. Chem. 246, 7405-7410, 1971.

Поступила 27.V.2002

ИММУНОАКТИВАЦИЯ ОРГАНИЗМА И ПЕРЕДАЧА ЕЕ ПОТОМСТВУ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ БАКТЕРИЦИДИНА - «HONGO» КАК ИММУНОСТИМУЛЯТОРА

Л.Т. ДАНИЕЛЯН

*Армянская сельскохозяйственная академия,
кафедра микробиологии и вирусологии, 375009, Ереван*

Представлены показатели опытов на курах, эмбрионах и цыплятах здоровых и больных пуллорозом-тифом с использованием бактерицидина «Hongo» различной биологической активности и дозы. Результаты исследования свидетельствуют о действии препарата, сопровождающегося некоторой иммунологической перестройкой в организме птицы, приводящей к интенсивному повышению синтеза нормальных антител и усилению фагоцитарной активности лейкоцитов в периферической крови. Наблюдается сдвиг к усилению естественной резистентности кур, эмбрионов и цыплят.

Ներկայացված են փորձերի ցուցանիշները, որոնք կատարվել էին հավերի, ճտերի և էմբրիոնների վրա, ինչպես նաև պուլլորոզ-տիֆով հիվանդ ճտերի վրա: Այս փորձերի ընթացքում կիրառվել է բակտերիցինը - «Hongo» տարբեր դոզայով և ակտիվությամբ: Փորձերի արդյունքները վկայում են այն մասին, որ «Hongo»-ի ազդեցության հետևանքով տեղի են ունենում որոշակի իմունոլոգիական կազմափոխություններ թռչնի օրգանիզմում, որոնք բերում են նորմալ հակամարմինների ինտենսիվ սինթեզին և պերիֆերիկ արյան մեջ էլեկոցիտների ֆագոցիտար ակտիվության բարձրացմանը: Այս ամենից հետևում է, որ հավերի, էմբրիոնների և ճտերի մոտ բարձրանում է բնական դիմադրողականությունը:

The data of experiments involving poultry and embryos as well as chickens sick with pullorosis-typhoid treated with bactericidin - "Hongo" of various biological activity and dosage are represented. Experimental results witness that under the influence of Hongo certain immune changes take place in the birds' bodies, which in their turn result in intensive synthesis of normal antibodies and phagocyte activity and increase of leukocytes in periphery blood. Consequently, a conclusion is made that a considerable increase in natural resistance of poultry, embryos and chickens takes place.

Бактерицидин - «Hongo» - иммунитет - нормальные антитела - фагоцитоз - куры-несушки - эмбрион - цыплята

В современном представлении иммунологический надзор рассматривается как единство и взаимосвязь специфических иммунологических и неспецифических биологических факторов и механизмов гомеостаза против агентов и причин, нарушающих и способствующих восстановлению внутренней среды организма [12].

Цензорная система не ограничивается только клетками иммунной системы, то есть лимфоидными клетками и макрофагом, что присуще не только иммунной системе, но и другим клеткам организма, которые играют немаловажную роль в иммунобиологическом надзоре [12].

О возможности эффективного повышения иммунобиологического надзора представлены обобщенные данные ранее проведенных собственных экспериментальных исследований [5-11] в частности, о влиянии бактерицидина на физиологические функции организма, на его

неспецифический защитный фактор - естественную резистентность, направленную против микробного воздействия.

Бактерицидин - биологическая жидкость, полученная на основе культуральной жидкости чайного гриба, по разработанному нами способу выращивания этой культуры [6]. Полученный продукт назван нами «бактерицидином» в силу своей высокой биологической активности, достигающей 500 и более ед.разведения, а культуральная жидкость с биологической активностью 16-32 ед. разведения, рекомендуемая нами для широкого применения, названа напитком «Hongo» или бактерицидин «Hongo». Ценные качества этих биологических жидкостей заключаются в безвредности, антибактериальной активности широкого спектра действия, способности стимулировать физиологические функции организма без побочных эффектов, что установлено нами на основании многочисленных многосторонних экспериментов.

Материал и методика. Опыты были проведены на курах, эмбрионах, цыплятах ранней стадии постэмбрионального развития, а также на цыплятах, больных пуллорозом-тифом, взрослых курах в период спада яйценоскости. Изучали также влияние бактерицидина на антигенные свойства микробных препаратов. В опытах использовали бактерицидин различной биологической активности (16, 32, 48 и 64 ед. разведения) в дозах 6, 10 мл/кг массы кур, а для цыплят - нисходящие дозы - 0,4 - 0,2 - 0,1; 0,6 - 0,3 - 0,15 в течение 21 дня и 0,8 - 0,4 - 0,2 мл/гол 15 дней через каждые 7-5 дней соответственно, а также 0,15 мл/гол внутрь, пипеткой - 15 дней. Контролем служили птицы, получавшие KMnO_4 1:1000, интактные и больные цыплята, получавшие фуразолидон - 2 мг/гол.

Проявление неспецифического иммунитета под воздействием бактерицидина учитывали по степени накопления неспецифических антител (нормальных антител) реакцией агглютинации по Райту, синтезом гетероагглютининов, гетерогемагглютининов и фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови как показателей естественной резистентности. Наличие препарата в аллантоисной, амниотической жидкостях, гомогенатах печени и селезенки устанавливали качественно реактивом Фелинга.

Результаты и обсуждение. На рис. 1, 2, 3 отражены динамические нарастания нормальных антител сыворотки крови кур в пределах 1:100 - 1:240, при контроле, получавшем KMnO_4 - 1:40 - 1:56. Отмечено наличие гетероагглютининов и гемагглютининов в пределах разведений 1:160, при отсутствии их у контрольных кур. Наряду с этим показано увеличение фагоцитарной активности, превышающей контроль по фагоцитарному индексу (ФИ) в 1,3 - 1,5 раза, проценту фагоцитоза (ПФ) - на 5,2 - 6,0 и фагоцитарному числу (ФЧ) - в 1,2 - 1,4 раза.

Данные свидетельствуют об усилении естественной резистентности, особенно в период отмены препарата. Такое усиление физиологической функции кур-несушек, оказанное бактерицидином, обеспечивает повышение иммунологического статуса кур-несушек и передачу антител в высоком титре через желток потомству. Это отражено на рис. 4. Отмечается наличие высокого титра материнских антител в остаточном желтке и сыворотке крови цыплят, примерно идентичных титру антител сыворотки крови кур-несушек, получавших бактерицидин, причем в зависимости от доз в различной степени. При дозе 6 мл/кг содержание антител достигает разведений сыворотки 1:200, 1:209 и 1:240 у кур-несушек, а при дозе 10 мл/кг - 1:115, 1:120 и 1:180 соответ-

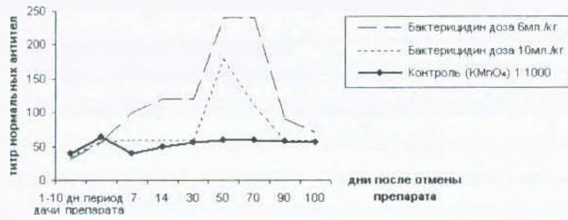


Рис. 1. Сравнительные данные титра нормальных антител при даче бактерицидина (40 ед. разведения) курам в дозах 6 и 10 мл/кг - 10 дней ($M \pm m$) $p < 0.5-0.1$.

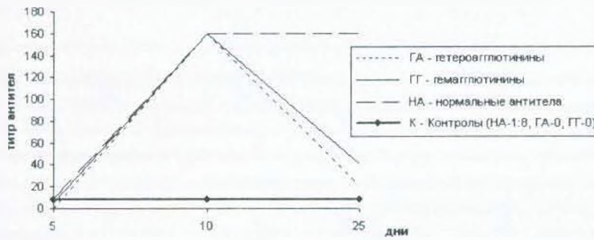


Рис. 2. Влияние бактерицидина (32 ед. разведения) на синтез неспецифических антител кур при дозе 0,15 мл/гол в течение 15 дней.

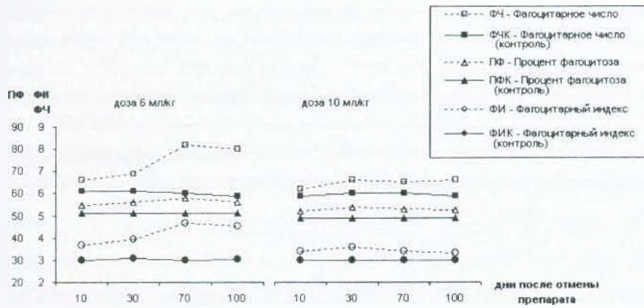


Рис. 3. Показатели фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови кур-несушек в зависимости от дозы бактерицидина по сравнению с контролем ($M \pm m$) $p < 0.5-0.1$.



Рис. 4. Титр материнских антител в желтке яиц и сыворотке крови цыплят от кур-несушек в различные сроки после отмены препарата ($M \pm m$) $p < 0.5-0.1$.

ственно, у контрольных кур, получавших $KMnO_4$, - 1:64, а интактных - 1:8.

Такое высокое содержание материнских антител в желтке и сыворотке крови эмбрионов привело к удлинению срока элиминации материнских антител в крови цыплят постэмбрионального периода.

Данные на рис. 5, свидетельствуют об элиминации материнских антител, начиная с 3-суточного возраста, длившейся 17-15 дней соответственно дозам, оставаясь при этом на уровне разведения 1:4 - 1:2, в то время как у контрольных она завершается на 5-7 дни их жизни. Удлинение срока элиминации антител обеспечивает сохранность потомства кур [1].

Из рис. 6 видно, что степень сохранности вылупившихся цыплят из яиц кур-несушек, получавших бактерицидин, достигает 100-93% соответственно дозам (6-10 мл/кг), при контроле 70,5%.

Бактерицидин, как видно из рис. повышает жизнестойкость цыплят постэмбрионального периода, вследствие усиления физиологических функций эмбрионов и их сохранности, составляющей 94-83,4%, и сокращает инкубационный отход на 27,6 - 6,85%. Данные, представленные на рис. 7, свидетельствуют о влиянии бактерицидина на развитие эмбрионов из яиц несушек 10-го дня после отмены препарата. При дозе 6 мл/кг интенсивное развитие зародыша отмечается в

первом периоде эмбриогенеза с последующим снижением скорости роста к концу инкубации, оставаясь выше контрольных в критические дни их развития (3-6, 17-21 и особенно 19-20 дни) на 3,1; 7,6 и 2,3% соответственно. При дозе 10 мл/кг наблюдается последовательное увеличение массы в пределах 1,0 - 1,7 - 2,5%, т.е. интенсивное развитие, наоборот, происходит в конце инкубации, превышая контроль на 2,5%, что указывает на повышение физиологической функции зародыша.

Подтверждающим данный факт являются показатели двух опытов, проведенных, в одном случае, непосредственным введением препарата на аллантаисную оболочку 11-дневных эмбрионов, в другом - прединкубационной обработкой яиц методом диффузии.

Показатели обоих способов исследования примерно идентичны. Из рис. 8 видно, что уровень содержания нормальных антител в сыворотке крови цыплят, вылупившихся из обработанных бактерицидином яиц, превышает контроль в 4-6 раз (при интактных - 1:8). Элиминация антител длится 15-17 дней, не доходя до полного их исчезновения, оставаясь в разведениях сыворотки 1:12 - 1:16 с последующим динамичным повышением нормальных антител, причем, в критические дни развития цыплят при сниженной активности иммунных механизмов организма [3]. В отличие от контроля, нарастание нормальных антител протекает динамично, достигая в 30-дневном возрасте разведения сыворотки 1:32 - 1:48, при отсутствии их в критические дни развития цыплят.

Такое повышение, очевидно, обусловлено как воздействием внешней

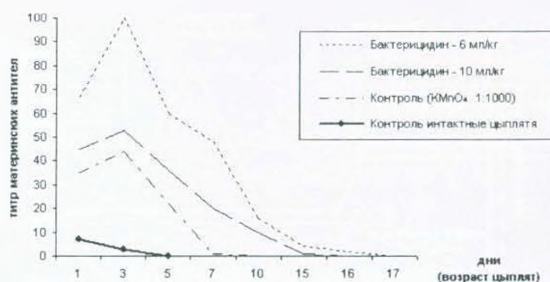


Рис. 5. Продолжительность элиминации материнских антител в сыворотке крови цыплят из яиц от кур-несушек 10-го дня отмены дозы препарата (M±m) P<0.5-0.1.

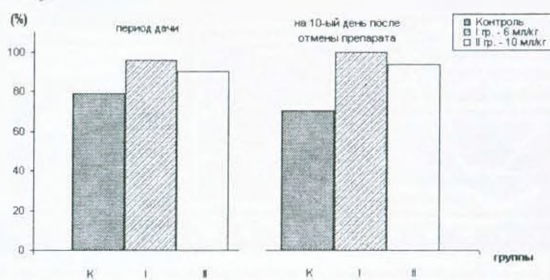


Рис. 6. Сохранность цыплят опытных групп - потомства от кур, получавших бактерицидин (M±m) P<0.5-0.1.

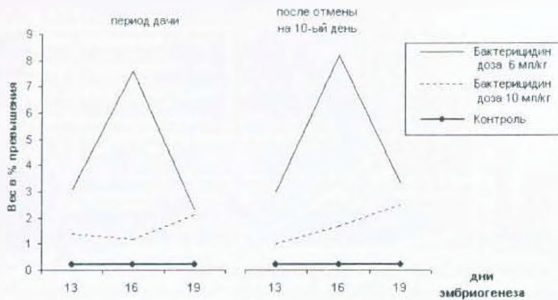


Рис. 7. Влияние бактерицидина на эмбриогенез (вес эмбрионов в %) ($M \pm m$) $P < 0.5-0.1$.

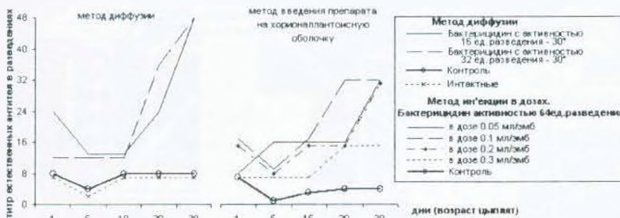


Рис. 8. Влияние бактерицидина на неспецифический иммунитет цыплят ранней стадии постэмбрионального периода, при предыдущей обработке яиц бактерицидином различной биологической активности ($M \pm m$) $P < 0.5-0.1$.

препарат биологической активности 40 ед. разведения с однодневного возраста в 3-х различных нисходящих дозах (рис. 9). Отмечено интенсивное повышение естественных антител в пределах разведений сыворотки крови 1:91, 1:160 и 1:108 соответственно дозам, наряду с усилением фагоцитарной активности, с превышением контроля по ФИ - в 1,8-2,1 раз, ПФ - на 12,9% и ФЧ - 1,3-2,3 раза, а по титру нормальных антител в 5,6 - 10 - 6,7 раз (при титре антител контрольных - 1:16). При этом отмечается повышение гемоглобина за счет увеличения эритроцитов, превышающих контроль в 2-3 раза, что указывает на раздражение костного мозга.

Результаты опытов, аналогичных предыдущим, свидетельствуют об усилении естественной резистентности цыплят, больных пуллорозом-тифом представлены (рис. 10). При лечении бактерицидином наблюдается интенсивное накопление нормальных антител в период лечения (10 дней) и после отмены препарата - на 30 и 70 дни в пределах 1:32 - 1:108 при усилении фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови, превышающих контроль по ФИ - в 1,5-3 раза, ПФ - на 8,5-10% и ФЧ - в 1,5-2,5 раза, а по содержанию нормальных антител - в 2,0-3,4 раза.

Клинические признаки при всех испытываемых дозах бактерицидина исчезают на 3-5 дни лечения, при фуразолидоне - на 10-15 дни. Сохранность опытных цыплят в зависимости от дозы достигает 100-90%, а контрольных - 50. По-видимому, бактерицидин в отличие от фуразолидона стимулирует как естественные защитные механизмы, так и специфические.

С целью выяснения возможности стимуляции синтеза специфических

среды, так и иммунологической памятью, хранителем которой являются лимфоидные клетки.

Указанные данные свидетельствуют о возможности стимуляции бактерицидином иммунных механизмов эмбрионов и цыплят ранней стадии постнатального периода, когда активность иммунной системы понижена.

Подобным образом влияет бактерицидин на интактных цыплят ранней стадии постэмбрионального развития, получавших

антител в организме были проведены опыты с живыми вакцинами, обработанными бактерицидином с биологической активностью 16 ед. разведения.

На рис.11 показано, что при однократном введении 2 мл противобруцеллезной вакцины шт. 19, обработанной бактерицидином, синтез специфических антител повышается в 2 раза. Титр их на 15-й день после введения вакцины достигает разведения сыворотки крови 1:1280, при контроле - 1:640 [14].

Аналогичное действие бактерицидина отмечено при обработке паратифозного антигена - *Salmonella sv/ dublin*. При трехкратном введении антигена кроликам подкожно в дозах 0,5, 1,0 и 1,5 мл через каждые 5 дней титр специфических антител в сыворотке достигал разведения 1:2400 - 1:4000 против контроля, иммунизированным живым антигеном - 1:600 - 1:2400, превышая контроль в 4 - 1,4 раза соответственно.

Таким образом, бактерицидин обеспечивает не только естественную резистентность, но и специфическую невосприимчивость, активируя в значительной степени иммунную систему организма. Следует подчеркнуть, что повышение естественной резистентности эмбрионов и цыплят ранней стадии постэмбрионального периода обусловлено стимулирующим эффектом бактерицидина вследствие усиления функций лимфоидной системы зародышей, заложенной в сумке Фабрициуса. Этот орган у кур развивается между 12-м и 13-м днем эмбрионального периода [13]. Введение препарата 11-дневному эмбриону или предынкубационная обработка яиц, по-видимому, способствуют усилению развития этого органа и лимфоидной ткани, что приводят к синтезу нормальных антител, возможно, в силу наличия в препарате активных радикалов.

Известно, что антиоксиданты способны тормозить, а в ряде случаев и направлять процессы радикального окисления и возникновения высокомолекулярных соединений, возможно, возбуждающих лимфоидную систему эмбриона и цыплят ранней стадии постэмбрионального периода, приводящих к образованию нормальных антител и усилению фагоцитарной реакции.

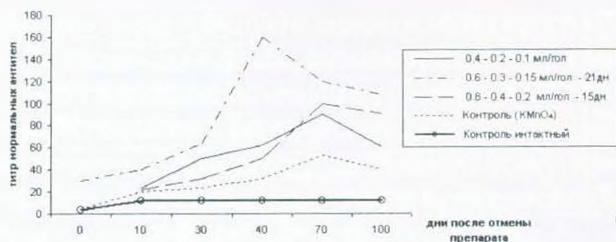


Рис. 9. Динамика нарастания нормальных антител у интактных цыплят после отмены бактерицидина биологической активности 40 ед. разведения в нисходящих дозах ($M \pm m$) $P < 0.5-0.1$.

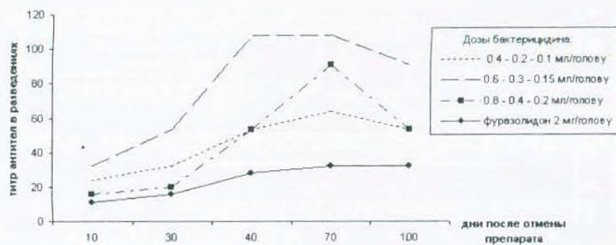


Рис. 10. Синтез нормальных антител, у больных пуллорозом - тифом цыплят, получавших бактерицидин в нисходящих дозах ($M \pm m$) $P < 0.5-0.1$.

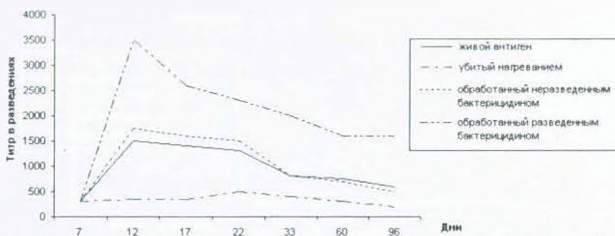


Рис. 11. Средний агглютинационный титр сыворотки крови кроликов, иммунизированных противопаратифозными антигенами.

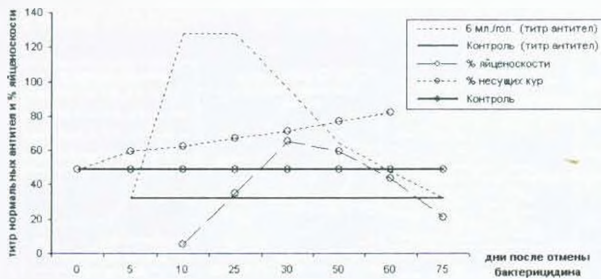


Рис. 12. Влияние бактерицидина на число несущих, яйценоскость и синтез нормальных антител (биологическая активность 16 ед.разведения в дозе 6 мл/гол - 5 дней).

кур, достигая 50,1% при 41% у контроля. На 35 -55 дни после отмены препарата процент яйценоскости повышается до 65,5, а число несущих кур при этом 82%. На 95-й день наблюдения яйценоскость снижается, превышая контроль лишь на 1% [4].

Повторная дача препарата в течение 3-х дней в тех же дозах повышает яйценоскость на 28% по сравнению с контролем и на 12,1% первого раза дачи препарата при динамическом нарастании нормальных антител. Данные указывают на стимулирующее действие бактерицидина не только на естественную резистентность кур, но и на яйценоскость и их взаимосвязь не только при первой даче препарата, но и при повторной.

Благоприятное действие бактерицидина, очевидно, обусловлено его биологической особенностью: сложностью состава этой жидкости, куда входят органические кислоты, ферменты, альдегиды, витамины, аминокислоты, антибиотические вещества кислой субстанции, которые могут действовать на обменные процессы клеток стимулирующе, восстанавливая и улучшая их функциональную деятельность.

В опытах по определению антиоксидантной активности бактерицидина нами по способу определения скорости перекисного окисления в микросомной фракции в присутствии прооксидантов, в качестве которого применили ионы Fe^{2+} , установлено, что бактерицидин биологической активности 20 ед.разведения обладает антиоксидантным свойством с ингибиторной активностью 58%. Очевидно, наличие активных частиц радикальной природы способствует нейтрализации продуктов перекиси, образующихся при различных неблагоприятных факторах, и реагирует со свободными

На рис. 12 представлены не менее ценные показатели, полученные в опытах, выявляющих взаимосвязь степени резистентности и яйценоскости кур-несушек в период ее спада в возрасте 2 лет. При даче бактерицидина биологической активности 16 ед. разведения в дозе 6 мл/кг в течение 5 дней установлено повышение титра нормальных антител в пределах разведения сыворотки крови 1:128 и одновременно повышение яйценоскости на 15,9% и числа несущих

образованиями, обрывая цепь окисления. Продукты окислительных процессов ядовиты для клеток, органов и организма в целом, вызывают патологические процессы, приводящие к новому образованию ядовитых перекисей [3].

Одной из биологических особенностей бактерицидина «Hongo», помимо его антибактериальной активности и прямого воздействия на иммунную систему, как показывают исследования, является антиоксидантное свойство, обуславливающее повышение физиологической функции организма.

Таким образом бактерицидин - «Hongo», являясь безвредным, активным биостимулятором, обладающим антибактериальной активностью и антиоксидантным действием, может быть широко использован как иммуномодулятор в медицинской и ветеринарной практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян А.Д. Междунар. конф. «Аграрная наука и ее реформы в предверии 21 века». Ереван, 1999.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., «Наука», 1972.
3. Гогинян В.Б., Даниелян Л.Т. Тез. конф. «Аграрная наука и пути развития». Ереван, 5-7 ноября 1998.
4. Гогинян В.Б. Биолог. журн. Армении, 54, 1-2, 125-128, 2002.
5. Даниелян Л.Т. Чайный гриб. Ереван. «Айастан», 1993.
6. Даниелян Л.Т. Патент 32, № 000120, ПУРА, 01.09.93.
7. Даниелян Л.Т., Тер-Аветисянц И.А. Материалы 2-й Респуб. научн. конф. Ереван, 1996.
8. Даниелян Л.Т., Авакян А.Д., Мхчян Э.И. Тезисы Междунар. конф., посвящ. 70-летию факультета ветер. медицины. Ереван, 1998.
9. Даниелян Л.Т., Авакян А.Д., Оганесян А.О. Биолог. журн. Армении, 51, 3, 1998.
10. Даниелян Л.Т., Авакян А.Д. Биолог. журн. Армении, 53, 3-4, 197-201, 2001.
11. Даниелян Л.Т., Гогинян В.Б. Биолог. журн. Армении, 54, 1-2, 56-59, 2002.
12. Ломакин М.С. Иммунобиологический надзор. М., «Медицина», 1990.
13. Петров Р.П. Иммунология. М., 1983.
14. Шакарян Г.А., Даниелян Л.Т., Нуразян А.Г. Влияние бактерицидина на антигенные свойства паратифозных бактерий. Тр. ЕрЗВИ, вып. 21, 1957.

Поступила 30.IX.2001

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЦИДИНА - "HONGO" НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ЭМБРИОНОВ И ЦЫПЛЯТ В РАННЕЙ СТАДИИ РАЗВИТИЯ ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОГО ПЕРИОДА

Л.Т. ДАНИЕЛЯН, В.Б. ГОГИНЯН

*Армянская сельскохозяйственная академия,
кафедра микробиологии и вирусологии, 375009, Ереван*

Установлено, что введенный на хорион-аллантаисную оболочку бактерицидин (культуральная жидкость чайного гриба) оказывает положительное влияние на иммунную систему эмбрионов и цыплят в ранней стадии развития постэмбрионального периода в различной степени в зависимости от введенной в эмбрион дозы препарата.

Որոշվել է, որ խորիոնալանտոիսային թաղանթի վրա ներարկված բակտերիցիդինը (թեյի սնկի կուլտուրալ հեղուկ), կախված էմբրիոնում ներարկված դեղամիջոցի բանալից, գործում է դրական էմբրիոգենեզի և ճտանանման վրա տարբեր չափով:

As a result of the tests it has been proved that the bactericidin (the cultural liquid of the tea fungus) injected on the chorion-allantois surface is rendered with positive influence in a various degree on immune system of embryos and chickens in an early stage of postembryonal period of development, depending on the preparation doses.

Бактерицидин - хорион-аллантаисная оболочка эмбрионов - иммунитет - эмбриогенез - постэмбриональный период развития цыплят

Для сохранности и повышения продуктивности птицы немаловажное значение имеет применение иммунноактиваторов и антибактериальных препаратов, обуславливающих стимулирующее действие на физиологические функции организма и повышающие иммунологический статус птиц. С этой точки зрения нами была поставлена задача испытать влияние бактерицидина [1].

Материал и методика. Опыты были проведены на базе птицефабрики ООО "Элиган-96" Котайкского района с использованием яиц одинаковой массы (55 г). Обработку яиц производили методом инъекций по Соколову [2]. Бактерицидин с биологической активностью в единицах разведения 1:64 вводили в дозах 0,05; 0,1 и 0,2 мл/эмбрион на поверхность хорион-аллантаисной оболочки 9-дневных эмбрионов. Контрольным яйцам с целью проверки техники введения по данному методу в одном случае вводили физиологический раствор в тех же дозах, в другом - яйца не подвергались обработке. В опытах было использовано 420 эмбрионов.

Наблюдения за развитием эмбрионов проводили на 11-е и 19-е сутки инкубации. При этом учитывали характер развития эмбрионов овоскопированием яиц. Регистрировали их смертность и устанавливали причину гибели путем вскрытия погибших зародышей. Качество вылупившихся цыплят в постэмбриональном периоде оценивали по внешнему виду, подвижности, активности и массе тела, взвешиванием через 12 ч после вылупления, затем на 5; 10; 20; 25 и 30-е дни их роста и развития. Наряду с этим определяли естественную резистентность вылупившихся цыплят по методу Райта (реакция агглютинации), используя в качестве антигена 1млрд. взвесь суточной культуры *E. coli* (шт. ИНМИА В-5002). Цыплят содержали в одинаковых условиях без дополнительной дачи препарата.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что введенный на хорион-аллантаисную оболочку бактерицидин оказывает положительное влияние на иммунную систему, эмбриогенез и вывод цыплят в различной степени, в зависимости от дозы препарата. Так, в сыворотке крови опытных цыплят суточного возраста отмечается высокое содержание естественных антител, превышающих контроль в 2-4 раза (табл. 1). При дозах 0,1-0,2 мл/эмб титр антител достигает разведения 1:16, а у контрольных - 1:8. В сыворотке крови 5-дневных цыплят титр агглютининов снижается: в опытных группах он достигает разведения 1:8, в контрольной - 1:2 вследствие элиминации материнских антител. В 15-дневном возрасте отмечается интенсивное нарастание антител, которое достигает разведения 1:16 при всех испытуемых дозах бактерицидина, превышая контроль в 4 раза. В 30-дневном возрасте содержание антител в сыворотке крови опытных групп цыплят достигает разведения 1:32, в то время как у контрольных - повышается только до 1:8, за счет нормальных антител, синтезируемых эмбрионом.

Таблица 1. Влияние бактерицидина на синтез естественных антител

Дни исследований	Титр естественных антител исследуемых групп эмбрионов, в разведениях			
	Дозы бактерицидина, мл/эмб			Интактные эмбрионы
	0,05	0,1	0,2	
1	1:8	1:16	1:16	1:8
5	1:16	1:8	1:8	1:2
15	1:16	1:16	1:16	1:4
20	1:16	1:32	1:16	1:8
30	1:32	1:32	1:32	1:8

Полученные данные указывают на стимуляцию синтеза естественных антител под влиянием введенного препарата в эмбриональной и ранней стадии развития цыплят постэмбрионального периода.

Увеличение синтеза антител у цыплят в ранней стадии их развития постнатального периода происходит за счет активации иммунологической системы как эмбрионов, так и цыплят при одновременном усилении и других физиологических функций.

Таблица 2. Влияние бактерицидина с биологической активностью 64 единиц разведения на эмбриогенез и вывод цыплят

Опытные группы	Дозы инъекций бактерицидина, мл	Количество эмбрионов, шт.	Количество погибших эмбрионов, шт. /%	Вывод цыплят, %
1	0,05	80	14/17,5	82,5
2	0,1	80	3/3,7	96,3
3	0,2	80	5/6,2	93,8
Контроль	-	90	17/19,0	81,0

Из табл. 2 видно, что бактерицидин в дозах 0,1-0,2 мл/эмб. сокращает инкубационный отход в 4-3 раза соответственно. По сравнению с контролем, во 2-й и 3-й опытных группах гибель эмбрионов уменьшается на 15,2-12,8%, а в 1-й - на 1,5%, в то время как у контрольной - их смертность достигает 19%.

Причины гибели контрольных эмбрионов, как показало патолого-анатомическое вскрытие, заключались в основном в нарушении режимов влажности при инкубировании яиц, гиповитаминоза В₂, асфиксии эмбрионов и подагрической дистрофии. Указанные причины гибели эмбрионов резко сокращаются в опытных группах при дозах бактерицидина 0,1-0,2 мл/эмб.

Вывод цыплят при дозе 0,1 мл/эмб составил - 96,3%, при дозе 0,2 мл/эмб - 93,8%, в контрольной группе - 81,2%.

Следует отметить, что, по сведениям Орлова, Быховца и Злочевской [3], вывод здорового молодняка по всем видам птиц составляет 80-84,6%. Эти данные подтверждаются высокими показателями вывода цыплят, причем более весомого в массе тела с превышением контроля при дозах 0,05, 0,1 и 0,2 мл/эмб соответственно на 17,9-7,5 и 3,5%.

Следствием усиления физиологических функций эмбрионов являются также их интенсивное развитие и вывод цыплят с более высокой массой (44 г против 37,3 г контроля). Так, при дозе 0,1 мл/эмб отмечается умеренное развитие эмбриона с выводом цыплят массой 40 г, что превышает контроль на 7,5% (таб. 3).

Таблица 3. Влияние бактерицидина на рост и сохранность цыплят

Возраст цыплят дни	Опытная группа						Контрольная группа	
	Дозы бактерицидина, мл/эмб						Интактные эмбрионы	
	0,05		0,1		0,2			
	Масса, г	Привес, %	Масса г	Привес, %	Масса, г	Привес, %	Масса г	Привес, %
1	44,0	17,9	40,1	7,5	38,6	3,5	37,3	-
5	52,5	10,0	52,6	11,2	50,7	7,1	47,3	-
10	63,5	5,1	67,6	11,9	65,9	9,1	60,4	-
15	79,5	4,6	85,6	12,6	85,0	11,8	76,0	-
20	98,5	2,1	108,1	12,0	108,5	12,5	96,4	-
25	121,5	0,9	135,9	12,8	139,3	15,6	120,4	-
30	146,0	-0,6	167,9	10,6	173,0	13,9	151,8	-
Сохранность, %	82,5		96,3		93,8		81,0	

При этом рост и развитие цыплят в постэмбриональный период протекают более интенсивно с увеличением их привесов, превышающих контрольных в пределах 10-13%, причем более интенсивно в первые две декады их роста и развития. После этого отмечается некоторое снижение привесов, все же превышающих контрольную группу, при сохранности - 96,3%. Развитие эмбрионов при дозе 0,2 мл/эмб протекает менее интенсивно, чем при дозе 0,1 мл/эмб, но более интенсивно, чем у контрольных. Цыплята имели массу 38,6 г, превышая контроль лишь на 3,5%. Однако в постэмбриональном периоде

отмечается более интенсивное развитие цыплят на 25-30 дни, что превышает контроль на 13,6-13,9% и 7,2-15,6% соответственно, при сохранности цыплят - 93,8%.

Таким образом, бактерицидин не оказывает отрицательного влияния на развитие эмбрионов кур, он стимулирует их физиологические функции, в том числе и иммунную систему, способствуя выводу здорового молодняка с высокой естественной резистентностью и сохранностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Даниелян Л.Т. Чайный гриб, 136с., Ереван, "Айастан", 1993.
2. Соколов В.Д. Антибактериальные средства в птицеводстве, 57-59, М., "Колос", 1982.
3. Орлов М.В., Быховец А.У., Злочевская К.В. Инкубация, 93-98, М., "Колос", 1984.

Поступила 11.1.2002

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС, ДОМАШНИХ КУР И ЛЯГУШЕК ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ

А.М. ОГАНЕСЯН, А.Ф. КАРАПЕТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра зоологии, 375025

Приводятся данные об изменениях абсолютной и относительной масс селезенки крыс, домашних кур и лягушек после частичной гепатэктомии. Результаты проведенного стереологического анализа свидетельствуют об увеличении относительного объема белой пульпы селезенки крыс и домашних кур в течение первого месяца регенерации печени.

Բերվում են տվյալներ մասնակի հեպատէկտոմիայից հետո առնետների, տնային հավերի և գորտի փայծաղի բացարձակ և հարաբերական զանգվածի յուրահատուկ փոփոխությունների վերաբերյալ: Կատարված ստերեոլոգիական հետազոտության արդյունքները վկայում են լյարդի ռեգեներացիայի առաջին ամսվա ընթացքում առնետների և տնային հավերի փայծաղի սպիտակ պոլպայի հարաբերական ծավալի մեծացման մասին:

The data are presented concerning to changes of rats, domestic hens and frogs spleen mass after partial hepatectomy. The results of stereological analysis testify the increase of white pulp relative volume of rats and domestic hens spleen during the first month of liver regeneration.

Частичная гепатэктомия - селезенка - стереологический анализ

Проблема регуляции восстановительных процессов является наиболее сложной и актуальной в современном учении о регенерации. Данные экспериментальных и клинических работ, посвященных изучению иммунного статуса организма при развитии в нем репаративных процессов, приведены в ряде работ [2, 3, 5, 7]. Тем не менее многие аспекты этой далеко непростой проблемы продолжают оставаться неясными и служат предметом споров и новых экспериментальных разработок.

В литературе высказывается мнение об иммуносупрессивной роли резекции органа, обусловленной эффектом стресса, сопровождающим любое серьезное хирургическое вмешательство [7]. По данным некоторых авторов, в тимусе и селезенке стресс только слегка изменяет соотношение субпопуляций лимфоцитов, хотя в обоих органах имеет место значительное уменьшение общего количества лимфоцитов [16]. Авторы предполагают, что стресс вызывает тканеспецифические изменения в распределении иммунных клеток. В то же время в литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что послеоперационная стимуляция иммунного ответа также не редкое явление [11, 17]. Она сопровождает многие оперативные вмешательства, и в частности, резекцию печени [1, 4, 14, 17].

Селезенка, как известно, важный кроветворный (лимфопоэтический) и защитный орган, принимающий участие как в элиминации отживающих или поврежденных эритроцитов и тромбоцитов, так и в организации защитных

реакций от антигенов, которые проникли в кровоток, а также в депонировании крови. В селезенке происходит антигензависимая пролиферация и дифференцировка Т- и В-лимфоцитов и образование антител, а также выработка веществ, угнетающих эритропоэз в красном костном мозге. Согласно результатам ряда экспериментальных работ, регенерация различных по строению тканей и органов вызывает различную перестройку в селезенке [3, 10]. Эти и многие другие данные дают право считать доказанным участие селезенки в регуляции репаративных процессов, и в частности, в регенерации печени [9, 10, 13, 14].

В связи с вышеизложенным, представлялось целесообразным проведение сравнительного исследования реактивных изменений, в частности, изменения массы и объемных соотношений различных структурных компонентов селезенки представителей разных классов позвоночных, у озерной лягушки, домашних кур и крыс в разные сроки после резекции печени.

Материал и методика. Объектом исследования служили 38 самцов крыс, массой 180-250г, а также 40 петушков 5-6-месячного возраста и 50 лягушек. В качестве контроля использовали 9 крыс, 12 петушков и 20 лягушек. У подопытных животных через разрез в брюшной стенке удаляли правую долю печени, у лягушек и кур - по специальной методике [8], а у крыс - по методу Хиггинса и Андерссена [15]. Как у крыс, так и у петушков и лягушек удаляли 1/6 - 1/5 часть органа.

Материал для гистологических исследований брали через 1, 3, 5, 10, 20, и 30 сут после операции от 5-7 голов животных на каждый срок. Подопытных и контрольных животных взвешивали как перед операцией, так и при забое. Селезенку взвешивали при забое животных.

Кусочки селезенки фиксировали в растворах Буэна, Телесницкого, а также в 10%-ном формалине и подвергали обычной гистологической обработке. Серийные парафиновые срезы, толщиной 4-5 мк, окрашивали гематоксилин-эозином. Методом точечного счета определяли объемные соотношения различных структурных элементов селезенки у кур и крыс. Полученный цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики [12].

Результаты и обсуждение. Для выяснения особенностей реакции селезенки изученных животных на частичную гепатэктомию и дальнейшую регенерацию печени проследили за изменениями ее массы.

В ранние сроки после операции (через 1-3 суток) у озерной лягушки наблюдали резкое уменьшение как абсолютной, так и относительной массы селезенки (рис.1). В дальнейшем, на 5-е сутки, наблюдалось некоторое увеличение массы органа, но по абсолютной и относительной массе она все еще составляла по отношению к контролю 56 % и 55,6% соответственно. Статистически достоверная разница с контролем по этим показателям сохранялась и через 10 сут после операции. На 20-е сутки имело место увеличение массы органа (89,2 % по абсолютной и 90,36 % по относительной массе по сравнению с контролем).

Селезенка петушков, так же как у лягушки, реагирует на частичную резекцию печени уменьшением массы в ранние сроки (через 1-10 сут) после операции (рис.2). Уже через сутки после этого абсолютная масса селезенки подопытных птиц максимально уменьшается, составляя 63,6% от контроля. Относительная масса селезенки максимально уменьшается через 10 сут после операции и составляет 57,9% от контроля. Через 20 сут после операции

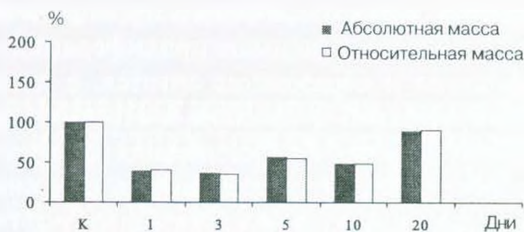


Рис. 1. Изменения массы селезенки по отношению к ее массы в контроле у *Rana ridibunda* в разные сроки после частичной гепатэктомии

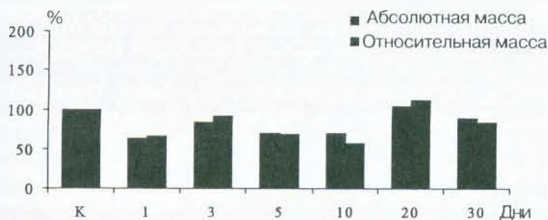


Рис.2. Изменения массы селезенки петушков в разные сроки после резекции печени.

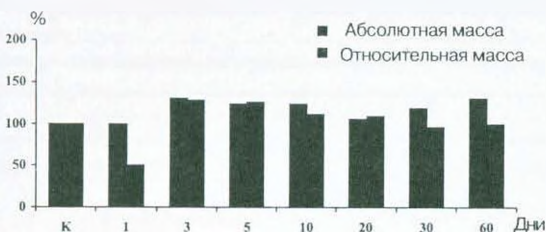


Рис.3. Изменения массы селезенки крыс в разные сроки после резекции печени.

абсолютная и относительная массы селезенки петушков незначительно превышают норму (104% и 113% соответственно), однако разница статистически недостоверна. Через 30 сут после резекции печени относительная масса селезенки подопытных петушков сравнивается с контролем, а абсолютная масса составляет 88,7% по отношению к контролю, хотя разница статистически недостоверна.

Через сутки после операции относительная масса селезенки подопытных крыс заметно уменьшается и составляет 50% по отношению к контролю, в то время как снижение абсолютной массы незначительно. В последующие сроки наших наблюдений как абсолютная, так и относительная массы селезенки крыс превышают контрольные показатели (рис.3). Максимальное и статистически достоверное увеличение массы селезенки наблюдается уже на

3-и сутки после резекции печени и составляет 130,34% и 128,57% соответственно.

Через 5 сут после операции наблюдается тенденция к снижению абсолютной массы селезенки, которая составляет в этот срок 124,06% от контроля, а на 20-й день значение этого параметра в наибольшей степени приближается к контрольному уровню (105,77% от контроля).

На 30-е сутки после резекции печени абсолютная масса селезенки крыс вновь несколько увеличивается, а относительная масса уменьшается и составляет 95,53% от нормы. Следует отметить, что наблюдаемая нами спленомегалия у крыс после частичной гепатэктомии в течение 10-15 суток была выявлена также другими авторами [6, 14].

Стереологический анализ позволил выявить некоторые внутренние

закономерности изменений массы селезенки кур и крыс при регенерации печени после частичной гепатэктомии.

Как видно на рис. 4 и 5, начиная с 4-х суток регенерации печени имеет место увеличение относительного объема белой пульпы в селезенке кур и крыс. Статистически достоверная разница с нормой у обеих групп сохраняется в течение первых 10-и суток эксперимента. У кур относительный объем белой пульпы продолжает увеличиваться и в последующие сроки опыта (рис. 5), а через 30 сут после частичной гепатэктомии в статистически достоверной степени превышает норму ($p < 0,01$). Что же касается селезенки крыс, то в ней относительный объем белой пульпы к концу первого месяца возвращается к норме (рис. 4).

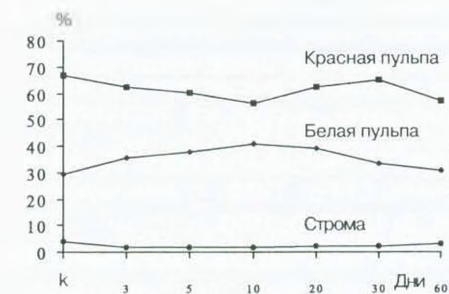


Рис. 4. Изменения объемных соотношений различных структурных компонентов селезенки крыс при регенерации печени.

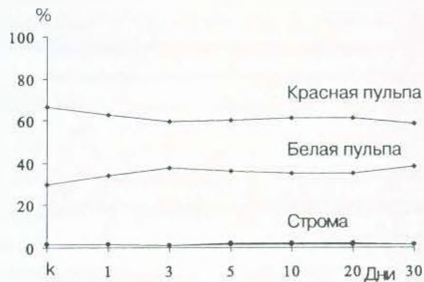


Рис. 5. Изменения объемных соотношений различных структурных компонентов селезенки петухов при регенерации печени.

Динамика изменения относительного объема красной пульпы у подопытных крыс и петухов отражает уже отмеченные закономерности изменений объема белой пульпы, находясь в обратной пропорциональности с ними.

Относительный объем стромы селезенки подопытных кур и крыс после частичной гепатэктомии выраженным изменениям не подвергается, лишь незначительно уменьшаясь по сравнению с нормой в период максимального увеличения относительного объема белой пульпы.

Таким образом, реакция селезенки домашних кур и лягушек на частичную гепатэктомию характеризуется уменьшением в ранние сроки опыта абсолютной и относительной массы, у крыс же в эти сроки наблюдается спленомегалия. Через 20 дней после резекции печени масса селезенки подопытных животных приближается к норме. Стереологический анализ выявляет увеличение относительного объема белой пульпы селезенки крыс и петухов в течение первого месяца регенерации печени, что свидетельствует о повышении ее функциональной активности в условиях регенерации печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арсентьева В.В. Актуальные вопросы современной гистопатологии, М., Ин-т морфологии человека РАМН, 85 с, 1988.
2. Бабаева А.Г. Регенерация и система иммуногенеза, М., Медицина, 255 с, 1985.
3. Бабаева А.Г. Известия АН. Серия биологическая, 3, 261-269, 1999.
4. Бабаева А.Г., Арсентьева В.В. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 8, с. 169, 1991.
5. Бабаева А.Г., Зотиков Е.А. Иммунология процессов адаптивного роста, пролиферации и их нарушений, М., Наука, 207 с, 1987.
6. Грушетская О.О. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 97, 44-46, 1977.
7. Зимин Ю.И. Итоги науки и техники ВИНТИ Сер. Иммунология, 12, с. 41, 1983.
8. Кадилов Е.В., Дживанян К.А., Тер-Оганян К.С. Бюлл.эксперим. биол. и мед., 73, 6, 124-125, 1972.
9. Колпащикова И.Ф., Солопаев Б.П., Ефимов А.В. и др. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 84, 10, 480-489, 1977.
10. Копланский А.Р. Мед. ж. Чувашии, 8, 3, 191-197, 1977.
11. Кульберг А.Я., Евнин Д.Н. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 3, с. 83, 1974.
12. Лакин Г.Ф. Биометрия, М., Высш. школа, 293 с., 1980.
13. Сobotка Л., Шимек Й. Чехосл. мед., 6, 3, 178-180, 1983.
14. Юдина Н.В. Автореф. канд. дисс., М., Ин-т морфологии человека АМН СССР, 17 с, 1980.
15. Higgins G.M., Anderson R.M. Arch. Path., 12, 186, 1931.
16. Sudo Nobuyuki, Yu Xiao-Nian, Sogawa Hiroshi, Kubo Chiharu NeuroImmuno Modulation, 4, 3, 113-119, 1997.
17. Tanaka K., Chen D., Negishi S., Aizawa S., Hoshi H. J. Anat., 193, 1, 49-59, 1998.

Поступила 20.VIII.2001

ТРАНСФОРМАЦИЯ ИНФОРМАЦИИ О ДВИЖУЩИХСЯ ЗРИТЕЛЬНЫХ СТИМУЛАХ НЕЙРОНАМИ ЛАТЕРАЛЬНОГО КОЛЕНЧАТОГО ТЕЛА КОШКИ

В.М. КОЗАК*, Б.А. АРУТЮНЯН-КОЗАК**, А.А. ЭКИМЯН**,
Г.Г. ГРИГОРЯН**, Г.А. ОРБЕЛЯН**

*Университет Карнеги-Меллон, Питтсбург, США

**Институт прикладных проблем физики НАН Армении, 375014, Ереван

Были исследованы ответы нейронов латерального коленчатого тела (ЛКТ) на движущиеся зрительные стимулы с отдельной регистрацией синаптических и спайковых потенциалов. Показано, что паттерны ответов синаптических потенциалов на разные формы движущегося зрительного стимула, а также разные скорости паттернов движения стимулов существенно отличаются от таковых спайковых потенциалов того же нейрона, причем приходящая к нейрону информация, как правило, менее дифференцирована. Установлено, что нейроны ЛКТ, обладая собственными механизмами обработки приходящей к ним информации, определенным образом модулируют входную зрительную информацию.

Հետազոտվել են կողմնային ծնկածն մարմնի (ԿԾՄ) նեյրոնների պատասխանները շարժվող գրգռիչներին: Նույն նեյրոնի մոտ առաձիճ գրանցվել են սինապտիկ պոտենցիալները, որպես մուտքային ինֆորմացիա և առանձին սպայկային պոտենցիալները, որպես ելքային ինֆորմացիա: Ցույց է տրվել, որ նեյրոնի պատասխանների մեջ գոյություն ունեն էական տարբերություններ շարժվող գրգռիչների դեմ, երբ համեմատվում են սինապտիկ և սպայկային պոտենցիալները: Ընդ որում, մուտքային ինֆորմացիան, որպես օրենք, համեմատաբար ավելի քիչ դիֆերենցված է: Փորձերի արդյունքները ցույց են տալիս, որ ԿԾՄ-ի նեյրոնները ունեն սեփական մեխանիզմներ, որոնց շնորհիվ արդյունավետ կերպով վերափոխում են մուտքային տեսողական ինֆորմացիան:

Responses of lateral geniculate nucleus (LGN) neurons to moving visual stimuli have been investigated using separate recordings of synaptic and spike activity of the same neuron. Results of experiments indicate essential differences in patterns of responses between synaptic and spike potentials. As a rule the input information of the neuron is less differentiated in comparison with that of output information. It has been found that LGN neurons possessing their own mechanisms of elaboration of input visual information definitely modulate it.

*Движущиеся стимулы - ЛКТ - трансформация информации -
рецептивное поле*

Исследования, проведенные рядом авторов [3, 5, 8, 9, 11], свидетельствуют о том, что нейроны латерального коленчатого тела (ЛКТ) обладают механизмом модуляции и дифференциации приходящей к ним зрительной информации, в результате чего переданная этими нейронами в зрительную кору информация является в определенной степени уже обработанной на уровне ЛКТ. Наибольший интерес в процессах центральной обработки зрительной информации представляют особенности обработки информации о конкретных движущихся объектах в поле зрения. Козак с соавт. [11] показали, что нейроны ЛКТ довольно разнообразны и отличаются друг

от друга характеристиками своих ответов на изменение величины, формы и скорости движения движущихся стимулов в рецептивном поле (РП) нейронов. В дальнейшем эти данные были подтверждены рядом исследований [1, 2, 6, 13, 14]. Таким образом, в настоящее время не подлежит сомнению тот факт, что нейроны ЛКТ обладают механизмом специализированной обработки приходящей из сетчатки зрительной информации.

Целью наших исследований являлось выяснение вопроса, какие характеристики имеет информация о движущихся предметах, передающаяся из сетчатки в ЛКТ, и каковы возможности переработки этой информации нейронами ЛКТ для передачи в зрительную кору свойств предметов, движущихся в поле зрения. Выяснение этого вопроса в первую очередь требует сопоставления входящей и выходящей от нейрона ЛКТ зрительной информации и установления разницы между их паттернами. Используя методику одновременной регистрации синаптических и спайковых потенциалов одного и того же нейрона в ЛКТ, нам удалось провести сравнительный анализ уровня обработки зрительной информации о движущихся стимулах нейронами ЛКТ.

Материал и методика. Опыты проведены на взрослых кошках массой 2,5-3,5 кг. После фиксации головы животного в стереотаксическом аппарате производили претригеминальное сечение ствола мозга для устранения болевой чувствительности. Часть животных обезболивали нембуталом (40мг/кг). Для регистрации синаптической и спайковой активности отдельных нейронов были использованы тонкие вольфрамовые микроэлектроды с диаметром кончика до 1 мкм [4]. Благодаря разным уровням запуска стандартного импульса от триггера Шмитта, мы имели возможность отдельно регистрировать постстимульные гистограммы (ПСТГ) ответов на движущиеся стимулы синаптических и спайковых потенциалов нейрона. В качестве движущихся стимулов использовали темные и светлые полосы величиной 2,5°x10°, темные треугольники 3x3° и темные кружки величиной 2°. Использовали также разные скорости движения стимула по РП нейрона: 2,5°/с, 8°/с, 25°/с. В ряде случаев для выяснения степени участия разных областей сетчатки, лежащих вне РП данного нейрона, движущийся стимул применяли ступенчато - вход в РП, задержка его в центре, выход и задержка вне РП. Такое применение движущихся стимулов позволяло исключить фактор световой адаптации как дополнительно модулирующий зрительную информацию элемент. Данные анализировали на анализаторе АНОПС-101 по программе постстимульных гистограмм. После опыта производили гистологическую верификацию местонахождения микроэлектрода.

Результаты и обсуждение. Всего было исследовано 58 нейронов ЛКТ. Регистрировали паттерны ответов нейрона на предъявление стимулов, движущихся с разной скоростью в виде синаптических потенциалов, затем на то же самое зрительное раздражение — спайковые потенциалы того же нейрона, что дало бы понятие о возможностях нейрона ЛКТ трансформировать информацию о скорости движения стимула по РП. Результаты опытов показали, что движение зрительных стимулов по РП вызывает пороку существенно отличающиеся друг от друга паттерны ответов синаптических потенциалов по сравнению со спайковыми потенциалами нейрона. В первой

серии опытов использовали разные скорости движения одного и того же зрительного стимула. На рис.1 представлены ответы нейрона на движение темного треугольника по его РП с разными скоростями. Стимул вызывает интенсивные разряды как синаптических (рис. 1 А, В, Д), так и спайковых потенциалов (рис.1 Б, Г, Е) нейрона, которые определенным образом отличаются друг от друга. Например, ПСТГ синаптических потенциалов не имеет того интенсивного пика при входе стимула в РП (рис.1 А, В), который характерен для спайков (рис.1 Б, Г) при скорости движения стимула $2,5^\circ/\text{сек}$ и $8^\circ/\text{сек}$. При изменении скорости движения такой характер соотношения паттернов синаптических и спайковых потенциалов в целом остается стабильным. Можно предположить, что данный нейрон существенно модулирует скорости движения зрительных стимулов. Около 10% исследованных нейронов имели такие характеристики. Наряду с этим, наблюдались нейроны с иными характеристиками, например, нейрон, представленный на рис.2 А-Е, резко меняет паттерны ПСТГ спайковых потен-

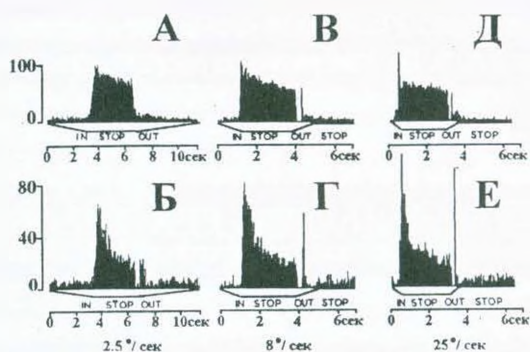


Рис.1. Синаптические и спайковые ответы нейрона ЛКТ на разные скорости движения. А, В, Д – ПСТГ синаптических потенциалов нейрона ЛКТ, вызванных входением в РП темного треугольника (задержка в центре РП – 3с). Б, Г, Е – ПСТГ спайковых потенциалов того же нейрона на движение темного треугольника через РП. Условия раздражения те же, что и в А, В, Д. (Ось абсцисс – время раздражения, сек, ось ординат – число импульсов в бинах. На остальных рисунках обозначения те же).

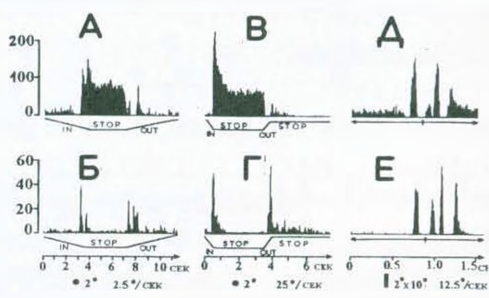


Рис.2. Анализ синаптической передачи в ЛКТ. А, В – ПСТГ синаптических потенциалов нейрона на движение темного пятна величиной 2° . Ответ тонический и сохраняется при задержке стимула в центре РП. Д – ПСТГ синаптических потенциалов на движение темного прямоугольника через РП. Б, Г, Е – ПСТГ спайковых потенциалов нейрона на движение темного пятна величиной 2° (Б, Г) и темного прямоугольника (Е) через РП нейрона.

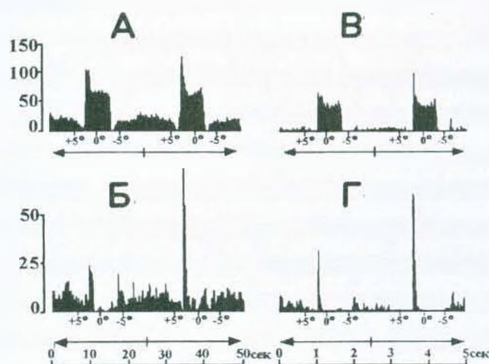


Рис.3. Ответы нейрона ЛКТ на движение светлого прямоугольника через РП. А, В – ПСТГ синаптических потенциалов на движение светлого прямоугольника через РП. Б, Г – ПСТГ спайковых потенциалов того же нейрона на движение светлого прямоугольника через РП. Ответ нейрона дирекциональный.

циалов (рис. 2 Б, Г, Е) по сравнению с таковыми синаптических потенциалов (рис. 2 А, В, Д). Как видно из рисунка, движение темного кружка (величиной 2°) через РП нейрона вызывает интенсивный поток синаптических потенциалов (рис. 2 А, В), тогда как спайки нейрона распределяются с совершенно другой закономерностью, реагируя только на вход и выход стимула из РП (рис. 2 Б, Г). Причем, когда стимул задерживается в центре РП, спайки тормозятся полностью в противоположность синаптическим потенциалам. Таким образом, данный нейрон четко трансформирует приходящую информацию в определенный паттерн импульсов, в котором кодирована информация о моментах входа и выхода стимула из РП, а также скорость его движения. Последнее видно в разницах паттернов ответов на разные скорости движения стимула $2,5^\circ/\text{с}$ (рис. 2 А, Б) и $25^\circ/\text{с}$ (рис. 2 В, Г). Этот же нейрон отвечает совершенно иным паттерном распределения как синаптических, так и спайковых потенциалов при изменении формы движущегося стимула на темный прямоугольник величиной 2×10 (рис. 2 Д, Е).

Однако наибольший интерес представляют нейроны, которые специфически реагируют на направление движения стимула по РП (дирекциональные нейроны). Например, нейрон, представленный на рис. 3, реагирует интенсивным залпом синаптических потенциалов как на движение слева направо, так и на обратное направление движения, т.е. ответ является недирекциональным (рис. 3 А, В). Тогда как спайки того же нейрона проявляют асимметричный ответ, интенсивно реагируя на направление движения стимула в РП слева направо (рис. 3 Б, Г), причем реакция на движение слева направо в несколько раз превышает интенсивностью реакцию нейрона на движение справа налево. Таким образом, нейрон из недирекциональной информации, переданной из сетчатки в виде синаптических потенциалов, формирует четкий дирекциональный ответ, который и передает в зрительную кору.

Согласно существующему до недавнего времени мнению исследователей, специфические реакции нейронов ЛКТ во многом обусловлены вторичными влияниями из зрительной коры, где формируются специфические реакции на зрительные стимулы [6, 7, 12]. Однако позднее опыты, проведенные на кошках с удаленной зрительной корой [13, 14], показали, что нейроны ЛКТ обладают специализированными ответами на зрительные раздражения и при отсутствии влияний из зрительной коры. Наши данные скорее всего подтверждают данные Томсона с соавт. [13, 14]. Результаты наших опытов позволяют предположить, что приходящая из сетчатки довольно интенсивная, но менее дифференцированная информация трансформируется и модулируется нейронами ЛКТ в выборочном ключе, благодаря чему нейрон передает в зрительную кору дискретную информацию о параметрах и свойствах зрительного стимула.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян-Козак Б.А., Экимян А.А., Казарян А.Л., Дец К., Григорян Г.Г., Козак А.Ю. Нейрофизиология, 3, 5, 413-420, 1995.
2. Арутюнян-Козак Б.А., Экимян А.А., Казарян А.Л., Козак А.Ю., Григорян Г.Г. Нейрофизиология, 4, 1, 77-81, 1996.
3. Козак В.М., Арутюнян-Козак Б.А., Экимян А.А., Орбелян Г.А. Биолог. журн. Армении, 3-4, 52, 1999.
4. Bishop P.O., Burke W., Davis R. J.Physiol., 162, 1, 451-472, 1962.
5. Cleland B.G., Morstyn R., Wagner H.G., Levick W.R. Brain Res., 91, 306-310, 1975.
6. Dreher B., Sanderson K.J. J.Physiol., 234, 1, 95-118, 1973.
7. Jones H.E., Sillito A.M. J.Physiol., 479, 475-486, 1994.
8. Kirk D.L., Levick W.R., Cleland B.G., Wassle H. Vis.Res. 16, 225-231, 1976.
9. Kirk D.L., Levick W.R., Cleland B.G. Vis.Res., 16, 233-236, 1976.
10. Kozak W., Rodieck R.W., Bishop P.O. J.Neurophysiol., 28, 1, 19-47, 1965.
11. Levick W.R., Dyster C.N., Takahashi E. Science, 165, 712-714, 1969.
12. Murphy P.C., Sillito A.M. Nature, 329, 5, 727-729, 1987.
13. Thompson K.G., Leventhal A.G., Zhou Y., Liu D. Vis.Neurosci., 11, 939-951, 1994.
14. Thompson K.G., Zhou Y., Leventhal A.G. Vis. Neurosci., 11, 927-938, 1994.

Поступила 18.IV.1999

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ ЗРИТЕЛЬНОЙ ИНФОРМАЦИИ

В.М. КОЗАК*, Б.А. АРУТЮНЯН-КОЗАК, А.А.ЭКИМЯН**, А.Л. КАЗАРЯН*,
Г.А.ОРБЕЛЯН****

**Университет Карнеги-Меллон, Питтсбург, США*

***Институт прикладных проблем физики НАН Армении, 375014, Ереван*

Изучалась роль межимпульсных интервалов синаптических потенциалов в формировании количества и распределения спайковых разрядов нейронов латерального коленчатого тела (ЛКТ), как основного механизма кодирования зрительной информации в центрах головного мозга. Результаты опытов показали, что количество спайков и их распределение во времени обратно коррелировано с количеством и распределением межимпульсных интервалов синаптических потенциалов. Чем длиннее межимпульсный интервал последних, тем большая вероятность возникновения спайка. Эта зависимость и определяет формирование информационного кода у нейронов ЛКТ.

Ուսումնասիրվել է կողմնային ձևված մարմնի (ԿԾՍ) նեյրոնների սինապտիկ պոտենցիալների միջիմպուլսային ինտերվալների դերը սպայկերի քանակի և բաշխման պատկերի ձևավորման մեջ, որպես գլխուղեղի կենտրոններում տեսողական ինֆորմացիայի կոդավորման հիմնական մեխանիզմ: Փորձերի արդյունքները ցույց են տալիս, որ սպայկերի քանակը և ըստ ժամանակի նրանց բաշխումը հակադարձ համեմատական են սինապտիկ պոտենցիալների քանակին և միջիմպուլսային ինտերվալների բաշխմանը: Որքան երկար են միջիմպուլսային ինտերվալները, այնքան ավելի մեծ է սպայկերի ծագման հնարավորությունը: Ենթադրվում է, որ այս փոխհարաբերությունն է պայմանավորում ԿԾՍ-ի նեյրոնների կողմից տեսողական ինֆորմացիայի ծածկագրի ձևավորումը:

The role of synaptic potential interpulse intervals in generation and distribution of lateral geniculate nucleus (LGN) neuron's spike potentials has been investigated. It was considered as a main mechanism in central processing of visual information. The results of experiments show that there is a correlation between the number and distribution of spikes and that of synaptic potential interpulse intervals. It was shown that as a rule LGN neuron spikes are generated at the longest intervals between synaptic potentials. This relationship is the basic factor in visual information coding mechanisms in the brain centers.

Нейрон ЛКТ - межимпульсный интервал - генерация спайка - синаптический потенциал

В настоящее время установлено, что нейроны латерального коленчатого тела (ЛКТ) не являются только релейными нейронами в процессах передачи зрительной информации из сетчатки в кору [1-3, 5-11]. Зрительная информация подвергается определенной обработке в ЛКТ, и из более общей, недифференцированной информации нейроны ЛКТ передают в зрительную кору дискретную, специализированную информацию о конкретных свойствах предметов в поле зрения и уровне общей освещенности [2, 10]. И хотя никем не оспаривается положение о том, что процесс обработки афферентной информации нейрон осуществляет определенным распределением межимпульсных интервалов (информационный код), тем не менее до настоящего времени нет достоверных данных о способах или механизмах,

которые осуществляют эту важную функцию центрального нейрона. Благодаря методике отдельной регистрации синаптических и спайковых потенциалов одного и того же нейрона ЛКТ [4], появилась возможность подробного изучения соотношения вход-выход информации нейрона и факторов, влияющих на это соотношение. Последнее рассматривается нами как возможный механизм трансформации информации на уровне нейрона ЛКТ. Настоящая статья представляет результаты наших исследований, посвященных этой проблеме.

Материал и методика. Методика операции и регистрации описаны в предыдущей статье (см. стр. 65-69). При помощи запуска триггером Шмитта отдельного стандартного импульса регистрировали синаптические и спайковые потенциалы одного и того же нейрона, которые затем анализировали по программе межимпульсных интервалов (МИ) на анализаторе АНОПС-101. Определенные соотношения синаптических и спайковых потенциалов, (количество спайковых/количество синаптических потенциалов) рассматривали как один из показателей степени трансформации информации исследуемым нейроном. После опыта производили гистологическую верификацию местонахождения электрода.

Результаты и обсуждение. Результаты наших опытов показывают, что, как правило, при раздражении сетчатки зрительными стимулами общее количество вызванных синаптических потенциалов в несколько раз превышает таковое спайковых потенциалов исследуемого нейрона, т.е. для возникновения одного спайка необходимо несколько возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП). Подробный анализ межимпульсных интервалов синаптических потенциалов показал, что оптимальными для генерации спайка являются длинные МИ. Количественно у большинства нейронов, как правило, МИ синаптических потенциалов преобладают в пределах 10-100 мсек. Оказалось, что в некоторых случаях один постсинаптический потенциал может вызвать залп нескольких спайков, но это наблюдается только тогда, когда синаптическому потенциалу, генерирующему залп, предшествует длинный (50 и более мсек) МИ. Из рис.1 видно, что амплитуда синаптических потенциалов положительно коррелирована с величиной МИ синаптических потенциалов, а именно, чем длиннее МИ, тем больше амплитуда синаптического потенциала (ордината на рис.1), а следовательно, и вероятность возникновения спайка. При интервалах 100 мсек и больше один синаптический потенциал может генерировать 2-3 спайка (рис.1). На рис.2 представлены данные, полученные путем сопоставления количества спайков исследуемого нейрона и количества синаптических потенциалов. Как видно из рис.2, чем больше количество спайковых потенциалов, тем выше отметка на оси ординат, что указывает на уменьшение частоты синаптических потенциалов, а следовательно, удлинение их МИ. Наибольшее количество спайков возникает при МИ 40 мсек и больше, соответственно величина соотношения количество спайков/синаптические потенциалы увеличивается. Из рис.2 видно также, что максимум данного соотношения соответствует МИ около 200 мсек. Таким образом, чем длиннее интервал между синаптическими потенциалами, тем больше амплитуда последующего ВПСП и, следовательно, вероятность генерации спайкового разряда нейрона.

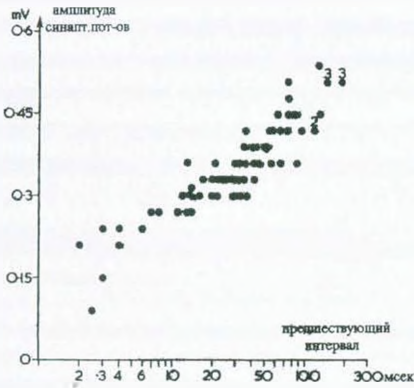


Рис. 1. Зависимость амплитуды синаптического потенциала от предшествующего межимпульсного интервала. (Ось абсцисс – межимпульсный интервал, мсек, ось ординат – амплитуда синаптического потенциала.)

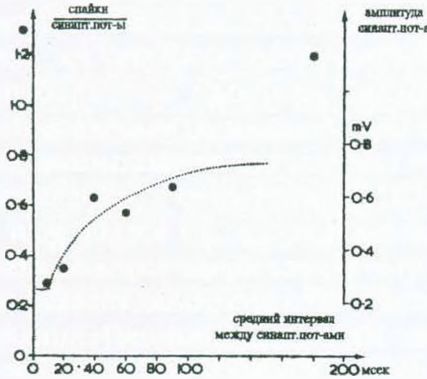


Рис. 2. Вероятность возникновения спайковых потенциалов от межимпульсных интервалов синаптических потенциалов. (Ось абсцисс – средний межимпульсный интервал синаптических потенциалов, ось ординат – соотношение число спайков/число синаптических потенциалов.)

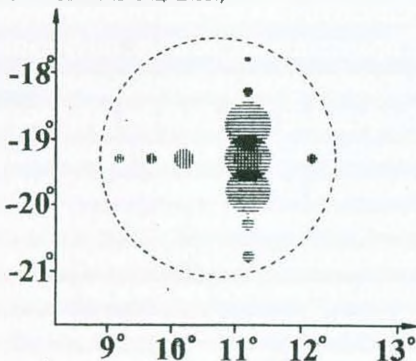


Рис. 3. Асимметричное расположение разрядного центра в рецептивном поле дирекционно-чувствительного нейрона в поле зрения.

Особый интерес представляли дирекциональные нейроны ЛКТ, отличающие направление движения стимула по РП. Оказалось, что они обладают РП с ассиметрично расположенным разрядным центром (рис. 3). При движении слева направо в таком РП зрительный стимул проходит большую часть менее чувствительного пространства РП по сравнению с движением справа налево. Таким образом, налицо ассиметричное распределение как количества синаптических потенциалов, так и их межимпульсных интервалов при двух противоположных направлениях движения зрительного стимула через РП, что, надо полагать, может являться причиной ассиметричного ответа клетки и тем самым дополнительным механизмом, обеспечивающим специализированный дирекциональный ответ нейрона. Опыты показали, что амплитуда возбуждающих синаптических потенциалов снижается при больших частотах их возникновения (превалирование коротких интервалов) и, наоборот, амплитуда ВПСП повышается при редкой частоте их возникновения (превалирование длинных интервалов). Поскольку генерация спайков зависит от пороговой величины ВПСП, наиболее вероятными для передачи информации являются его низкие частоты с длинными межимпульсными интервалами.

Таким образом, результаты опытов позволяют предполагать, что распределение межимпульсных интервалов ВПСП, модулирующих уровень мембранного потенциала нейрона, фактически является

основой механизма кодирования в процессе передачи зрительной информации из сетчатки нейронам ЛКТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян-Козак Б.А., Экимян А.А., Казарян А.Л., Дец К., Козак А.Ю., Григорян Г.Г. Нейрофизиология, 3, 5, 413-420, 1995.
2. Арутюнян-Козак Б.А., Экимян А.А., Казарян А.Л., Дец К., Козак А.Ю., Григорян Г.Г. Нейрофизиология, 4, 1, 77 – 81, 1996.
3. Козак В.М., Арутюнян-Козак Б.А., Экимян А.А., Орбелян Г.А. Биолог. журн. Армении, 52, 3-4, 1999.
4. Bishop P.O., Burke W., Davis R. J. Physiol., 162, 1, 451-472, 1962.
5. Cleland B.G., Dubin M.W., Levick W.R. Nature, 231, 191-192, 1971.
6. Jones H.E., Sillito A.M. J. Physiol., 479, 475-486, 1994.
7. Kozak W., Rodieck R.W., Bishop P.O. J. Neurophysiol., 28, 1, 19-47, 1965.
8. Lee b.b., Creutzfeldt O.D. Exp. Br. Res., 35, 3, 547-557, 1979.
9. Levick W.R. Australian Physiol. and Pharm. Soc., 8, 9-16, 1977.
10. Thompson K.G., Leventhal Au.G., Zhou Y., Liu D. Vis. Neurosci., 11, 939-951, 1994.
11. Thompson K.G., Zhou Y., Leventhal Au.G. Vis. Neurosci., 11, 923-938, 1994.

Поступила 18.IV.1999

РОЛЬ ВЕСТИБУЛЯРНОЙ АФФЕРЕНТНОЙ ИМПУЛЬСАЦИИ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НАСТРОЙКЕ РАЗЛИЧНЫХ ЯДЕР АМИГДАЛЫ

С.С. ГРИГОРЯН, Э.С. ГЕВОРКЯН, А.М. МАРТИРОСЯН, С.Г. САРКИСЯН

*Ереванский государственный университет,
кафедра физиологии человека и животных, 375025*

В условиях острого опыта на кроликах методом экстраклеточного отведения исследована реакция нейронов базолатерального, кортикомедиального и центрального ядер амигдалы на одиночную и частотную стимуляцию вестибулярного нерва и латерального вестибулярного ядра Дейтерса. Установлено, что наивысшей реактивностью на вестибулярную афферентную импульсацию обладают нейроны центрального ядра амигдалы. Преимущественной формой его реакции были тоническая активация и фазное возбуждение. Показано, что восходящая импульсация от вестибулярного нерва и ядра Дейтерса поступает в амигдалу, переключаясь на различных структурных уровнях головного мозга, о чем свидетельствует широкий разброс латентных периодов ответов зарегистрированных нейронов.

Սուր փորձի պայմաններում արտաբջջային գրանցման եղանակով ուսումնասիրվել է ճագարների նշահամալիրի կեղևամիջային, հիմակողմային և կենտրոնական կորիզների նեյրոնների պատասխան ռեակցիան անդաստակային նյարդի և Դեյտերսի կողմնային անդաստակային կորիզի մեկական և հաճախական գրգիռների ազդեցության դեպքում: Բացահայտվել է, որ անդաստակային կենտրոնածիզ ազդակահոսքին ամենաբարձր ռեակտիվություն են ցուցաբերել նշահամալիրի կենտրոնական կորիզի նեյրոնները: Նշահամալիրի նեյրոնների պատասխան ռեակցիաներում գերակշռել են լարումային ակտիվացումը և փուլային դրոշմը: Ցույց է տրվել, որ անդաստակային նյարդից և Դեյտերսի կորիզից եկող ազդակահոսքը հասնում է նշահամալիր, փոխարկվելով ուղեղի տարբեր կառուցվածքային մակարդակներում, որի մասին են վկայում գրանցված նեյրոնների պատասխանների զաղտնի շրջանների տատանումները:

The reaction of neurons of the basolateral, corticomедial and central amygdaloid nuclei at single and frequent stimulation of the vestibular nerve and the lateral vestibular nucleus of Daiters has been studied by the method of extracellular registration during acute experiments on rabbits. The neurons of the central nucleus of amygdala have the highest reactivity on the afferent vestibular impulsation. The tonic activation and the phasic activation were the primary forms of reaction of amygdala neurons. The ascending impulsation of vestibular nerve and nucleus of Daiters rich the amygdala switching on the different structure levels of brain. It's the testimony of wide sparseness of latent periods of registered neurons answers.

Вестибулярный нерв - амигдала - стимуляция - афферентная импульсация - латеральное вестибулярное ядро

Изучение функциональной организации лимбической системы мозга на протяжении многих лет находится в центре внимания физиологов. В научной литературе появляются все новые и новые экспериментальные исследования как морфологического, так и физиологического характера, выявляющие различные аспекты интегративной функции лимбической системы и уточняющие ее место в деятельности целого мозга. Одной из ключевых структур лимбической системы, где локализованы интегративные

центры жизненно важных функций организма, является амигдала. Благодаря тесным связям с корой и подкорковыми образованиями мозга, она оказывает мощное влияние на мотивационно-эмоциональную сферу организма, эндокринную систему, висцеро-вегетативные реакции, высшую нервную деятельность, память и сенсорное восприятие.

В настоящее время накоплен обширный экспериментальный материал, о структурно-функциональной организации различных ядер амигдалы [1, 3]. Ряд исследований посвящен изучению изменения суммарной электрической активности и реакций нейронов амигдалы при применении сенсорных стимулов разной модальности. Показано, что разномодальная периферическая афферентация (соматосенсорная, висцеральная, световая и слуховая) изменяет активность нейронов амигдалы [7, 11]. Однако имеющиеся единичные нейрофизиологические работы, касающиеся амигдало- вестибулярных взаимоотношений, не дают представления об особенностях проекции вестибулярной афферентной системы в различных ядрах амигдалы [5, 8, 16]. В литературе мы не встречали также электрофизиологических исследований, посвященных изучению характера электрических реакций нейронов различных ядер амигдалы при возбуждении афферентной системы вестибулярного нерва и латерального вестибулярного ядра Дейтерса, что и послужило предпосылкой для выполнения данного исследования.

Материал и методика. Исследования проведены в условиях острого опыта на 26 кроликах (массой 2,5-3,0 кг), наркотизированных внутривенным введением хлоралозо-небуталовой смеси (30 и 10 мг/кг соответственно) и обездвиженных дитилином. Предварительно производили трахеотомию и животных переводили на искусственное дыхание. Стимуляцию вестибулярного нерва осуществляли биполярными стальными электродами, зафиксированными в круглом (корешок кохлеарного нерва) и овальном (корешок вестибулярного нерва) отверстиях среднего уха. Вестибулярное ядро Дейтерса раздражали биполярными константовыми электродами (диаметр 100 мкм, межэлектродное расстояние 0,5 мм), ориентированными по Крейдичу: F +2,5; L 2,5; V 17,8 (4). Одиночное и частотное раздражения вестибулярного нерва и латерального вестибулярного ядра осуществляли прямоугольными импульсами (длительность 0,1-0,5 мс, амплитуда 15-30 В, частота 1,0; 5,0; 10,0; 20,0; 60,0 Гц), подаваемыми от двухканального стимулятора "Физиовар". Экстраклеточное отведение импульсной активности базолатерального (F 0; L 6,5- 7,5; V 14,2-15,2), кортикомедиального (F-I; L 2,4-3,0; V 16,0-17,2), центрального (F-I; L 4,5- 6,0; V 13,5-14,5) ядер амигдалы осуществляли стеклянными микроэлектродами, заполненными 3 М раствором KCl (диаметр кончика 2 мкм, сопротивление 2-5 МОм), ориентированными в соответствующие структуры согласно координатам атласа Фифковой и Маршала [2]. Локализацию кончиков раздражающих и отводящих электродов контролировали стереометрически и гистохимически.

Результаты и обсуждение. У интактных кроликов было исследовано 327 фоновоактивных нейронов, зарегистрированных из различных ядерных образований амигдалы, 254 (77,7%) из которых были реактивны на одиночную и частотную стимуляцию вестибулярного нерва, а 182 (55,7%) - латерального вестибулярного ядра. Из всего числа спонтанно-активных единиц 24 (7,3%) клетки обладали пачечно-групповым типом активности, остальные 303 (92,7%) нейрона генерировали одиночные разряды в регулярном и нерегулярном ритмах. В ряде случаев стимуляция вестибулярного нерва и латерального вестибулярного ядра приводила к изменению количества групповых разрядов и перестройке количества

импульсов в пачке без заметного изменения межпачечных интервалов.

Изучение частотного спектра спонтанно-активных единиц с одиночной импульсацией выявило превалирование нейронов 199 (65,7%) со сравнительно низким уровнем фонового разряда (до 10 имп/с). Незначительное количество нейронов (15,2%) характеризовалось высокой частотой импульсации (более 30 имп/сек). Небольшая группа клеток (20,1%) имела спонтанную активность 10-30 имп/сек. Причем, нейроны с одинаковыми характеристиками были сосредоточены не в какой-то одной ядерной группировке амигдалы, а диффузно распределены по всем ее ядрам. Наличие большого количества фоновоактивных единиц во всех ядрах амигдалы, по-видимому, обусловлено постоянной бомбардировкой ее нейронов импульсами, поступающими по различным интеро- и экстерорецептивным афферентным путям.

Исследование реактивности спонтанно-активных нейронов различных ядер амигдалы на вестибулярную афферентную импульсацию показало, что одиночная стимуляция вестибулярного нерва и латерального вестибулярного ядра менее эффективна, чем частотная (табл. 1). Так, в кортикомедиальном ядре амигдалы на одиночную стимуляцию вестибулярного нерва и вестибулярного ядра реагировали соответственно 52,2% и 31,3% исследованных единиц; частотная стимуляция приводила к повышению их реактивности до 78,3% и 52,2%. В центральном же ядре амигдалы реактивность нейронов на частотную стимуляцию вестибулярного нерва и ядра повышалась до 83,2% и 59,8%, при 44,9% и 31,8% в случае одиночной стимуляции. В базолатеральном ядре реактивными на одиночную стимуляцию вестибулярного нерва и латерального вестибулярного ядра были 35,2% и 32,4% исследованных клеток, частотная стимуляция приводила к повышению реактивности соответственно до 71,4% и 55,2%. Причем замечено, что реактивность нейронов амигдалы не зависела от уровня их фоновой частоты импульсации. Повышение реактивности нейронов амигдалы при переходе от одиночного раздражения к частотному объясняется, возможно, вовлечением в процесс возбуждения в этих условиях дополнительных синаптических переключений на пути к амигдале, а также интегративными свойствами нейронов амигдалы - возбудимостью при низко- и суммацией возбуждения при высокочастотной стимуляции за счет подключения интернейронных механизмов амигдалы [1, 3]. Анализ полученных данных выявил наивысший уровень реактивности нейронов центрального ядра амигдалы (83,2%), что, возможно, обусловлено содержанием в нем большого количества нейропептидов, опосредующих соматомоторные, висцеральные и поведенческие ответы на стрессорные сенсорные стимулы [7, 12] и наличием прямых связей с ретикулярной формацией ствола мозга [10]. Последняя является вспомогательной активирующей структурой для лимбических образований мозга, а также различных ядер продолговатого мозга, являющихся первым переключающим звеном интеро- и экстерорецептивной импульсации, поступающей к ним по афферентным волокнам блуждающего, чревного и седалищного нервов [1, 2, 5, 15]. Нейроны всех исследованных ядер амигдалы обладали большей реактивностью на стимуляцию вестибулярного нерва, чем латерального

вестибулярного ядра, что, возможно, обусловлено представительством первичных вестибулярных афферентов во всех четырех вестибулярных ядрах, мозжечке и ретикулярной формации [11]. Как видно из табл. 1, при частотном раздражении вестибулярного нерва и ядра Дейтерса во всех исследованных структурах амигалды регистрировались ответы нейронов тонического типа, с длительными стойкими изменениями спонтанного ритма, выраженными как в виде реакций тонического урежения, так и учащения с преобладанием последнего.

Таблица 1. Реакции нейронов различных структур амигалды на одиночное и частотное раздражения вестибулярного нерва и латерального вестибулярного ядра

Структура	Кол-во нейронов	Одиночное раздражение						Частотное раздражение		
		тонические реакции			фазные реакции			тонические реакции		
		всего	активация	торможение	всего	активация	торможение	всего	активация	торможение
АСМ	115									
ВН	90 (78,3%)	30	23 (76,7%)	7 (23,3%)	30	18 (60,0%)	12 (40,0%)	30	17 (56,7%)	13 (43,3%)
ЛВЯ	60 (52,2%)	22	13 (59,1%)	9 (40,9%)	14	9 (64,3%)	5 (35,7%)	24	13 (54,2%)	11 (45,8%)
АС	107									
ВН	89 (83,2%)	33	21 (63,6%)	12 (36,4%)	15	6 (40,0%)	9 (60,0%)	41	23 (56,1%)	18 (43,9%)
ЛВЯ	64 (59,8%)	19	12 (63,1%)	7 (36,8%)	15	6 (40,0%)	9 (60,0%)	30	17 (56,7%)	13 (43,3%)
ABL	105									
ВН	75 (71,4%)	25	15 (60,0%)	10 (40,0%)	12	5 (41,7%)	7 (58,3%)	38	23 (60,5%)	15 (39,5%)
ЛВЯ	58 (55,2%)	17	11 (64,7%)	6 (35,3%)	17	7 (41,2%)	10 (58,8%)	24	15 (62,5%)	9 (37,5%)

Примечание: АСМ - кортико-медиальное ядро амигалды, АС - центральное ядро амигалды, ABL - базо-латеральное ядро амигалды, ВН - вестибулярный нерв, ЛВЯ - латеральное вестибулярное ядро.

В единичных случаях наблюдалось полное торможение фонового ритма. Преимущественно тонический характер ответных реакций и длительное последствие при применении частотной стимуляции, по-видимому, является характерной особенностью нейронов амигалдарного комплекса и играет важную роль в сохранении информации, поступающей к нейронам данной структуры по различным афферентным проводникам. В работах авторов, изучавших влияние периферических и центральных стимулов разной модальности на активность нейронов амигалды, также описаны реакции подобного типа [1, 3, 5, 16]. Предполагается, что фазический тип реакций связан с возбуждением аксосоматических, а тонический - аксодендритических синапсов [1]. Следовательно, надо полагать, что синапсы аксосоматического типа обеспечивают преимущественно пусковые, а аксодендритического - модулирующие влияния. При одиночной стимуляции, наряду с тоническими,

регистрировались и фазные реакции активации и торможения. Различные типы реакций нейронов амигдалы на одиночную стимуляцию вестибулярного ядра представлены на рис. 1 и 2. Реакции фазного торможения характеризовались начальным торможением, возникающим либо сразу после раздражения, либо со скрытым периодом 100-300 мс. Фазно-возбудительным реакциям был характерен широкий разброс латентных периодов (10-80 мс), что свидетельствует как о наличии разного количества синаптических переключений, так и о неоднородности путей, по которым восходящая информация поступает на нейроны амигдалы. При этом фазно-возбудительные реакции с самым коротким латентным периодом регистрировались из центрального и кортикомедиального, а относительно длинным - базолатерального ядра амигдалы. Вслед за экстраспайком наблюдалась тормозная пауза, длительность которой варьировала от 80 до 120 мс. Во всех случаях реакции активации превалировали над тормозными, что, возможно, обусловлено выделением в окончаниях вестибулярного нерва при стимуляции активирующего нейротрансмиттера глутамата [13]. Тормозное влияние вестибулярной импульсации на нейроны амигдалы осуществляется, возможно, через мозжечок, а облегчающее - ретикулярную формацию ствола мозга [6, 14], а также может быть обусловлено конвергенцией вестибулярных и лимбических влияний на уровне ствола и продолговатого мозга [8, 9, 16].

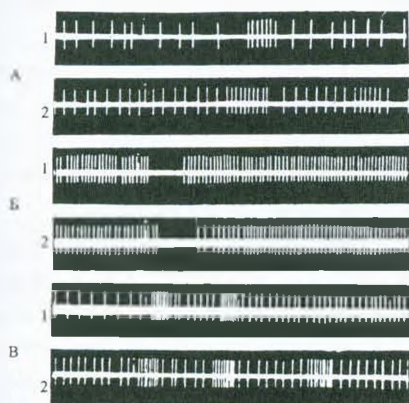


Рис. 1. Фазновозбудительные реакции нейронов центрального (А), кортикомедиального (Б) и базолатерального (В) ядер амигдалы с различным латентным периодом на стимуляцию вестибулярного нерва (1) и латерального вестибулярного ядра (2). Калибровка 0.1 сек.

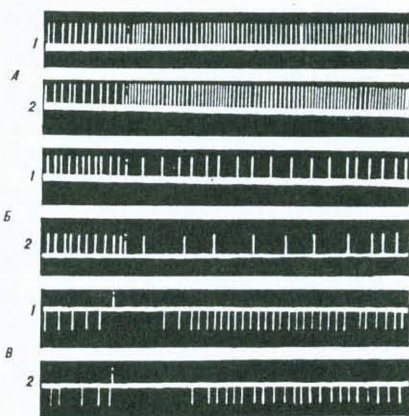


Рис. 2. Тонические реакции нейронов центрального (А), кортикомедиального (Б) и базолатерального (В) ядер амигдалы на стимуляцию вестибулярного нерва (1) и латерального вестибулярного ядра (2). Калибровка 0.1 сек.

Таким образом, поток вестибулярной афферентной импульсации, непрерывно поступающий на лимбические структуры мозга при совершении произвольных движений и воздействии динамических факторов, повышает их активность и функциональную настройку и по принципу обратных связей (feed-back механизм) вовлекает их в процесс обеспечения оптимального уровня

активности вестибулярных нейронов и направлен на поддержание вегетативного и внутримозгового гомеостаза организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баклаваджян О.Г. Нейрональная организация амигдало-висцеральной рефлекторной дуги. Д., 1996.
2. Буреш Я., Петрань М., Захар И. Электрофизиологические методы исследования. М., 1962.
3. Илюченко Р.Ю., Гилинский М.А. и др. Миндалевидный комплекс (связи, поведение, память). Н., 1981.
4. Крейдич Ю.В. Журнал ВНД, 24(4), 854-856, 1974.
5. Пруцкова Н.П., Петров Ю.А. Нейрофизиология., 22 (5), 596-604, 1990.
6. Azzena G.B., Melis F., Caria G.P. et al. Arch. Italiennes de Biologie, 131, 127-136, 1993.
7. Grey T.S. Neurobiology, Neuroendocrinology (Eds. M.R. Brow et al.). N.Y., Dekker, 79-89, 1991.
8. Mizuno N., Oomura Y. Brain Res., 307, 109-116, 1984.
9. Oomura Y., Nishino H., Aou S., Lenard L. Brain Res., 365, 335-339, 1986.
10. Ottersen O.P. J. Comp. Neurol., 194, 267-289, 1980.
11. Pflieger S.F., Cabana T. Anat. Embriol. Berlin, 194 (1), 75-88, 1996.
12. Raggenbass M., Vazzi S., Tribollet F. et al. Brain Res., 531, 85-90, 1990.
13. Raymond I., Demenes D., Nicoullon A. Amsterdam: Elsevier, 76, 29-43, 1988.
14. Shinoda Y., Yoshida K. Exp. Brain Res., 22, 97-111, 1975.
15. Swanson L., Hartmann B. Neuroscience Lett., 16(1), 55-60, 1990.
16. Venero J.L., Hefti F.N., Beek K.D. Neuroscience, 67(4), 855-860, 1995.

Поступила 03.XII.1999

РЕАКЦИЯ БУЛЬБАРНЫХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ НА РАЗДРАЖЕНИЕ МЕДИОДОРСАЛЬНОГО ЯДРА ТАЛАМУСА В НОРМЕ И ПРИ ГИПОКСИИ

Н.С.АКОПЯН, Н.В.САРКИСЯН, Н.Ю.АДАМЯН, М.А.КАРАПЕТЯН

*Ереванский государственный университет,
кафедра физиологии человека и животных, 375025*

В динамике гипоксического воздействия изучено влияние электрической стимуляции ассоциативного медиодорсального (МД) ядра таламуса на импульсную активность дыхательных нейронов продолговатого мозга. В условиях нормоксии установлены тормозящие и возбуждающие эффекты с выраженным преобладанием тормозящих влияний на импульсную активность нейронов бульбарного дыхательного центра. В начальной фазе гипоксии на фоне гипоксической активации частотного разряда нейронов тормозящее влияние стимуляции МД ядра таламуса было более выраженным, чем в условиях нормоксии. Во второй фазе гипоксического воздействия тормозящее влияние таламуса было незначительным.

Թթվածնային քաղցի պայմաններում ուսումնասիրվել է թալամուսի ասոցիատիվ մեդիոդորսալ կորիզի էլեկտրական խթանման ազդեցությունը երկարավուն ուղեղի շնչառական նեյրոնների իմպուլսային ակտիվության վրա: Նորմայի պայմաններում նկատվել է կենտրոնի բուլբար նեյրոնների իմպուլսային ակտիվության դրդում և արգելակում, որտեղ առավել արտահայտված է արգելակող ազդեցությունը: Թթվածնային քաղցի սկզբնական փուլում հիպոքսիկ ակտիվացիայի վրա թալամուսի մեդիոդորսալ կորիզի արգելակող ազդեցությունը եղել է առավել արտահայտված, քան նորմայի պայմաններում: Թթվածնային քաղցի երկրորդ փուլում թալամուսի արգելակող ազդեցությունը եղել է ոչ նկատելի:

Under conditions of oxygen deficiency the influence of electrical stimulation of associative mediodorsal thalamic nucleus on the impulsive activity of bulbar respiratory neurons was studied. Under conditions of normoxia both activation and inhibition of impulsive activity of bulbar respiratory neurons are observed with inhibitory action predominance. At the initial stage of oxygen deficiency on the hypoxic activation background the inhibitory action of mediodorsal thalamic nucleus is more expressed than under conditions of normoxia. At the second stage of hypoxia the inhibitory influence of thalamus was insignificant.

*Нормоксия - гипоксия - МД ядро таламуса - экспираторные
и инспираторные нейроны*

В настоящее время установлено, что широкая конвергенция соматических и висцеральных импульсов на нейронах ассоциативных и специфических ядер способствует активному участию таламуса в регуляции вегетативных функций и интеграции сомато-висцеральных поведенческих реакций организмов [7]. Следовательно, изучение нейронных механизмов эфферентных влияний таламуса имеет важное значение для выяснения центральной регуляции дыхания.

Установлено, что из всех ядер таламуса с висцеральными функциями связано преимущественно МД ядро таламуса, однако данные о влиянии этого ядра на активность дыхательных нейронов продолговатого мозга в динамике гипоксического воздействия отсутствуют, что послужило основанием для проведения наших исследований.

Материал и методика. Эксперименты проводили в условиях острого опыта на 32 белых крысах массой 180-250 г, наркотизированных смесью хлоралозы и нембутала (30 и 10 мг/кг соответственно, внутривенно). Животных фиксировали в стереотаксическом приборе для введения раздражающих электродов и отведения активности дыхательных нейронов.

Электрическое раздражение ассоциативного МД ядра таламуса производили константовыми биполярными электродами (диаметр проволоки 0,2 мм, межэлектродное расстояние 0,2-0,3 мм), ориентированными по координатам стереотаксического атласа Фифковой и Маршала [2], для этого подавали прямоугольные импульсы тока длительностью 0,1-0,3 мс, амплитудой 8-10 В и частотой 100 имп/с в течение 8-10 с.

Для отведения активности бульбарных дыхательных нейронов после частичного удаления мозжечка (методом отсасывания) микроэлектрод опускали в область задвижки (овех) продолговатого мозга. Для идентификации экспираторных и инспираторных нейронов производили одновременную запись дыхания посредством угольного датчика на первом канале осциллографа С1-18. Экстраклеточную регистрацию дыхательных нейронов производили стеклянными микроэлектродами, заполненными 4 М раствором NaCl (диаметр кончика 1,5-2,0 мкм, сопротивление 3-5 МОм). Потенциалы от микроэлектрода через катодный повторитель поступали на усилитель переменного тока УБП-1-02, затем на второй канал осциллографа.

Эксперименты проводили в динамике гипоксического воздействия. Для этого животное, фиксированное в стереотаксическом приборе, помещали в барокамеру для "подъема". Регистрацию изучаемых показателей производили до "подъема" в условиях нормоксии (pO_2 - 142 мм рт.ст.), на высоте 4-5 тыс.м (pO_2 - 109-85 мм рт.ст.) - первая фаза, на "высоте" 7,5-8 тыс.м (pO_2 - 64-58 мм рт.ст.) - вторая фаза и после "спуска" в условиях нормального атмосферного давления. "Подъем" и "спуск" в барокамере производили со скоростью 15-20 м/с.

После эксперимента раздражаемую структуру электролитически разрушали для последующего гистологического контроля.

Статистическую обработку данных производили по методу Ойвина [6].

Результаты и обсуждение. При исследовании влияния раздражения МД ядра таламуса на импульсную активность бульбарных дыхательных нейронов изучали реакции 45 экспираторных и 28 инспираторных нейронов.

В условиях нормоксии на раздражение МД ядра таламуса из 45 экспираторных нейронов подавление активности наблюдалось у 29 нейронов (64,4%), активация - у 10 (22,2%), а 6 нейронов (13,4%) не проявили какой-либо реакции на раздражение. Из 28 инспираторных нейронов на раздражение отвечали подавлением активности 20 (71,4%), повышением - 6 (21,4%), а 2 - (7,2%) оказались ареактивными.

С целью наиболее точной оценки характера сдвигов импульсной активности нейронов на раздражение МД ядра таламуса была определена степень изменений их активности. Было установлено, что экспираторные и инспираторные нейроны, отвечающие на раздражение МД ядра таламуса торможением, уменьшали среднюю частоту импульсации соответственно на 36,29 и 40,30%, а нейроны, отвечающие активацией, увеличивали ее на 30,04 и 32,71% соответственно (табл. 1).

В условиях нормоксии раздражение МД ядра таламуса оказывает на дыхание, как и на импульсную активность нейронов преимущественно тормозящее влияние, что выражалось в основном в урежении дыхания.

Эти данные послужили контролем, после этого были проведены исследования на тех же нейронах в фазе подъема животных в барокамере.

Таблица 1. Изменения частоты импульсной активности нейронов дыхательного центра продолговатого мозга крыс при раздражении МД ядра таламуса в динамике гипоксического воздействия

Время регистрации	Торможение частота, имп/с		Р	Изме- нения, %	Активация частота, имп/с		Р	Изме- нения, %
	до раздра- жения	на фоне раздра- жения			до раздра- жения	на фоне раздра- жения		
	Экспираторные нейроны							
До "подъема"	35,22±3,41	22,44±2,22	0,01	36,29	34,82±3,21	45,28±3,62	0,02	30,04
На высоте 4-5 тыс.м	38,37±3,24	21,61±2,11	0,001	43,68	39,16±3,65	52,50±4,68	0,02	34,06
На высоте 7,5-8 тыс.м	26,82±2,11	23,90±1,97	0,5	10,89	24,64±2,02	26,66±2,13	0,5	8,19
После "спуска"	31,60±3,16	23,36±2,25	0,05	26,06	30,84±2,14	38,12±2,51	0,02	23,60
	Инспираторные нейроны							
До "подъема"	37,42±3,25	22,34±2,19	0,001	40,30	36,28±2,93	48,15±4,23	0,01	32,71
На высоте 4-5 тыс.м	40,53±3,48	22,64±2,11	0,001	44,15	36,50±2,76	49,76±4,18	0,01	36,32
На высоте 7,5-8 тыс.м	28,35±2,13	26,55±2,14	0,5	6,35	28,54±2,21	31,14±2,84	0,5	9,11
После "спуска"	33,71±3,64	21,43±2,14	0,01	36,43	31,63±2,03	40,55±3,15	0,02	28,20

Примечание: В таблице приводятся средние значения вычисленных величин: ошибка среднего - $M \pm m$ и Р.

В начальной фазе подъема (4-5 тыс.м) под воздействием небольшого понижения pO_2 импульсная активность всех функционирующих нейронов была несколько учащена (от 8 до 10%). На таком фоне гипоксической активации продолжали проявлять активность 40 экспираторных нейронов (89%), из них на раздражение МД ядра таламуса отвечали торможением 27 нейронов (67,5%), активацией - 10 (25%), а 3 - (7,5%) оказались ареактивными. Реакция 25 инспираторных нейронов (89%) на такое же раздражение составляла соответственно 17 (68%), 6 (24%) и 2 (8%). При этом экспираторные нейроны, отвечающие на раздражение торможением, уменьшали среднюю частоту разряда на 43,68%, нейроны, отвечающие активацией, увеличивали среднюю частоту разряда на 34,06%, а инспираторные нейроны - соответственно 44,15 и 36,32% (табл. 1).

В начальной фазе подъема при гипоксической активации повышается функциональное состояние как раздражаемого дыхательного центра, так и раздражающего таламуса, что, очевидно, повышает чувствительность дыхательного центра, и эффект тормозящего влияния МД ядра таламуса на дыхание по сравнению с нормой тоже повышается.

При увеличении высоты во второй фазе гипоксии в результате ухудшения функционального состояния нейронов часть их полностью угнеталась, а другая - резко сокращала частоту импульсации. Так, продолжали оставаться активными 30 экспираторных нейронов (67%), 20 (66,7%) из которых отвечали снижением средней частоты импульсов в залпе, 7 (23,3%) - повышением средней частоты импульсов в залпе, а 3 (10%) оставались ареактивными. Из оставшихся активными у 21 инспираторного нейрона

(75%) у 12 (57,2%) наблюдалось снижение частоты разряда, у 6 (28,6%) - повышение частоты разряда, а 3 - (14,3%) были ареактивными. При этом экспираторные и инспираторные нейроны, отвечающие на раздражение торможением, уменьшали среднюю частоту разряда соответственно на 10,89 и 6,35%, а нейроны, отвечающие на раздражение активацией, увеличивали ее на 8,19 и 9,11 % соответственно (табл. 1). Как видно, в этих условиях ответоспособность как экспираторных, так и инспираторных нейронов на раздражение резко понижается.

Во второй фазе, в условиях острого дефицита кислорода, наряду с резким угнетением активности дыхательных нейронов, дыхание урежалось и становилось поверхностным. На таком фоне влияние стимуляции МД ядра таламуса сильно ослаблялось, в чем, несомненно, играло роль и ухудшение функционального состояния самого таламуса.

После спуска животных в обычные условия атмосферного давления постепенно восстанавливались исходное состояние дыхания импульсной активности дыхательных нейронов и реакция их на раздражение того же ядра таламуса.

При изучении реакций дыхательных нейронов продолговатого мозга на раздражение МД ядра таламуса в условиях нормоксии было зарегистрировано как увеличение, так и уменьшение частоты разряда нейронов, однако количество нейронов, отвечающих на раздражение торможением, было больше, чем нейронов, отвечающих на раздражение активацией. Аналогичные данные, указывающие, что тормозящее влияние таламуса на бульбарные дыхательные нейроны преобладает над активирующим получены Манукян [4].

Известно, что лимбическая кора оказывает преимущественно тормозящее влияние на активность бульбарных дыхательных нейронов [1, 5], и, согласно гистохимическим данным, она имеет прямую проекцию в область вегетативных ядерных образований головного мозга, в частности, в область бульбарного ваго-солитарного тракта [3, 8, 9]. Имея в виду, что лимбическая кора, в свою очередь, является одной из главных проекционных областей МД ядра таламуса, можно полагать, что преимущественно тормозящее влияние МД ядра таламуса на импульсную активность дыхательных нейронов продолговатого мозга реализуется через лимбическую кору.

Поскольку различные образования лимбической системы оказывают неоднозначное, хотя преимущественно активирующее, а другие - тормозящее влияние на дыхательный центр продолговатого мозга, можно предположить, что существует определенная последовательность включения и изменения активирующих и тормозящих воздействий на дыхательный центр, способствующий в каждом конкретном случае установлению кислородного гомеостаза организма. Известно также, что в начальной фазе гипоксического воздействия (4-5 тыс.м) небольшой дефицит кислорода оказывает активирующее влияние на все структуры головного мозга, в том числе на активность дыхательных нейронов и на все надбульбарные образования (одновременно на таламические ядра). На этом фоне тормозящее влияние

стимуляции МД ядра таламуса было более выраженным, чем в условиях нормоксии, хотя в результате преобладания активирующих механизмов мозга, а также непосредственного воздействия пониженного pO_2 наступало учащение импульсной активности нейронов и дыхания в целом.

Во второй фазе гипоксического воздействия (7,5-8 тыс.м) при острой нехватке кислорода наблюдалась обратная картина, а именно угнетение активности всех структур мозга, в том числе и изучаемых в настоящей работе - дыхательного центра продолговатого мозга и таламуса. В этих тяжелых условиях гипоксии часть нейронов угнеталась полностью, а у "работающих" - резко сокращалась частота импульсации. Одновременно, в силу ухудшения функционального состояния таламуса его тормозящее влияние на дыхательные нейроны было сильно ослаблено.

Надо учесть, что параллельно с центральными механизмами регуляции дыхания имеет место и непосредственное воздействие афферентного истока импульсов от хемо- и механорецепторов дыхательной системы на ритмогенные зоны продолговатого мозга или даже всего ствола мозга, где и определяются частотные и амплитудные характеристики сокращения дыхательных мышц. Надо полагать, что при ослаблении влияния надбугорных структур возрастает роль непосредственного потока импульсов от хемо- и механорецептора, также действующего на ритмогенные зоны продолговатого мозга.

Только такая интеграция корковых и подкорковых, центральных и периферических, активирующих и тормозящих механизмов управления вегетативными и соматическими поведенческими реакциями может обеспечить наиболее совершенное и надежное приспособление организма к постоянно меняющимся условиям потребления кислорода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян Н.С., Баклаваджян О.Г., Саркисян Н.В. Журн. высшей деятельности, 44, 4-5, 777-785, 1994.
2. Буреш Я., Петрань М., Захар И. Электрофизиологические методы исследования, М: Иностранная литература, 1965.
3. Карпева А.Г. Автореф. докт. дисс., Киев, 1985.
4. Манукян Н.К. Автореф. канд. биол. наук. Ереван, 1993.
5. Нерсисян Л.Б. Физиол. журн. СССР, 71, 3, 304-309, 1985.
6. Ойвин И.А. Журн. патол. и эксперим. терапии, 4, 4, 76-85, 1959.
7. Серков Ф.Н., Казаков В.Н. Нейрофизиология таламуса, Киев, Наукова думка, 1980.
8. Terreberry R.R., Neafsey E. J. Brain Res., 278, 1, 245-249, 1983.
9. Van der Kooy D., Koda L.J., McGinty J.F. J. Comp. Neurol., 244, 1, 1-24.

Поступила 14.X.1998

ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ СИСТЕМ, ГЕНЕРИРУЮЩИХ ПАССИВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ.**II. ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ b-ВОЛНЫ ЭРГ****А.Р.САРКИСЯН, О.А.МКРТЧЯН, А.А.МЕЛКОНЯН***Институт физиологии НАН Армении, 375028, Ереван*

Представлена техника компьютерной реконструкции b-волны ЭРГ, основанная на методе идентификации систем с распределенными параметрами, описываемых кабельным уравнением с согласованной нагрузкой. Для получения более точных значений параметров использован алгоритм оптимизации. Представлен сравнительный анализ различных способов расчета критерия оптимизации. Полученные результаты подтверждают существующую гипотезу о преобладающей роли глиальных клеток в генерации b-волны.

Ներկայացված է էլեկտրացանցենագրի (էԳ) b-ալիքի համակարգչային վերակառուցման տեխնիկա, որը հիմնված է տարաբաշխված պարամետրեր ունեցող համաձայնեցված բեռնվածքով կաբելային հավասարումով նկարագրվող համակարգերի իդենտիֆիկացման մեթոդի վրա: Պարամետրերի ճշգրիտ արժեքներ ստանալու համար օգտագործված է օպտիմիզացման ալգորիթմ: Ներկայացված է օպտիմիզացման չափանիշի հաշվարկի տարրեր եղանակների համեմատական վերլուծություն: Ստացված արդյունքները հաստատում են գոյություն ունեցող հիպոթեզը էԳ-ի b-ալիքի առաջացման համար գլիալ բջիջների գերիշխող դերի մասին:

A technique for computer reconstruction of the b-wave of ERG is presented, which is based on the method of identification of the systems with distributed parameters, described by equation of a cable with matched load. An optimization algorithm is utilized to obtain more accurate values of parameters. A comparative analysis of different ways of optimization criterion calculation is presented. The results obtained support the existing hypothesis on the prevailing role of glial cells in generation of b-wave.

Идентификация - кабельное уравнение - электроретинограмма

Электроретинограмма (ЭРГ) принадлежит к тем, пока еще немногочисленным примерам биоэлектрических процессов, в исследованиях глиальных компонентов которых не только получен значительный фактический материал, но и достигнут высокий уровень его теоретического осмысления, доведенный до количественных моделей.

Вероятный механизм вовлечения глиальных клеток в генерацию компонентов ЭРГ, предложенный Миллером и Доулингом [5], включал в качестве основного звена механизм деполяризации глиальной клетки в результате повышения под действием света концентрации внеклеточного калия.

Последующий анализ этой гипотезы, требовавшей существенного пересмотра принятых концепций компонентного строения ЭРГ, был углублен прежде всего путем исследования интимных механизмов электрической активности глиальных клеток [6, 8]. В общих чертах было подтверждено первоначальное представление о том, что вызванное светом увеличение концентрации K^+ во внеклеточной среде ($[K^+]_o$) локально деполяризует Мюллеровскую (глиальную) клетку, создавая радиально направленные внутри-

и внеклеточные токи, которые приводят к генерации трансретинального потенциала - b-волны.

Ньюман и Одетт [7] довели динамику исследования до количественной модели, генерирующей b-волновой ответ. Моделирование показало, что пространственно-временные свойства потенциалов и токов внутриретиальной b-волны и ответы Мюллеровских клеток могут быть генерированы в соответствии с K^+ - гипотезой.

Поскольку изменение мембранного потенциала Мюллеровской клетки пропорционально изменению $[K^+]_o$, уравнение Ньюмана-Одетта можно представить в виде уравнения электрической линии с распределенными параметрами, записанного для напряжения

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \frac{1}{RC} \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} - \frac{G}{C} u.$$

Таким образом, систему, лежащую в основе генерации b-волны ЭРГ (а именно $[K^+]_o$ - Мюллеровская клетка - внеклеточное пространство) можно представить в виде электрической линии с распределенными параметрами, где длина соответствует ретиальной глубине. Такое представление делает возможным выделение и исследование b-волнового компонента ЭРГ путем его компьютерной реконструкции с помощью предложенной техники моделирования и идентификации параметров [4].

Материал и методика. Экспериментальная установка для записи ЭРГ состоит из заземленной экранированной камеры, в которой располагается кресло испытуемого, стимулятора со вспышкой, многоканального усилителя биопотенциалов, а также IBM-совместимого персонального компьютера (ПК) с аналого-цифровым (АЦП) и цифро-аналоговым преобразователями (ЦАП). В качестве усилителя биопотенциалов использовали 8-канальный электроэнцефалограф "EEG-80" фирмы EMG (Венгрия).

Управление всей системой осуществляли с помощью специально разработанной программы для ПК. Программа позволяет осуществлять стимуляцию в ручном и автоматическом режимах, производить непрерывный мониторинг поступающего сигнала, предварительную обработку ЭРГ в реальном времени (on-line), включая сглаживание, расчет спектра и усреднение, а также осуществлять запись ЭРГ на магнитный диск в виде специальной базы данных. Блок-схема процесса компьютерной обработки ЭРГ представлена на рис.1.

Задачей идентификации в данном случае является нахождение таких параметров модели, при которых ее выход во временной области наилучшим образом совпадает с экспериментальной ЭРГ на участке, представляющем b-волну.

Для расчета финитного преобразования Фурье использовали несколько модифицированный нами (с целью увеличения скорости его работы) алгоритм кусочно-линейного преобразования Фурье. Частотные характеристики рассчитывали в логарифмической шкале частот. По этим частотным характеристикам с использованием алгоритма "прямого определения" [4] определяли параметры модели - постоянную времени t и электротоническую длину L .

Для получения более точного приближения модельной кривой к экспериментальной рассчитанные по методу "прямого определения" параметры подвергали оптимизации по процедуре, основанной на усовершенствованном методе Розенброка [1].

Для оценки степени близости комплексных спектров напряжения на выходе модели U_2^M и экспериментального потенциала U_2^E использовали критерий минимума среднеквадратического отклонения (метод наименьших квадратов). Пусть действительные (ДЧХ) и мнимые (МЧХ) частотные характеристики выхода модели $\text{Re}(U_2^M(j\omega))$ и $\text{Im}(U_2^M(j\omega))$ и экспериментального потенциала $\text{Re}(U_2^E(j\omega))$ и $\text{Im}(U_2^E(j\omega))$ рассчитаны для m значений частоты ω_k , $k=1, \dots, m$.

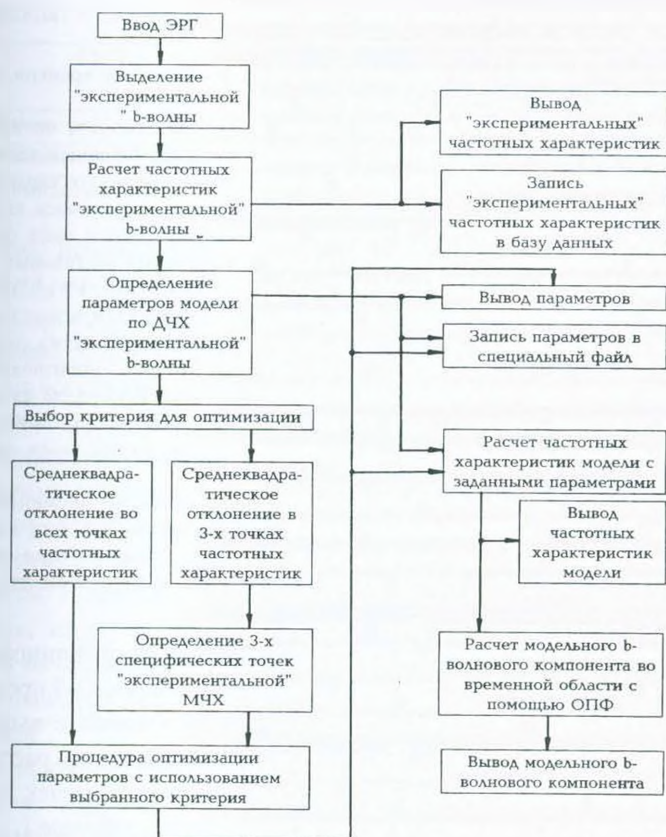


Рис. 1. Блок-схема процесса обработки ЭРГ.

Обозначим

$$\operatorname{Re}(U_2^M(j\omega_k)) = \operatorname{Re}_k^M, \quad \operatorname{Im}(U_2^M(j\omega_k)) = \operatorname{Im}_k^M,$$

$$\operatorname{Re}(U_2^E(j\omega_k)) = \operatorname{Re}_k^E, \quad \operatorname{Im}(U_2^E(j\omega_k)) = \operatorname{Im}_k^E.$$

Тогда среднеквадратическое отклонение ДЧХ и МЧХ выхода модели от ДЧХ и МЧХ экспериментального потенциала соответственно

$$S_{\operatorname{Re}} = \sum_{k=1}^m (\operatorname{Re}_k^M - \operatorname{Re}_k^E)^2. \quad (1)$$

$$S_{\operatorname{Im}} = \sum_{k=1}^m (\operatorname{Im}_k^M - \operatorname{Im}_k^E)^2. \quad (2)$$

Поскольку для совпадения комплексных спектров потенциалов на выходе модели и исследуемой системы нужно совпадение как ДЧХ, так и МЧХ то в качестве критерия берется суммарное среднеквадратическое отклонение ДЧХ и МЧХ:

$$S = S_{\operatorname{Re}} + S_{\operatorname{Im}}. \quad (3)$$

Для получения наилучшего совпадения выхода модели с экспериментальным потенциалом нужно минимизировать S по отношению к вектору неизвестных параметров, фигурирующих в уравнении модели

$$\theta = [p_1, p_2, \dots, p_r]^T,$$

где p_i - i -й неизвестный параметр (например, постоянная времени кабеля), r - количество неизвестных параметров в уравнении модели.

Оптимизацию проводили для двух разных вариантов расчета оптимизируемой функции. В обоих случаях оптимизируемой (минимизируемой) функцией является сумма квадратов отклонений "экспериментальных" и модельных частотных характеристик S , рассчитываемая согласно (1) - (3). Разница состоит в задании тех точек частоты ω , в которых рассчитывается отклонение. В первом варианте на каждом шаге оптимизации сумма квадратов отклонений S , а следовательно, и значения модельных частотных характеристик Re_k^M и Im_k^M рассчитываются для всех точек частоты ω_k , $k=1, \dots, m$, в которых рассчитаны "экспериментальные частотные характеристики Re_k^E и Im_k^E ".

Во втором варианте для сокращения времени поиска оптимума расчет суммы квадратов отклонений и, следовательно, значений Re_k^M и Im_k^M производится не для всех, а лишь для некоторых специфических значений частоты. В качестве их выбираются 3 точки: два значения частоты, при которых экспериментальная МЧХ достигает соответственно минимума и максимума, и значение частоты между ними, при которой МЧХ пересекает ось частоты.

Для получения модельного b -волнового компонента во временной области рассчитывается обратное преобразование Фурье МЧХ модели, для чего используется программа, реализующая эффективный алгоритм преобразования Фурье по отсчетам функций, заданным в логарифмической шкале (каковыми и являются отсчеты частотных характеристик) [2,3].

Результаты и обсуждение. В качестве примеров по описанной методике обрабатывали различные ЭРГ кролика и человека. На рис. 2-3 представлены результаты обработки экспериментальной ЭРГ человека с выраженным осцилляторным потенциалом. Частотные характеристики рассчитаны в логарифмической шкале частот при дискретизации 50 точек на декаду. Значения полученных параметров модели приведены в таблице 1.

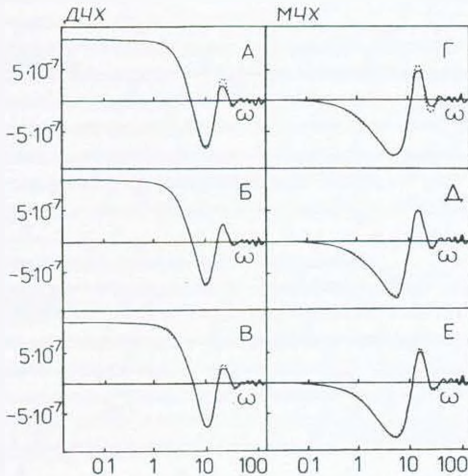


Рис. 2. ДЧХ и МЧХ b -волны. Сплошные кривые - ДЧХ и МЧХ "экспериментальной" b -волны ЭРГ. Пунктирные кривые - ДЧХ и МЧХ модели при значениях параметров, полученных по методу: А,Г - "прямого определения", Б,Д - оптимизации по всем точкам, В,Е - оптимизации по 3 точкам.

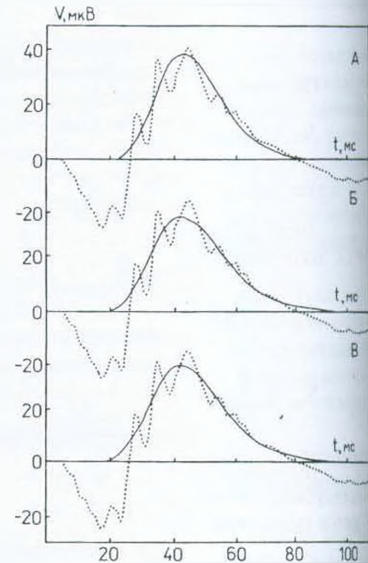


Рис. 3. Экспериментальная ЭРГ (пунктирные кривые) и модельные b -волновые компоненты (сплошные кривые), рассчитанные по модельным МЧХ, изображенным на рис. 2 Г, Д, Е, соответственно.

Таблица. 1. Значения параметров, полученных различными методами

Метод	Параметры	
	L, отн.ед.	τ , мсек
"Прямое определение"	18,6	4,72
Оптимизация по всем точкам	14,8	5,9
Оптимизация по трем точкам	15,5	5,65

Метод "прямого определения", не требующий громоздких рекурсивных вычислений, является очень быстрым. Однако, поскольку частотные характеристики "экспериментальной" b -волны не являются точными, этот метод, использующий только определенные точки ДЧХ "экспериментальной" b -волны, не всегда дает удовлетворительное совпадение модельной b -волны с "экспериментальной".

Метод оптимизации по всем точкам дает лучшее совпадение модельной и "экспериментальной" b -волн, но он требует значительного объема вычислений, что намного замедляет процесс идентификации.

Существенное влияние на устойчивость работы метода оптимизации и на количество вычислений, требуемых для достижения оптимальных значений параметров, имеет выбор начального набора параметров. Как показали результаты вычислительных экспериментов, наиболее подходящим начальным набором являются значения параметров, вычисляемые методом "прямого определения".

Проведенные вычисления для разных ЭРГ показали, что значения параметров, определяемые по методу оптимизации по трем точкам, существенно не отличаются от значений параметров, определяемых при оптимизации по всем точкам (разница в среднем 10%). В то же время значительно уменьшается объем вычислений. Начальным набором параметров в обоих случаях служили параметры, рассчитанные по методу "прямого определения". Для метода оптимизации по трем точкам потребовалось примерно в 65 раз меньше вычислений и соответственно машинного времени для идентификации параметров модели.

Таким образом, с вычислительной точки зрения применение метода оптимизации по трем точкам с начальными значениями параметров, полученными по методу "прямого определения" при анализе b -волнового компонента ЭРГ представляется наиболее приемлемым. Высокая скорость данного метода позволяет использовать его при определении параметров модели непосредственно в ходе эксперимента.

Результаты проведенных исследований ЭРГ подтверждают существующую гипотезу о преобладающей роли глиальных клеток в генерации b -волны, а также позволяют сделать следующие заключения: b -волна является низкочастотным компонентом, спектр которого лежит в пределах до 100 Гц; относительная электротоническая длина у человека варьирует в пределах 10-30, у кролика 5-8; постоянная времени варьирует в пределах, мсек: у человека 2-7, а у кролика 7-9 ; латенция у человека составляет примерно 20, у кролика - 10-15.

Представленная методика может быть использована для дифференцирования параметров b-волны ЭРГ при различных патологиях зрительной системы, что может способствовать решению различных диагностических задач.

ЛИТЕРАТУРА

1. Маркарян А.Г., Степанян А.С. Моделирование и управление технологическими процессами, 39-42, Ереван, 1990.
2. Мелконян Д.С., Саркисян А.Р. Изв. АН Арм.ССР, ТН, 42, 1, 15-19, 1989.
3. Саркисян А.Р., Мелконян Д.С. ГосФАП СССР, рег. N 50890000341, 1989.
4. Саркисян А.Р., Мкртчян О.А., Мелконян А.А. Биолог. журн. Армении 52, 2, 1999.
5. Miller R.F., Dowling J.E. J.Neurophysiol., 33, 323-343, 1970.
6. Newman E.A. J.Neurosci., 7, 2423-2432, 1987.
7. Newman E.A., Odette L.L. J.Neurophysiol., 51, 164-182, 1984.
8. Wen R., Oakley II.B. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 87, 2117-2121, 1990.

Поступила 11.V.1998

ЭКОЛОГИЯ И БИОРАЗНООБРАЗИЕ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОСИСТЕМ АРМЕНИИ

А.Х. ПАРОНИЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Установлено широкое распространение и большое таксономическое разнообразие фототрофных бактерий в различных экосистемах Армении. Выявлены метаболические возможности их приспособления к условиям существования в составе разных экосистем, а также активное участие в биогеохимических процессах.

Հաստատվել է Հայաստանի տարբեր էկոհամակարգերում ֆոտոտրոֆ բակտերիաների լայն տարածվածությունն ու կարգաբանական հարուստ բազմազանությունը: Ցույց են տրվել նրանց տարբեր էկոհամակարգերի կազմում գոյության պայմաններին հարմարվելու նյութափոխանակության հնարավորությունները, ինչպես նաև ակտիվ մասնակցությունը կենսատրոփաքիմիական պրոցեսներում:

The wide distribution and rich taxonomic diversity of phototrophic bacteria in various ecosystems of Armenia have been shown. The metabolic possibilities of their adaptation under different conditions in various ecosystems and active participation in biogeochemical processes have been revealed.

Фототрофные бактерии - экология - биоразнообразие - водоемы - солончаки

Фототрофные организмы играют незаменимую роль в формировании биосферы, функционировании водных экосистем и круговороте веществ [3-5]. Они используются в биотехнологии, промышленности, в борьбе с загрязнением окружающей среды и очистке сточных вод [10, 12, 13, 16].

Экологическое разнообразие фототрофных бактерий Армении изучено мало. Из оз. Севан Ванштейн выделил микроорганизмы рода *Trautweinia*, растущие как в присутствии восстановленных соединений серы, так и при их отсутствии на органических субстратах [1].

Настоящая работа имеет целью изучение экологии и таксономического разнообразия фототрофных бактерий в Армении для их дальнейшего практического использования.

Материал и методика. Источниками для выделения фототрофных бактерий служили образцы воды, ила и почвы из разных минеральных источников, природных водоемов Армении, а также образцы почвы, промывных и грунтовых вод содовых солончаков Араратской равнины, взятые во время сезонных экспедиций.

При изучении пространственной структуры были использованы стекла обрастания, которые дают возможность наблюдать картину расселения фототрофных бактерий по вертикали и горизонтали [3].

При взятии образцов определяли температуру, pH, освещенность, глубину, соленость, кислородный режим, содержание биогенных элементов. Накопительные культуры получали методом Виноградского в цилиндрах, а также с использованием разных селективных сред [14]. После инкубации в течение 3-4-х недель все образованные окрашенные колонии были выделены в чистую культуру методом получения отдельных микроколоний в столбиках агара. Чистоту выделенных культур проверяли под фазово-контрастным микроскопом, а также высевом на МПА и среду Постгейта для обнаружения сульфатредуцирующих бактерий. Для количественного учета бактерий проводили прямой

подсчет клеток после высева исследуемого материала в жидкие питательные среды методом предельных разведений [3]. Для изучения морфологических, культуральных и физиолого-биохимических особенностей использовали ранее описанные методы [6, 8]. Для выяснения систематического положения выделенных бактерий использовали определитель Берге [11].

Результаты и обсуждение. В качестве экологической оценки нами использованы следующие общепринятые показатели: частота встречаемости рода или вида, доминирование того или иного вида и видовое разнообразие фототрофных бактерий. Физико-химические параметры экологических ниш и данные о распространении их в экосистемах минеральных источников, а также данные о самых крупных и отличающихся по химическому составу минеральных источниках представлены в табл. 1.

Таблица 1. Физико-химические параметры и распределение фототрофных бактерий в минеральных источниках Армении

Группы источников	Тип источника	Температура, °С	рН	Общая минерализация, г/л	CO ₂ , г/л	Доминирующие виды	Число клеток на 1 мл воды/ила
Арагатская	Кальциево-натриевые	24-28,5	6,5-6,8	1,2-4,27	2,0-3,0	<i>R.sphaeroides</i> <i>R.palustris</i> <i>C.vinosum</i>	1160, 1160 500, 850 50, 200
Арзнинская	Натриево-хлоридные	13,3-22,5	6,3-6,6	1,4-16,8	1,8-8,5	<i>R.sphaeroides</i> <i>R.rubrum</i> <i>R.capsulatus</i>	500, 700 40, 70 400, 600
Анкаванская	Хлоридно-магниевые	11-12	7,2-7,4	4,8-7,5	2,0-2,5	<i>R.sphaeroides</i> <i>R.acidophila</i> <i>R.rubrum</i>	500, 800 10, 35 22, 40
Алавердская	Хлоридно-железистые	7-16	5,5-7,0	2,7-4,1	0,2-1,9	<i>R.rubrum</i> <i>C.vinosum</i> <i>T.jenense</i>	150, 300 10, 25 5, 18
Бжни-Арзаканская	Хлоридно-натриевые	14,2-44	6,7-8,0	2,4-5,95	0,72-8,8	<i>R.sphaeroides</i> <i>R.palustris</i> <i>T.roseopersicina</i>	1100, 1550 140, 250 10, 30
Джермукская	Сульфатно-хлоридные	11-58	5,9-7,6	0,7-5,3	0,2-2,9	<i>R.sphaeroides</i> <i>R.capsulatus</i> <i>T.jenense</i>	1150, 1420 115, 100 8, 14
Дилижанская	Кальциево-магниевые	10-13,5	6,3-6,5	3,5-3,9	2,2-2,5	<i>R.sphaeroides</i> <i>R.rubrum</i> <i>C.vinosum</i>	50, 65 11, 18 10
Лорнийская	Сульфатно-кальциевые	8,6-12,5	6,3-6,4	2,3-5,2	0,39-2,7	<i>R.sphaeroides</i> <i>R.sulfidophilus</i> <i>R.rubrum</i>	130, 150 16, 25 8
Севан-Гаварская	Натриево-магниевые	4-18	6,3-6,7	3,5-5,1	2,0-4,2	<i>R.sphaeroides</i> <i>R.palustris</i>	12, 25 10, 19
Ширакская	Сульфатные	12-15	6,8-7,2	4,0-5,9	1,0-1,6	<i>Lamprocystis sp.</i> <i>T.jenense</i> <i>T.vinosum</i>	12, 35 6, 22 10, 30
Шушинская	Сульфатно-хлоридные	18-22	6,3-6,5	0,7-3,8	0,25-3,1	<i>R.palustris</i> <i>R.sphaeroides</i>	

Минеральные источники Армении в большинстве гидрокарбонатные и углекислые. Характерные физико-химические данные этих источников

несколько варьируют, что обусловлено географическим положением и многообразием геолого-структурных условий их формирования [2].

Таксономическая структура фототрофных бактерий минеральных источников в основном представлена несерными и серными пурпурными бактериями. Однако по количественному соотношению и видовому составу они различаются. В источниках, расположенных в южных широтах, преобладают несерные пурпурные бактерии, тогда как в северных - серные пурпурные бактерии. Интенсивному развитию фотогетеротрофных организмов, с одной стороны, способствует высокая среднегодовая температура, а с другой - наличие большого количества органических субстратов. В южных широтах наблюдается также общая тенденция увеличения численности фототрофов при сравнительно ограниченном разнообразии. Так, в Арабатских минеральных источниках преобладают роды *Rhodobacter*, *Rhodopseudomonas* и *Rhodospirillum*. Серные же фототрофы представлены преимущественно родом *Chromatium*. Доминирующими являются *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodopseudomonas palustris* и *Chromatium vinosum*. В ограниченном количестве обнаружена зеленая серобактерия *Chlorobium limicola*.

Минеральные источники Джермука при более низком титре имеют сравнительно богатый видовой спектр. Наряду с вышеуказанными видами, выявлены *R. capsulatus*, *R. sulfidophilus*, *Rhodopseudomonas acidophila*, *Chromatium minus*, *Thiospirillum jenense*. Несерные пурпурные бактерии, выделенные из термальных источников Джермука с температурой 50-55°, проявляют термоустойчивость, максимальная температурная граница роста достигает 42-43°. Со дна крупного резервуара минеральной воды Джермук выделены галотолерантные штаммы *R. sphaeroides*, которые выдерживают в среде с содержанием до 6-8% NaCl.

Следует отметить, что в джермукских источниках резкие сезонные колебания численности бактерий не отмечены, как это имело место в Арабатской области. Обычно богатые видами ассоциации фототрофных бактерий более устойчивы к колебаниям климатических факторов. С другой стороны, летний период здесь прохладный и влажный. Сезонная динамика общего количества фототрофных бактерий в минеральных источниках Арабата и Джермука представлена на рис. 1.

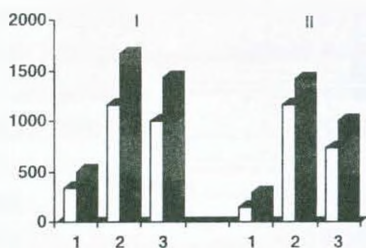


Рис. 1. Сезонная динамика общего количества фототрофных бактерий в минеральных источниках Арабата и Джермука. I - минеральный источник Арабат, II - минеральный источник Джермук. 1 - весенний, 2 - летний, 3 - осенний периоды.

□ - в воде, ■ - в иле

Более ровный характер имеет динамика фототрофных бактерий минеральных источников Бжни, Арзакана и Анкавана. Помимо широкого

ареала распространения в этих водах, фототрофные бактерии встречаются в них в значительных количествах. В этих источниках почти равномерно распространены автотрофные, гетеротрофные и миксотрофные бактерии. Чаще встречаются роды *Rhodopseudomonas*, *Rhodobacter*, *Rhodospirillum*, *Thiocapsa*, *Ectothiorhodospira*, *Chromatium*. Доминирующими оказались *R. palustris* и *Thiocapsa roseopersicina*.

Интересная картина наблюдается в минеральных источниках Ширакской группы. Главной особенностью этих источников является высокое содержание в них сероводорода, вследствие чего они являются уникальными для территории Армении [2]. Содержание сероводорода в источниках Ширакан и Норабер достигает 120-130 мг/л. Несерные пурпурные бактерии чувствительны к этим концентрациям сероводорода, поэтому фототрофная микрофлора представлена в основном пурпурными серобактериями. Часто встречаются роды *Thiocapsa*, *Chromatium*, *Thiospirillum* и реже *Lamprocystis*. Доминирующие виды - *Thiospirillum jenense*, *Chromatium vinosum*. В незначительных количествах в ассоциациях с серными бактериями обнаружены *R. sphaeroides* и *R. sulfidophilus*.

Арзниские источники характеризуются большим содержанием несерных пурпурных бактерий. Они представлены родами *Rhodospirillum*, *Rhodobacter*, *Rhodopseudomonas*. Доминирующие виды *Rhodospirillum rubrum*, *R. palustris* и *R. sphaeroides*. Это объясняется присутствием в источниках больших количеств органических веществ, что является следствием загрязнения окружающей среды. По всей территории наблюдается обильное развитие сине-зеленых и зеленых водорослей.

Алавердская группа источников отличается низким значением pH, что дает возможность развиваться умеренно ацидофильным формам. Чаще всего встречаются *R. acidophila* и *R. capsulatus*. Последний растет в интервалах pH от 5,5 до 10,5 в зависимости от источника углерода.

Минеральные источники Шуши богаты несерными пурпурными бактериями. В больших количествах обнаружены *R. palustris* и *R. sphaeroides*.

Таким образом, таксономическая структура фототрофных бактерий минеральных источников Армении разнообразна, что определяется рядом экологических и географических факторов. Наряду с другими микроорганизмами, они играют значительную роль в формировании биоценоза и компонентного состава минеральных вод.

Природные водоемы Армении немногочисленны [7]. Это в большинстве пресные, гидрокарбонатные, слабокислые или нейтральные озера с низкой минерализацией (табл. 2). Водоемы, питающиеся глубинными водами, содержат ощутимые количества сульфатов. Микробиологические процессы, производимые фототрофными бактериями в этих озерах, почти сходны.

Известно, что в водоемах имеются три экологические зоны: аэробная, микроаэрофильная и анаэробная. Фототрофные бактерии сосредоточены в

экологических нишах микроаэрофильной и анаэробной зон в условиях проникновения света. С помощью богатого каротиноидного состава они способны использовать коротковолновый свет, который может проникать на глубину 5-10 м. В оз. Севан сероводород продуцируется в незначительных количествах, поэтому здесь большей частью встречаются несерные пурпурные бактерии. Это *R. sphaeroides*, *R. palustris*, в загрязненных участках - *R. capsulatus*, *Rhodocyclus gelatinosus*. Заметное развитие таких родов серных и несерных пурпурных бактерий как *Chromatium*, *Rhodospirillum* наблюдали в иловых отложениях. В более глубоких слоях ила были обнаружены зеленые серобактерии рода *Chlorobium*. Однако титр фототрофных бактерий в оз. Севан небольшой. Картина улучшается летом, когда происходит сезонное цветение водорослей. Следует отметить, что в связи с понижением уровня воды озера и повышением освещенности дна создались благоприятные условия для развития зеленых и сине-зеленых водорослей, что, в свою очередь, приводит к увеличению органических веществ и развитию фототрофных бактерий. Из олиготрофного озера превращается в эвтрофное, и в течение последних 10 лет суммарный титр фототрофной микрофлоры озера Севан увеличился почти в 5 раз (рис. 2). В глубинных анаэробных слоях воды в зонах, где развиваются фототрофные бактерии, всегда присутствуют сульфатредуцирующие микроорганизмы, которые и являются основными продуцентами сероводорода.

Таблица 2. Физико-химические параметры и распространение фототрофных бактерий в природных водоемах и содовых солончаках Армении

Водоемы и образцы солончаков	Максимальная температура, °С	рН	Общая минерализация, г/л	Карбонаты, %	Растворимые соли, %	Доминирующие виды	Число клеток в 1 мл воды или 1 г почвы
Севан	19	7,8-6,0	0,72	-	-	<i>R.sphaeroides</i> <i>R.palustris</i> <i>C.vinosum</i>	12, 24 12, 14 4, 10
Мецамор (Айгр)	26	7,0-7,2	0,52	-	-	<i>C.vinosum</i> <i>Lamprocystis</i> sp. <i>R.capsulatus</i>	25, 90 18, 32 500, 900
Акналич	18	7,1-7,2	0,1	-	-	<i>R.sphaeroides</i> <i>C.vinosum</i>	3, 15 - 6
Парзлич	12	6,9-7,0	0,1	-	-	<i>R.sphaeroides</i> <i>C.vinosum</i>	3, 15 - 6
Агагел (Арапат)	28	6,8-6,9	5,9	-	-	<i>R.rubrum</i> <i>R.capsulatus</i> <i>T.jenense</i>	18, 42 20, 56 10, 21
Почва солончаков	21	9,0-10,5	-	15-18	1,5-1,95	<i>Ectothiorhodospira</i> sp. <i>T.roseopersicina</i> <i>T.jenense</i>	20 17 32
Промывные воды солончаков	30	9,0-10,5	-	13,5-16	1,4-2,1	<i>Lamprocystis</i> sp. <i>C.vinosum</i> <i>E.mobilis</i> <i>R.sulfoviridis</i>	18 30 15 6

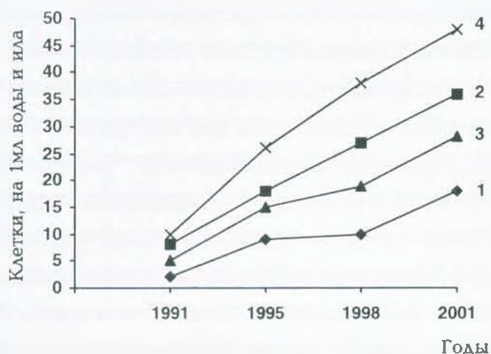


Рис. 2. Динамика количества фототрофных бактерий прибрежной зоны озера Севан в летние периоды 1991-2001 гг.

- 1 - несерные пурпурные бактерии в образцах воды
- 2 - серные пурпурные бактерии в образцах воды
- 3 - несерные пурпурные бактерии в образцах ила
- 4 - серные пурпурные бактерии в образцах ила

Оз. Мечамор (Айгр) болотистое, вода местами имеет темную окраску и свет не везде проникает до дна. Этим и обусловлено неравномерное расселение фототрофных бактерий. Серные пурпурные бактерии представлены родами *Chromatium*, *Lamprocystis*, *Thiospirillum*. Эти микроорганизмы часто встречаются в ассоциациях, окруженных обильной слизью. Интенсивное сезонное цветение водорослей

наблюдается и в оз. Мечамор. Поэтому в летний период в поверхностных слоях, где выше освещенность и среда богата органическими веществами, обильно развиваются микроаэрофильные несерные пурпурные бактерии. Среди них доминируют *R. capsulatus*, *R. rubrum*, *R. sphaeroides*.

Оз. Акналич и Парзич почти дистрофные, так как питаются тальми водами. Общая минерализация низкая, ионы сульфата также незначительны. Их поверхность зимой обледеневает. Только в летнее время обнаруживается фототрофная микрофлора. Она представлена немногочисленным количеством серных и несерных пурпурных бактерий. Качественный состав микроорганизмов идентичен составу озера Севан.

Оз. Агагел (с.Арапат) - небольшой соленый водоем. Соленостью и определяется состав фототрофных бактерий. Все описанные представители фототрофов или слабо галофильные (3-5% NaCl), или же галотолерантные (6-8% NaCl). В связи с высокой продукцией сероводорода здесь преобладают серные пурпурные бактерии. Это роды *Chromatium*, *Thiospirillum*. На границе аэробной и анаэробной зон, где присутствуют сероводород и небольшое количество кислорода, обнаружены смешанные ассоциации серных, несерных фототрофных и сульфатредуцирующих бактерий. Все несерные формы являются микроаэрофилами и способны использовать в небольших количествах сероводород. Несерные пурпурные бактерии в больших количествах распространены в верхних слоях озера, где они находятся в сообществе с водорослями. Это *R. rubrum*, *R. sphaeroides*, *R. capsulatus*.

Исследования показали, что, несмотря на разные эколого-географические факторы, спектр родового и видового состава в водоемах Армении несколько однообразен. Однако будучи одной из широко распространенных групп водных микроорганизмов, они играют большую роль в трансформации органических и минеральных веществ в водоемах, тем самым

улучшая экологическое состояние озер.

Содовые солончаки Араратской равнины занимают около 30 тысяч гектаров и отличаются высокой щелочностью и слабой минерализацией (табл. 2). Грунтовые воды большей частью расположены близко от поверхности (1-2 м). При высокой температуре окружающей среды (летом достигает 42-45°) и интенсивном испарении грунтовые воды выходят на поверхность, испаряются, а содержащиеся соли накапливаются на поверхности почвы. В профиле четко отличается поверхностный солевой горизонт.

Фототрофные бактерии здесь представлены экстремофильными формами, в частности алкалофильными. Широко распространены представители родов *Ectothiorhodospira*, *Thiospirillum*, *Thiocapsa*, *Chromatium*, *Lamprocystis*. Доминирующие виды *Ectothiorhodospira mobilis*, *Thiocapsa jenense*, *Thiocapsa roseopersicina*, *Chromatium vinosum*.

Для всех этих организмов характерны алкалофильность (pH 9,0-10,5), галотолерантность (6-8% NaCl), миксотрофность и микроаэрофильность. Только *Chromatium* является строгим анаэробом. Имея специфические ферментные системы, они способны развиваться в экстремальных условиях солончаков. На основании этих и ряда других физиологических признаков они описаны как новые экотипы [8].

В летний период при сухой погоде количество фототрофных бактерий резко снижается, некоторые виды даже не удается обнаружить. Интенсивное развитие фототрофных микроорганизмов в солончаках приурочено к поздневесеннему и раннеосеннему периодам. Однако в солончаках существуют и дистрофные участки, где количество и состав фототрофов незначительны. Это очень сухие участки, где из-за глубокого расположения грунтовых вод поверхностные стоки почти отсутствуют.

Имея широкий метаболический потенциал, возможность существования в автотрофных и гетеротрофных условиях, эта группа фототрофов способствует нормальному функционированию геохимических циклов в солончаках в условиях высокой щелочности [9, 11, 15].

Таким образом, совокупность полученных данных по экологии фототрофных бактерий свидетельствует о широком распространении их в разных экосистемах Армении и большой роли в биогеохимических процессах, что определяется их участием в круговороте таких важных элементов, как углерод, сера, азот.

Изучение распространения, видового состава и метаболической деятельности фототрофных бактерий позволит нам глубже оценить биогеохимическую значимость и использовать их для улучшения экологической обстановки окружающей среды, что весьма актуально для Армении.

Автор выражает признательность академику Э.Африкянцу за содействие и ценные советы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ванштейн М.Б.* Автореф. канд. дис., М., 1976.
2. Геология Армянской ССР, IX. Минеральные воды. Ереван, 140-471, 1969.
3. *Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И.* Экология водных микроорганизмов. 119-200, М., 1977.
4. *Горленко В.И., Намсараев Б.Б., Кулырова А.В., Заварзина Д.Г., Жилина Т.Н.* Микробиология, 68, 5, 664-670, 1999.
5. *Заварзин Г.А., Жилина Т.Н., Кевбрин В.В.* Микробиология, 68, 5, 579-599, 1999.
6. *Малатян М.Н., Арутюнян Т.Г., Паронян А.Х., Кенпен О.И., Александрушкина Н.И.* Микробиология, 51, 3, 517-519, 1982.
7. *Оганесян Р.О.* Озеро Севан вчера, сегодня ... Ереван, 494, 1994.
8. *Паронян А.Х.* Биол. журн. Армении, 53, 1-2, 41-45, 2001.
9. *Сорокин Д.Ю., Турова Т.П., Кузнецова Б.Б., Брянцева И.А., Горленко В.М.* Микробиология, 69, 1, 89-97, 2000.
10. *Феофилова Е.П.* Прикладная биохимия и микробиология, 30, 2, 181-195, 1994.
11. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Eds. Stalley J.T. et al. Baltimore: The Williams and Wilkins Co., 3, 1582-2298, 1989.
12. *Buiton G.* Carotenoides, chemistry and biology. Plenum Press, 168-186, 1990.
13. *Grant W.D., Mukatha W.E., Zones B.E.* FEMS Microbiol. Rev., 75, 1, 255-270, 1990.
14. *Imhoff J.E.* The Prokaryotes, a handbook on the biology of bacteria: eco-physiology, isolation, identification, applications. Springer-Verlag, 4, 3222-3229, 1992.
15. *Jones B.E., Grant W.D., Duckworth A.W., Owenson G.G.* Extremophiles, 2, 191-200, 1998.
16. *Sasaki K., Noparatnaraporn N., Nagai S.* Bioconversion of waste materials to industrial products, 223-261, Elsevier, 1991.

Поступила 22.1.2002

ВИТАМИНПОТРЕБНЫЕ И ВИТАМИНПРОДУЦИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

А.Х. ПАРОНЯН, А.А. ЭЛИАЗЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Изучено отношение фототрофных бактерий к витаминам группы В и биосинтез этих витаминов фототрофными бактериями, выделенными из минеральных источников Армении. Показано влияние витамина В₁₂ на образование каротиноидных пигментов несерных пурпурных бактерий. Разработана питательная среда на дешевой основе природной минеральной воды Джермук, вполне пригодной для выращивания фототрофных бактерий и для биосинтеза витаминов.

Ուսումնասիրվել է Հայաստանի հանքային աղբյուրներից անջատված ֆոտոտրոֆ բակտերիաների վիտամինային պահանջներն ու վիտամինների կենսասինթեզը նրանց կողմից: Ցույց է տրվել վիտամին В₁₂-ի ազդեցությունը ոչ ծծմբային պուրպուր բակտերիաների կարոտինոիդային գունանյութերի առաջացման վրա: Ջերմուկ բնական հանքային ջրի լծան հիմքի վրա մշակվել է սննդամիջավայր, որը լրիվ պիտանի է ֆոտոտրոֆ բակտերիաների աճի և նրանց կողմից վիտամինների կենսասինթեզի համար:

Vitamins requiring and vitamins biosynthetic properties of phototrophic bacteria isolated from mineral springs of Armenia have been studied. The stimulation of vitamin В₁₂ on formation of carotenoid pigments of nonsulfur purple bacteria has been shown. The medium on the base of natural mineral water Jermuk was developed which is quite suitable for growth of phototrophic bacteria and biosynthesis of vitamins.

Фототрофные бактерии - витамины - каротиноидные пигменты

Важная роль в образовании витаминов принадлежит микроорганизмам, некоторые из них синтезируются в природе исключительно микроорганизмами [1, 5]. В последнее время возрос интерес исследователей особенно к витамину В₁₂. Расширяется круг микроорганизмов, у которых обнаружен зависимый от витамина В₁₂ синтез ДНК [8, 15]. В литературе имеются немногочисленные данные по биосинтезу витаминов (тиамина, витамина В₁₂ и др.) с использованием фотосинтезирующих микроорганизмов [10, 12].

Учитывая возможность получения биомассы фототрофных бактерий в качестве побочного ценного продукта при биологической очистке сточных вод различных производств, бытовых стоков, а также на питательных средах на дешевой основе минеральных вод [4, 9, 16], мы ставили цель, помимо витаминных потребностей, изучить витаминообразующую способность фототрофных бактерий при выращивании на основе минеральной воды Джермук.

Материал и методика. В работе использовали культуры несерных пурпурных бактерий *Rhodobacter sphaeroides*, штаммы D-1, D-2, D-3, D-8, D-10; *Rhodobacter capsulatus*, шт. D-4; *Rhodospseudomonas palustris*, шт. D-6, выделенные из минеральных источников Джермука, а также *Rhodospirillum rubrum*, шт. A-3, выделенный из минеральных источников Арзни [3, 7]. Все указанные микроорганизмы депонированы в Республиканском Центре депонирования микробов. Культуры фототрофных бактерий поддерживали на среде Ормсруда [14].

Для накопления биомассы фототрофных бактерий в качестве основы питательной среды использовали минеральную воду Джермук, разбавленную водопроводной водой (1:1). В качестве органических добавок к минеральной воде использовали гидролизат ила

из расчета 1,5 г ила на 1 литр воды и дрожжевой экстракт в количестве 0,02%. Гидролиз ила проводили с 2н H₂SO₄ в соотношении 10:1, pH среды 6,9-7,1. Контролем служила среда Ормеруда. Культуры выращивали в течение 5-7 суток в анаэробных условиях в люминистате при освещении 1500-2000 люкс и в аэробных условиях в темноте на качалке при 180 об/мин.

Рост культур оценивали спектрофотометрически при длине волны 660 нм на СФ-26 с определением сухого веса. Спектры поглощения клеток культур и экстрактов каротиноидов в видимой области записывали на регистрирующем спектрофотометре "Specord" UV-Vis. Экстракцию каротиноидов проводили методом Иенсена [11].

Потребность культур в витаминах определяли на среде Ормеруда с различными сочетаниями витаминов. Витамины добавляли к средам из стерильных растворов в следующих количествах (мкг %): биотин - 0,5; тиамин - 100; никотиновая кислота - 100; пантотеновая кислота - 50; пиридоксин - 100; витамин В₁₂ - 10; пара-аминобензойная кислота (ПАБК) - 50.

Определение тиамина, биотина, пиридоксина, пантотеновой и никотиновой кислот проводили микробиологическим методом Одиной [6].

В качестве тест-организмов были использованы культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Ленинградская раса), *Sacch. carlsbergensis* 4228 и *Zygosaccharomyces bisporus* 734. Культуры поддерживали на сусло-агаровой среде.

Витамин В₁₂ определяли методом Куцевой [2]. Тест-организмом служила *Escherichia coli* 113-3, которую поддерживали на пептон-солевой среде. Все тест-организмы были получены из коллекции культур микроорганизмов Института микробиологии РАН. Тест-культуры использовали после 24-часового выращивания при 30°.

Результаты и обсуждение. При изучении физиологических особенностей фототрофных бактерий большое внимание было уделено их потребностям в следующих витаминах: биотине, тиамине, никотиновой и пантотеновой кислотах, ПАБК и В₁₂. Витамины вносили в среды в различных сочетаниях. Контролем служили те же среды с 0,02% дрожжевого экстракта, а также среды без витаминов. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1. Потребность культур фототрофных бактерий в витаминах группы В

Витамины	Изученные штаммы							
	D-1	D-2	D-3	D-4	D-6	D-8	D-10	A-3
Биотин	+	+	+	-	+	+	+	+
Тиамин	+	+	+	+	-	+	+	-
Пиридоксин	-	-	-	-	-	-	-	-
Никотиновая кислота	+	+	+	-	-	+	+	-
Пантотеновая кислота	-	-	-	-	-	-	-	-
ПАБК	-	-	-	-	+	-	-	-
Цианокобаламин	-	-	-	-	-	-	+	-

Примечание: (+) - потребность в витаминах, (-) - не нуждается.

Штамм D-10 нуждается в тиамене, никотиновой кислоте, биотине и витамине В₁₂. Недостаток последнего (менее 10 мкг/л) сказывается не только на росте культуры, но и на синтезе пигментов. В отсутствие в среде витамина В₁₂ исчезает первый каротиноидный пик в спектре поглощения целых клеток и появляется он при 420 нм (рис. 1). Особенно чувствительна культура к отсутствию витамина В₁₂ при повышенной температуре (42°). В этом случае, без витамина В₁₂, культура совершенно не растет.

Витаминообразующую способность изучаемых несерных пурпурных бактерий исследовали при выращивании на контрольной среде Ормеруда и на минеральной воде Джермук с гидролизатом активного ила. Культуры подвергали анализу в экспоненциальной фазе роста.

Нами отмечены значительные колебания количественного содержания витаминов у изученных штаммов. Различные штаммы на подобранной оптимальной среде продуцировали, мкг/г сухого веса: тиамин - 4,7-6,9; пиридоксин - 0,6-4,0; биотин - 0,03-0,5; пантотеновой кислоты - 290-500; никотиновой кислоты - 290-500 (рис. 2 (а, б, в)). Следует отметить, что минеральная вода особенно благоприятно действует на биосинтез биотина, тиамин и пиридоксин.

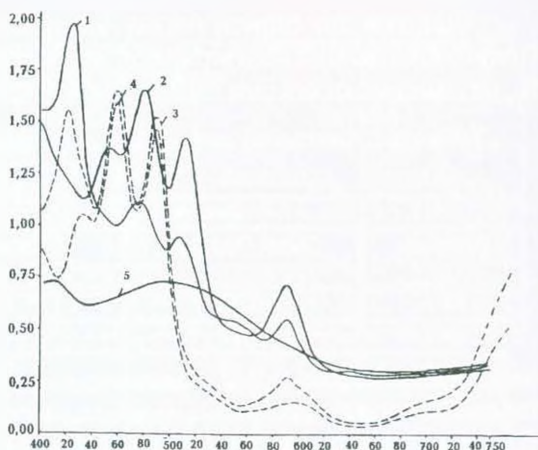


Рис. 1. Спектры поглощения целых клеток и экстрактов каротиноидов *R. capsulatus*, шт. D-10, выращенного в разных условиях с витамином B_{12} и без него: 1 - целые клетки, выращенные без витамина B_{12} ; 2 - с витамином B_{12} ; 3 - экстракт каротиноидов к клеткам, выращенных без витамина B_{12} ; 4 - с витамином B_{12} ; 5 - целые клетки, выращенные в аэробных условиях в темноте без витамина B_{12} .

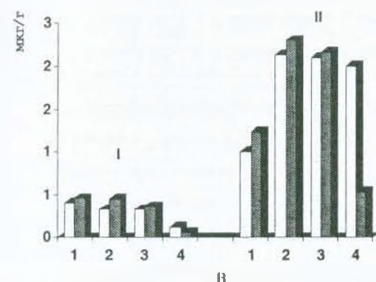
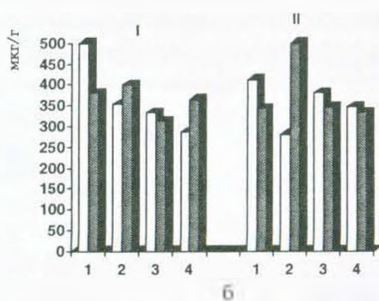
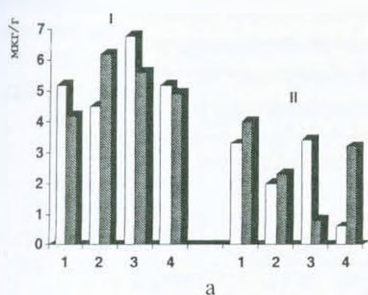


Рис. 2 (а, б, в). Образование витаминов фототрофными бактериями на разных питательных средах: 1 - шт. D-1; 2 - шт. D-2; 3 - шт. D-3; 4 - шт. D-4;
□ - на среде Ормеруда, ■ - на минеральной воде
а - содержание тиамин (I) и пиридоксин (II);
б - содержание пантотеновой (I) и никотиновой (II) кислот;
в - содержание биотин и витамина B_{12} .

Таким образом, среди изученных штаммов фототрофных бактерий выделяются активные по преимущественному содержанию одного из витаминов или их комплекса. Активными по образованию комплекса витаминов оказались штаммы D-1, D-2, D-3, D-4. Характерным для всех штаммов было высокое содержание пантотеновой и никотиновой кислот.

Данные по определению витамина B_{12} представлены в табл. 2. Полученные данные подтверждают, что изучаемые культуры образуют витамин B_{12} независимо от состава питательной среды.

Таблица 2. Биосинтез витамина B_{12} фототрофными бактериями на разных питательных средах

Штаммы	Витамины, мкг/л сухого веса		
	Среда Ормеруда	Солевая среда с гидролизатом ила	Мин.вода Джермук с гидролизатом ила
D-1	0,70	0,87	1,00
D-2	1,10	1,30	1,30
D-3	0,40	0,51	0,63
D-4	1,50	2,05	2,03
D-6	0,25	0,19	0,19
D-8	1,90	1,90	2,10
D-10	1,80	1,95	1,95
A-3	0,48	0,62	0,6

Наиболее активно образуют витамин B_{12} штаммы D-4, D-8 и D-10 (1,5-2,1 мкг/л).

Установлено, что изучаемые бактерии образуют витамины группы В только в клетках, в культуральную жидкость витамины не выделяют.

В целях дальнейшего увеличения выхода витамина B_{12} нами исследовалось влияние условий выращивания, а также концентрации кобальта на рост и образование витамина. Для опытов выбрали *R.capsulatus*, штамм D-4 - наиболее активный по биосинтезу этого витамина.

Культуру выращивали в аэробных условиях в темноте и в анаэробных условиях на свету. Результаты опытов приведены в табл. 3.

Таблица 3. Образование витамина B_{12} культурой *R.capsulatus*, штг. D-4 при разных условиях аэрации

Питательные среды	Аэробно в темноте		Анаэробно на свету	
	Биомасса, г/л	Вит. B_{12} , мкг/л	Биомасса, г/л	Вит. B_{12} , мкг/л
Среда Ормеруда (контроль)	0,78	2,9	1,98	1,33
Среда с минеральной водой	0,9	3,3	2,75	2,21

Полученные данные подтверждают, что в аэробных условиях в темноте увеличивается продуктивность клеток по витамину при небольшом выходе биомассы (табл. 3). У разных микроорганизмов оптимальная концентрация кобальта для биосинтеза витамина B_{12} различная. Так, у пропионовокислых бактерий и микобактерий 10 мг/л кобальта в среде стимулирует образование витамина, а у *R.palustris* содержание кобальта в среде выше 100 мкг/л угнетает рост бактерий и биосинтез B_{12} [15].

Данные по влиянию концентрации кобальта на рост и биосинтез витамина B_{12} фототрофными бактериями представлены в табл. 4.

Как видно из данных таблицы увеличение концентрации кобальта до 10 мг/л подавляет рост изученных штаммов. Оптимальными для роста и биосинтеза витамина B_{12} являются концентрации кобальта 0,5-1,0 мг/л.

Таблица 4. Влияние концентрации кобальта на рост и биосинтез витамина B₁₂ фототрофными бактериями

Концентрация CaCl ₂ ·6H ₂ O, мг/л	шт. D-4		шт. D-4	
	Рост, OD _{660 нм}	B ₁₂ , мкг/л	Рост, OD _{660 нм}	Рост, OD _{660 нм}
Контроль (без кобальта)	0,56	1,60	0,52	1,80
0,5	0,65	5,00	0,67	5,50
1,0	1,68	5,10	0,69	2,80
10,0	0,20	-	0,25	-

Таким образом, на основании полученных нами результатов можно сделать вывод, что питательная среда на основе минеральной воды Джермук весьма пригодна для выращивания и биосинтеза витаминов группы В фототрофными бактериями. Последние вполне могут служить выгодными микроорганизмами для получения как отдельных витаминов, так и их комплексов. В связи с этим дальнейшее изучение фототрофных бактерий и поиски среди них других биологически активных соединений представляются важным и перспективным как с научной точки зрения, так и практической.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быховский В.Я. Микробиологический синтез витамина B₁₂. ОНТИТЭИмикробиопром, 10-33, М., 1984.
2. Куцева Л.С. Сб.: Витаминные ресурсы и их использование, 5, 133-144, М., 1961.
3. Малатян М.Н., Арутюнян Т.Г., Паронян А.Х., Кенпен О.И., Александрюшкина Н.И. Микробиология, 51, 3, 517-519, 1982.
4. Малатян М.Н., Паронян А.Х. Прикл. биохим. и микробиол., 33, 2, 238-240, 1997.
5. Мецлер Д. Биохимия, 1, 186-305, М., 1980.
6. Одинцова Е.Н. Микробиологические методы определения витаминов, 103-204, М., 1959.
7. Паронян А.Х., Габаева Т.А., Малатян М.Н. Биол. журн. Армении, 35, 10, 803-809, 1982.
8. Прянишникова Н.И., Иордан Е.П. Микробиология, 67, 1, 26-29, 1998.
9. Элиазян А.А., Паронян А.Х., Африкян Э.К. Биотехнология, 6, 51-54, 1997.
10. Hayashi M., Kamikubo T. FEBS Lett., 10, 4, 249-552, 1970.
11. Jensen S.L. The constitution of some bacterial carotenoids and their bearing on biosynthetic problems, 104-118, Trondheim, 1962.
12. Noparatnaraporn, N., Sasaki K., Nishizawa Y., Nagai S. Biotechnology Letters, 8, 7, 491-496, 1986.
13. Noparatnaraporn, Trakulnaleumsai, Silveira R. G., Nishizawa Y., Nagai S. J. Ferment. Technol., 65, 1, 11-16, 1987.
14. Ormerod J.C., Ormerod K.S., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 2, 449-463, 1961.
15. Robinson J.A., Burkhardt K., Ratnatilleke A. 4-th European Symposium on vitamin B₁₂ and B₁₂ proteins, 14, September 2-6, Innsbruck, Austria, 1996.
16. Sasaki K., Noparatnaraporn, N., Nagai, S. In: Martin AM (ed). Bioconversion of waste materials to industrial products, 223-261, Elsevier, 1991.

Поступила 20.XIII.2001

НОВЫЕ ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫЕ ФОРМЫ БАЦИЛЛ ИЗ ПОЧВ АРМЕНИИ

О.А. ПАНОСЯН*, П.В. ТОЗАЛАКЯН**, А.В. ГАСПАРЯН***, Ю.Г. ПОПОВ*

**Ереванский государственный университет,
кафедра микробиологии и биотехнологии, 375025*

***Научно-исследовательская компания "Геориск", 375019, Ереван*

****Республиканский Центр депонирования микробов НАН и
Министерства науки и образования Армении, 378510, Абовян*

Изучен качественный и количественный состав почвенной микрофлоры участка термальной и геохимической аномалии Дилижана. Выделены новые штаммы экстремофильных бацилл, в том числе - термофильные, алкалофильные, галофильные и термогалофильные. Определены некоторые ферментативные активности этих штаммов и отобраны активные продуценты ферментов.

Անոմալիայի վրա է հիմնական ջերմային և երկրաքիմիական անոմալիայով տեղամասի հողային միկրոֆլորայի որակական և քանակական կազմը: Անջատվել են էքստրեմոֆիլ բացիլների նոր շտամներ, այդ թվում ջերմասեր, հիմնասեր, աղասեր և ջերմաաղասեր: Որոշվել են նրանց մի շարք ֆերմենտային ակտիվությունները և ընտրվել են ֆերմենտների ակտիվ արտադրիչները:

The qualitative and quantitative composition of soil microflora from the site of thermal and geochemical anomaly of Dilijan has been investigated. The new extremophilic strains of bacilli, including thermophilic, alcalophilic, halophilic and thermohalophilic forms, have been isolated. Some enzymatic activities of these strains were determined and active producers of enzymes were selected.

*Почвенная микрофлора - термальные и геохимические аномалии -
экстремофильные формы бацилл - ферментативная активность*

В настоящее время изучению биоразнообразия экстремофильных форм микроорганизмов придается большое значение. В частности, особенности метаболизма этих микроорганизмов могут быть использованы в биотехнологических производствах [4]. Установлена приуроченность экстремофильных форм микроорганизмов к разнообразным естественным местообитаниям с экстремальными условиями внешней среды [6, 10].

Большое разнообразие эколого-географических условий Армении и активно идущие геологические процессы, зачастую сопровождаемые антропогенными воздействиями, приводят к проявлению геохимических и биологических аномалий [9, 11]. Это создает прекрасную возможность для изучения экологии экстремофильных микроорганизмов, а участки с аномалиями являются источником выделения их новых перспективных форм [7, 8].

В 1999 г. в Дилижане в результате наложения оползневых процессов и антропогенного фактора произошла утечка бытовых сточных вод. Таким образом, создались условия для бурного роста биомассы, что привело к локальному повышению температуры почвы.

В представленной работе изучена почва участка термальной и геохимической аномалии Дилижана, выявлен состав микрофлоры, в том

числе экстремофильных форм бацилл. Обобщены результаты определения ряда ферментативных активностей, проявляемых термофильными, алкалофильными, галофильными и термогалофильными формами бацилл.

Материал и методика. Исследовали почву из разных глубин с участка термальной и геохимической аномалии. Температуру, pH и Eh, электропроводность и степень минерализации почвы измеряли в полевых условиях с помощью pH-метра WTW-320, оксиметра WTW-OXI-96 и кондуктометра WTW-LF-95.

Выделение аэробных спороносных и неспороносных бактерий, в том числе их экстремофильных форм, и микромицетов проводили методами накопительных культур и прямого посева разведения навески образцов на питательные среды. Мезофильные культуры выращивали на мясопептонном агаре при 37° в течение 24 ч; термофильные - на пептонно-кукурузном агаре [6] при 56° в течение 24 ч; алкалофильные - на среде Хорикоши [10] с начальным pH среды 9-10 при 30-37° в течение 2-5 суток; галофилы и термогалофилы - на специальной среде [12] с содержанием 12% NaCl при 37° и 56° соответственно в течение 2-5 суток.

Микромицеты выращивали на сусло-агаре при 30° в течение 5-7 суток.

Колонии описывали по размеру, поверхности, блеску, цвету, краям, структуре и консистенции. Морфологические особенности клеток микроорганизмов (форма вегетативных клеток, спорообразование, форма и расположение спор) исследовали под микроскопом марки Olympus CH-2.

Для выявления ряда ферментативных активностей исследуемые микроорганизмы высевали на средах, содержащих соответствующие субстраты (1%): картофельный крахмал, микрокристаллическую целлюлозу (MN300 0,002-0,02 мм), яблочный пектин, инулин, лактоза, казеинат Na, разные жиры (маргарин, сливочное, пальмовое, оливковое, подсолнечное масла). О ферментативных активностях - амилалитической, целлюлолитической, пектинолитической, инулиназной, β-галактозидазной, казеинолитической и липолитической судили по характеру роста и образованию прозрачной зоны вокруг колонии микроорганизмов. Гидролиз крахмала контролировали обработкой агаровой пластинки раствором Люголя [6].

Определение цикломальтодекстрин глюканотрансферазной (ШГТ-аза) активности и наличия циклодекстринов (ЦД) проводили в жидких средах с крахмалом методами Тильден-Хадсона [13] и Кестнера [5]. Продукты гидролиза крахмала в реакционной смеси определяли методом тонкослойной хроматографии в системе н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:3:3). Сахара и ЦД на хроматограммах проявляли раствором анилинфталата в водонасыщенном н-бутаноле и газообразным йодом.

Желатиназную активность определяли экспресс-методом с использованием стерильных фотопленок [3].

Результаты и обсуждение. В литературе детально описаны все эколого-географические зоны и типы почв в Армении [8], а также дана характеристика бациллярной [2], в том числе экстремофильной микрофлоры [7]. Однако специфика обследованного участка, являющаяся следствием антропогенного воздействия, требовала его изучения. Характеристика физико-химических параметров и микрофлоры почвы с участка термальной и геохимической аномалии Дилижана приведены в таблицах.

В табл. 1 обобщены физико-химические показатели образцов почв.

Как видно из таблицы, температура почвы с глубиной повышается, pH становится более щелочным, одновременно повышаются минерализация и электропроводность. Такие физико-химические особенности почвы должны способствовать развитию экстремофильных форм микроорганизмов. Так, высокая температура почвы позволяет ожидать наличие термофилов, высокое значение pH и высокая степень минерализации - соответственно алкалофилов и галофилов. Более того, одновременное воздействие нескольких

экстремальных факторов внешней среды может способствовать проявлению специфических физиологических свойств экстремофильных форм микроорганизмов.

Таблица 1. Физико-химические показатели образцов почв участка термальной и геохимической аномалии Дилижана

Глубина почвы, м	Температура, °С	pH	Электропроводность, мкС/см	Минерализация, мг/л
0,2	17,4	7,98	130	79
0,5-1	25	8,4	423	257
1,5-2	36	8,75	962	1205
2,5-3	>40	8,83	-	-

Примечание: (-) - определение не проводилось.

В табл. 2 обобщены результаты определения количества микроорганизмов из образцов почв с участка термальной и геохимической аномалии Дилижана.

Таблица 2. Количество микроорганизмов, выделенных из разных глубин образцов почвы с участка термальной и геохимической аномалии Дилижана

Глубина почвы, м	Число образцов	Споровые и неспоровые бактерии, млн/г	Микромицеты, тыс/г	Мезофильные бациллы, млн/г	Экстремофильные бациллы, тыс/г			
					Т	А	Г	Т-Г
0,2	4	24	260	14	1,4	0	0	0
0,5-1	3	56	180	27	1	0,2	0,2	0
1,5-2	3	19,6	90	10	0,8	0,4	0	0,2
2,5-3	1	10,2	80	7	0,4	0	0	0

Условные обозначения: Т-термофилы, А-алкалофилы, Г-галофилы, Т-Г-термогалофилы.

Как видно из таблицы, на глубине 0,2 м общее число спороносных и неспороносных бактерий доходит до 24 млн/г почвы, из них мезофильные бациллы составляют 14 млн/г почвы, число термофильных бацилл - до 1,4 тыс/г. Других форм экстремофильных бацилл не обнаружено.

На глубине 0,5 - 1 м общее число аэробных спороносных и неспоровых бактерий доходит до 56 млн/г почвы. Помимо мезофильных бацилл (27 тыс/г почвы), почва на этих глубинах заселена также экстремофильными штаммами: термофилами - 0,8 тыс/г, алкалофилами - 0,4 тыс/г и галофилами - 0,2 тыс/г почвы. Аналогичная картина наблюдается на глубинах 1,5 - 2 м, где количество мезофильных бацилл достигает до 10 млн/г, термофильных - 0,8 тыс/г, алкалофильных - 0,4 тыс/г, термогалофильных - 0,2 тыс/г почвы. По всей вероятности, на этих глубинах почва обладает сравнительно высокой биологической активностью (что подтверждается физико-химическими показателями - см. табл. 1), чем и обусловлено разнообразие экстремофильных форм бацилл. С другой стороны, численность аэробных микроорганизмов по мере увеличения глубины уменьшается и на глубинах

2,5 – 3 м доходит до 10,2 млн/г почвы. Наряду с немногочисленными мезофильными (7 млн/г почвы), встречаются и термофильные бациллы (0,4 тыс/г почвы). Следует ожидать, что на этих глубинах начинают превалировать анаэробные микроорганизмы, что косвенно подтверждается интенсивным выделением метана с поверхности обследуемого участка (годовой отчет НИ компании “Геориск”).

Среди почвенных микроорганизмов количество микромицетов доходит до 260 тыс/г на глубине 0,2 м, 180 тыс/г - 0,5 – 1 м, 90 тыс/г - 1,5-2 м и 80 тыс/г - 2,5-3 м. Сравнительно небольшое количество микромицетов и его снижение по мере углубления можно объяснить воздействием совокупности факторов (недостаточная аэрация, высокое значение рН среды, высокая температура).

Таким образом, в результате проведенных работ из обследованных почвенных образцов участка термальной и геохимической аномалии Дилижана выделены и морфологически охарактеризованы культуры экстремофильных форм бацилл, в том числе термофилов - 19 штаммов, алкалофилов - 3 штамма, галофилов - 1 штамм и термогалофилов - 1 штамм.

Согласно литературным данным, экстремофильные формы бацилл являются активными продуцентами амилаз, ЦГТ-аз, β -галактозидаз, протеаз, липаз [1, 6]. Нами были проверены некоторые ферментативные активности выделенных экстремофильных форм бацилл. Результаты изучения представлены в табл. 3.

Среди изученных нами культур наиболее ярко выраженной амилолитической активностью обладают термофилы (9 штаммов), β -галактозидазной активностью - термофильные (3 штамма) и алкалофильные штаммы (3 штамма). Особенно сильно проявляется ЦГТ-азная активность. Почти все культуры являются продуцентами α -, β - и γ -ЦД, что соответствует литературным данным [1]. Способностью синтезировать активные протеазы обладают 11 штаммов термофилов, алкалофилов и галофилов.

В литературе имеются и данные, свидетельствующие о наличии целлюлолитической, пектинолитической и инулиназной активностей у экстремофильных форм микромицетов, однако данные об этом ограничены [6, 10]. Среди изученных штаммов активными продуцентами целлюлаз являются 1 термофильный и 2 алкалофильных штамма, пектиназ - 1 алкалофильный и инулиназ - 3 термофильных и 1 алкалофильный.

Выделенные штаммы экстремофильных форм бацилл из почвенных образцов с участка термальной и геохимической аномалии Дилижана включены в коллекцию культур микроорганизмов кафедры микробиологии и биотехнологии ЕГУ и научно-исследовательской компании “Геориск”. Они послужат объектом дальнейших исследований с целью их идентификации и изучения возможностей использования в биотехнологических производствах.

Таблица 3. Характеристика ферментативных активностей выделенных экстремофильных форм бацилл

№ культур	Ферментативные активности												
	Амилолитическая	ЦГТазная (наличие ЦД)	Целлюлолитическая	Пектинолитическая	Инулиназная	Протеолитическая		β-галактозидазная	Липолитическая				
						Казеинолитическая	Желатиназная		Маргарин	Сливочное масло	Пальмовое масло	Оливковое масло	Подсолнечное масло
T-1	+	α/β/γ	-	-	-	+	-	-	++	+	-	-	-
T-2	+++	α/β	-	-	-	+	+	-	-	+	-	++	-
T-2'	++	α	-	-	-	++	++	-	-	+	-	+	-
T-3	+	α/β	-	-	-	-	-	-	+	++	-	-	+
T-3'	+++	α/β	++	++	++	++	+++	-	-	++	+	+	+
T-4	++	α/β	++	++	+++	+	-	-	-	+	-	+	++
T-5	++	α	++	++	-	+	-	-	++	-	-	++	-
T-6	+	α/β	++	++	+	++	+++	-	-	++	+	+	-
T-7	+++	α/β/γ	+	-	+	+++	+++	+	+	+	++	+	+
T-7'	+++	α/β/γ	+	-	+++	+++	++	+	+	+	++	+	+
T-8	++	α/β/γ	+++	-	++	++	+++	+++	-	-	++	++	+
T-9	+	α/β/γ	+	-	+++	+	-	+	++	-	-	+	+
T-10	+++	α/β/γ	-	-	+	+++	+++	+	-	-	+++	+	-
T-11	+++	α/β/γ	-	-	++	++	+	+	-	+	+++	++	-
T-12	+	α/β/γ	-	-	+	+	-	-	-	++	-	+++	-
T-13	+++	α/β/γ	-	-	+	+++	+++	+	+	-	+++	++	++
T-14	++	α/β/γ	-	-	+	+++	++	++	+++	+	++	+++	++
T-15	+	α/β	++	-	-	+++	+++	++	-	-	++	+	-
T-16	+++	α/β	-	++	-	+	-	+	-	++	-	-	+++
T-17	++	α/β	++	-	+	+++	-	-	+	-	+++	++	+++
T-18	+++	α/β	++	-	+	+	+	+	++	-	+++	+	-
T-19	+	α/β	++	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
A-20	++	α/β	+	++	++	++	+++	+	+++	+++	-	++	+
A-21	++	α/β	+++	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+	+++	+
A-22	++	α/β	+++	+++	++	++	+++	+	+++	++	+++	++	—
T-Г-23	++	α/β	+	++	+	++	+	-	+++	+++	-	+	+++
Г-24	++	α/β	+	++	++	+	-	-	++	+	-	-	-

Условные обозначения: Т-термофилы, А-алкалофилы, Г-галофилы, Т-Г-термогалофилы.
 (-) - отсутствие роста, (+) - слабый рост, (++) - средний рост, (+++) - сильный рост.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абемян В.А., Авакян З.Г., Мелкумян А.Г., Балаян А.М., Узунян Л.В., Гаспарян А.В. Биохимия, 57, 3, 430-437, 1992.
2. Африкян Э.Г. Тр. сектора микробиол. АН Арм ССР, 21-35, 1953.
3. Вайтенлавичус А.И. Лабораторное дело, 10, 626-627, 1977.
4. Кашнер Д. Жизнь микробов в экстремальных условиях. 519, М., Мир, 1981.
5. Кестнер А.И., Вокк Р.А., Паппель К.Э., Пейпман Э.М. Прикл. биохимия и микробиология, 25, 3, 425-430, 1989.
6. Логинова Л.Г., Головчева Р.С., Егорова Л.А. Жизнь микроорганизмов при высоких температурах. 240, М., Наука, 1966.
7. Хачатурян А.А., Казанчян Н.Л., Хачатурян Н.С., Адамян М.О., Хачикян Л.А. Биолог. журн. Армении, 48, 1, 12-18, 1995.
8. Эдилян Р.А., Петросян Г.П., Розова Н.Н. Почвы Армянской ССР (Краткая характеристика). 383, Ереван, Айастан, 1976.
9. Djrbashian R., Karakhanian A., Philip H., Tozalakyan P., Arakelian S. and Abgarian Y. In: The Resolution of Geological Analyses and Models for earthquake faulting studies. Comerino, 41-42, 1998.
10. Horikoshi K., Akiba T. Alkalophilic microorganisms - a new microbial world. Tokyo, Berlin, Heildelberg, New York. Springer-Verlag, 213, 1982.
11. Karakhanian A., Tozalakyan P., Grillot J.-C., Philip H., Melkonyan D., Paronyan R., Arakelyan S. Environmental Geology, 40 (3), 279-288, 2001.
12. Larsen H. In: The procariots, 1, 985-994, 1981.
13. Tilden E.B., Hudson C.S. J. Bacteriol., 43, 2, 527-544, 1942.

Поступила 02.XII.2001

РОСТ АМЕРИКАНСКИХ ГИБРИДНЫХ СОРТОВ ТОПОЛЯ НА СОЛОНЧАКАХ АРАРАТСКОЙ ДОЛИНЫ

Г.Г. МОВСЕСЯН, А.А. ЧАРЧОГЛЯН, А.П. ХУРШУДЯН

Институт ботаники НАН Армении, 375063, Ереван

В статье приведены данные первого года сортоиспытаний 17 сортов быстрорастущих американских тополей в условиях солончаков Араратской равнины. Показано, что текущий прирост гибридных сортов в 3-6 раз превышает аналогичный показатель широко распространенных в Армении и применяемых в различных насаждениях тополей (изящного, канадского, Боллеана).

Выявлено, что если темп роста испытываемых сортов тополей обусловлен конкретными условиями произрастания, то сезонный ритм роста эндогенен и в различных условиях произрастания остается неизменным.

По предварительным данным, из испытываемых 17 сортов тополей для солончаков Араратской равнины более перспективны следующие сорта: *I-214*; *IH-37/61 "Tripolo"*; *DN-55 P.Mix*. Исходя из потенциальных возможностей некоторых сортов, можно считать перспективными (с некоторыми издержками) и такие сорта как *NM-2*, *IH-262 "Russo"*, *DN-1 Populus Mix x P.euramericana* и *Eugenci*.

Հողվածում բերված են բարդու ամերիկյան արագած 17 սորտերի փորձարկման առաջին տարվա արդյունքներն Արարատյան դաշտավայրի աղուտների պայմաններում: Ցույց է տրված, որ հիբրիդային սորտերի ընթացիկ աճը 3-6 անգամ գերազանցում է Հայաստանի կանաչ տնկարկներում լայնորեն օգտագործվող նրբագեղ, կանադական և Բոլլեանի բարդիների աճին:

Բացահայտված է, որ եթե բարդու փորձարկվող սորտերի աճի տեմպը պայմանավորված է ածման կոնկրետ պայմաններով, ապա աճի սեզոնային ռիթմը ենդոգեն է, և ածման տարբեր պայմաններում մնում է անփոփոխ:

Նախնական տվյալներով բարդու փորձարկվող 17 սորտերից Արարատյան դաշտավայրի աղուտներում ճշակման համար կարելի է համարել հեռանկարային *I-214*; *IH-37/61 "Tripolo"*; *DN-55 P.Mix*. սորտերը: Ելնելով որոշ սորտերի պոտենցիալ հնարավորություններից, կարելի է հեռանկարային համարել (որոշ հապավումով) *NM-2*; *IH-262 "Russo"*; *DN-1 Populus Mix x P.euramericana* և *Eugenci* սորտերը:

The data of the first year test of 17 rapid growing varieties of american poplars under the conditions of the saline soils of Ararat valley are given. It is shown that running growth of hybrid varieties 3-6 times exceeds the one of the poplars wide distributed in Armenia and used in different kinds of plantations (*Populus gracilis*, *P.canadensis*, *P.holleana*).

It has been shown that if the growing rate of tested varieties depends on the specific growth conditions, the seasonal growing rhythm is endogenous and invariable under different conditions.

Preliminary data show that for the saline soils of Ararat valley the most worthwhile ones of the 17 tested varieties are: *I-214*, *IH-37/61 "Tripolo"*, *DN-55 P.Mix*. Taking into account their potential possibilities, the varieties *NM-2*, *IH-262 "Russo"*, *DN-1 P. Mix. x P.euramericana* and *Eugenci*, can be considered worthwhile ones (with some outlay) too.

Американские сорта тополя - сезонный темп и ритм роста - солончаки

В Армении всегда был дефицит деловой древесины, особенно хвойных и мягколиственных пород, который восполнялся за счет дорогостоящего завоза из восточных областей России. Однако после развала СССР и

транспортной блокады Армении, наряду с экономическими проблемами и дефицитом деловой древесины, возникла проблема нехватки леса как энергоресурса для обеспечения населения биотопливом в зимний период. В последние годы в результате интенсивных бессистемных рубок скудных природных лесов, состоящих из ценных твердолиственных пород с высокодекоративной древесиной - дуба, бука, ясеня, клена, вяза и др., значительные лесные площади оголились, что привело к потере способности самовосстановления, почвозащитных, водоохранных и других полезных свойств леса.

К сожалению, необеспеченность Армении лесоматериалами не случайное явление, связанное с изменением общественной системы в стране, а следствие лесодефицитности республики, которая будет ощущаться до тех пор, пока не будут приняты глобальные меры по созданию собственной лесосырьевой базы – лесопромышленных плантаций из быстрорастущих пород с короткой ротацией, как это осуществлено во многих развитых странах, независимо от их лесистости.

На лесопромышленных плантациях чаще всего выращивают тополь, который благодаря быстрому росту за короткий период (20-25 лет) способен обеспечить с единицы площади (га) 600-1000 м³ древесины (что другие породы могут сформировать за 150-250 лет), пригодной для применения в различных областях народного хозяйства: целлюлозно-бумажной промышленности, строительстве, в производстве спичек и различной тары, для изготовления древесно-стружечных плит, мебели и т.д.

В условиях малоземелья республики потенциальным земельным резервом для закладки лесопромышленных плантаций из быстрорастущих пород, в частности тополя, являются засоленные почвы Араратской долины и обнаженные донные отложения оз.Севан, непригодные для сельскохозяйственного пользования.

Настоящая статья - второе сообщение из цикла работ, посвященных сортоиспытанию американских быстрорастущих гибридных сортов тополя в условиях Армении. В ней рассматриваются данные о росте первого (1995г.) культивирования американских 17 гибридных сортов тополя на двух участках Араратской долины с засоленными почвами: на территории рыбного хозяйства вблизи селения Армаш (Араратская область) и на территории рыбного хозяйства Ехегнут (Армавирская область). Для сравнения приведены данные о росте этих же сортов тополя, культивируемых на полупустынных окультуренных почвах предгорий Араратской долины (на территории Ереванского ботанического сада НАН Армении).

В климатическом отношении эти три пункта расположены в зоне с преобладанием сухого континентального климата, господствующего в среднеараксинской впадине, в пределах высот 800-1300 м [1]. Здесь продолжительность солнечного сияния в среднем за год достигает 2600 часов. Средняя продолжительность безморозного периода 243 дня. По данным Фигуровского [5], среднегодовая температура в Ереване - 11,4°, Армавире (Сардапате) - 10,9° и Армаше (Араздаян) - 11,6°. Годовая сумма осадков -

200-300 мм (Армаше - 206, Армавире - 246, в Ереване - 312 мм), из коих за шесть месяцев вегетации (V-X месяцы) выпадает соответственно по пунктам 93, 129 и 145 мм.

В Арагатской долине пустынные почвы представлены болотными и засоленными типами, которые выше 1200 м (Ереванский ботанический сад) сменяются серо-бурыми окультуренными полупустынными почвами.

Почвы опытных участков характеризуются сильной засоленностью. Как свидетельствуют данные, почвы Армаша относятся к категории средне- и сильнозасоленных почв. Здесь почвы, особенно 40-60 см слой, выделяются содержанием большого количества воднорастворимых солей (ионы Na^+ и CO_3^{2-}), которые в сочетании с недостаточным содержанием ионов калия (K^+), гумуса, фосфора и кальция создают неблагоприятные условия для роста растений, не относящихся к галофитам. Поэтому природная растительность здесь представлена представителями галофитной пустыни: солянки-соляро (*Salicornia europae*), сарсазаном (*Halocnemum strobilaceum*), поташником (*Kalidicum caspicum*), соляным полосником (*Halostachys caspica*), селитрянкой (*Nitraria schoberi*), солянкой (*Salsola vermiculata*, *S. dendroidea* и др.).

Как показало изучение динамики сезонного роста, испытываемые сорта тополей на засоленных почвах Армаша проявили нормальную приживаемость (60-100%) и весьма интенсивный рост, за исключением сорта 44/143, черенки которого не укоренились ни на одном участке. Основной отпад черенков происходил в мае, а затем, до конца вегетации, сохранность культур практически не менялась. Наименьший показатель сохранности (40-50%) проявили сорта DTAC-61, I-214 и Robusta. Наибольший средний рост (в среднем выше 150 см) отмечен у гибридных сортов I-214; DN-55 P. Mix и IH-37/61 "Tripolo". Рост отдельных растений некоторых сортов (I-214; IH-37/61 "Tripolo"; NM-2; IH-262 "Russo", DN-1 P. Mix x P. euramericana, DN-55 P. Mix и Eugenci) достигает 170-202 см, что свидетельствует о потенциальной возможности их роста. Кроме того, у ряда сортов (I-214; IH-78; IH-37/61 "Tripolo" NM-2; IH-262 "Russo", DN-10; DN-1; DN-55 и Eugenci), отмечен интенсивный поперечный рост, у них диаметр у основания достигает 15-21 мм. Притом, испытываемые сорта, за исключением I-37/61 "Tripolo", формировали 1-5 боковых ветвей, длиной 24-74 см. Замечательно то, что посаженные для контроля тополь изящный и т. Боллеана также проявили здесь сравнительно высокий темп роста (прирост 55-70 см), образуя 4-5 боковых ветвей длиной 20-28 см, тогда как у тополя канадского средний рост составлял 35 см.

Изучение динамики роста показало, что испытываемые сорта тополя в данных условиях практически прекращают рост в конце августа. В этом отношении некоторое исключение составляют сорта IH-78 и Robusta, а также тополь изящный и т. Боллеана, которые в сентябре продолжают расти, формируя 10-14% годичного прироста. Притом, если у тополя Боллеана и гибридного сорта Robusta после июньского максимального темпа роста наблюдается равномерное снижение его, то у тополя изящного с июня по сентябрь имеет место равномерный темп роста (по 14% прироста ежемесячно),

а затем в октябре рост его сразу приостанавливается. У сорта *IH-78* активный темп роста наблюдается в июне и августе (по 30-33% прироста), причем он продолжается и в сентябре, но довольно низкими темпами.

Рост тополя канадского и гибридных сортов *I-214* и *MD-1* за вегетацию протекает по одновершинным кривым, в июне-июле формируется 85-90% годовичного прироста, после чего рост практически останавливается.

По характеру ритма роста остальные сорта можно разделить на 4 типа: с двувершинной кривой сезонного роста (в июне и августе). Это большинство сортов (*Imperial*, *DTAC-61*; *NM-2*; *NM-4*; *DN-10*; *NE-222*; *DN-1* и *Eugenci*), при этом формируется 70-75% годовичного прироста. С одновершинной кривой сезонного роста - сорта *IH-37/61 "Tripolo"* и *DN-55 P. Mix*, у которых в июле формируется около 40% годовичного прироста. С равномерной динамикой роста - *NM-6 Populus nigra x P. maximowiczii* - у них отмечается по 25-35% годовичного прироста. С наиболее активным ростом в августе - *IH-262 "Russo"* - у них отмечается 38% прироста в августе и по существу этим завершается рост.

Листопад у испытуемых американских гибридных быстрорастущих сортов тополя на этом участке начинался в конце сентября и завершался в середине октября, до похолодания.

На участке Ехегнут из испытуемых 17 гибридных сортов и трех видов тополя 8 сортов погибли вследствие неблагоприятного водного режима почв, образовавшегося в результате некоторой приподнятости микрорельефа этой части опытного участка. Последнее обстоятельство в некоторой степени сказывалось также и на росте других испытуемых сортов тополя.

Здесь, на засоленных почвах, где естественно произрастает лишь тростник обыкновенный, из испытуемых сортов тополя интенсивный рост (в среднем 70-95 см по высоте и 9-13 мм в диаметре у основания) проявили сорта *IH-262 "Russo"*; *I-37/61 "Tripolo"* и *DN-1 P. Mix x P. euramericana*, отдельные экземпляры которых достигли 110-140 см высоты. Наименьший рост (40 см) отмечался у гибридного сорта *I-78 "Giacometti"*, а также у видов тополей: *P. gracilis*, *P. canadensis* и *P. bolleana*, прирост которых составил в среднем соответственно 40, 41 и 28 см, при диаметре 6, 5 и 4 мм.

Несмотря на сравнительно небольшой рост, некоторые сорта (*Eugenci*, *NE-222 P. Mix*, *I-37/61 "Tripolo"* *DN-1 P. Mix x P. euramericana* и *DN-55 P. Mix*) в год культивирования формировали по 1-3 боковых ветвей длиной 15-65 см, что свидетельствует о высокой жизненности этих сортов в данных условиях произрастания.

Характер ритма роста испытуемых сортов почти аналогичен таковому тополей, культивируемых на участке Армаш, по меньшим абсолютным показателям.

Сопоставление показателей роста этих же сортов, культивируемых на полупустынных окультуренных почвах предгорий Араратской долины (Ереванский ботанический сад), показало, что по темпу роста они занимают промежуточное место. Наиболее высокие показатели роста растений отмечались на участке Армаш, наименьшие - в Ехегнуте. Здесь сравнительно высокий рост проявляют сорта *I-214*; *IH-262* и *NE-222*, прирост отдельных экземпляров

которых достигает 135-150 см.

Ритмика роста в большинстве случаев аналогична таковой растений, культивируемых на солончаках Араратской долины, т.е. основная часть (67-87%) годового прироста формируется за июнь-июль.

Судя по данным первого года культивирования американских гибридных быстрорастущих сортов тополя, можно констатировать, что из 17 сортов на засоленных почвах Араратской долины наиболее интенсивным ростом выделяются *I-214*, *IH-37/61 "Tripolo"*, *DN-55 P.Mix*, средний прирост которых выше 150 см, при диаметре ствола 15-20 мм. Кроме того, положительными внутренними потенциальными возможностями роста на солончаках выделяются также сорта *NM-2*; *IH-262 "Russo"*; *DN-1 P. Mix x P. euramericana u Eugenci*, годичный прирост отдельных экземпляров которых достигает до 202 см.

Одновременно можно констатировать, что, если темп роста американских гибридных быстрорастущих сортов тополя обусловлен условиями местопроизрастания (даже микроусловиями для роста отдельных деревьев), то ритм роста их эндогенен и при изменении условий произрастания по существу не меняется.

Выявлено также, что испытываемые гибридные сорта и три вида тополя на солончаках формируют грубые кожистые листья. В отличие от растений, культивируемых на окультуренных почвах, листопад на солончаках начинается с первых чисел октября.

ЛИТЕРАТУРА

1. Багдасарян А.Б. Климат Армянской ССР, Изд. АН АрмССР, Ереван, 1998.
2. Павленко Ф.А., Филимонова В.Д. Проблемы повышения продуктивности лесов, 3, М., 1960.
3. Правдин А.Ф., Филимонова В.Д. Проблемы повышения продуктивности лесов, 3, М., 1960.
4. Тахтаджян А.Л. Флора Армении, 5, Изд. АН АрмССР, Ереван, 1966.
5. Фигуровский И.В. Климатический очерк северо-восточной Армении с соседними районами. Тифлис, 1920.
6. Чедрашвили И.И. Разведение тополей и их значение в народном хозяйстве. Изд. "Сабчета сакартвело", Тбилиси, 1966.

Поступила 15.XI.1998

ԳԵՏՆԱՏԱՆՁԻ ՎԻՏԱՄԻՆԱՅԻՆ ԿԱԶՄԸ ԵՎ ՆՐԱ ԲՈՒԺԻՉ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ս.Վ. ԱՊՐԻԿՅԱՆ*, Վ.Ս. ԱՊՐԻԿՅԱՆ***, Ս.Հ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ**,
Ա.Լ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ*

*Երևանի «Հայրուսակ» ինստիտուտ, բուսաբուծության լաբորատորիա, 375010
**Երևանի պետական համալսարան, կենսաքիմիայի ամբիոն, 375025
***ՀՀ ԳԱՍ Հ. Բունիարյանի անվ. կենսաքիմիայի ինստիտուտ, 375014

Проведен биохимический анализ терапевтических свойств различных сортов и гибридов земляной груши *Helianthus tuberosus* в разных экологических зонах Армении. Установлено, что все испытанные разновидности *Helianthus tuberosus* содержат в своем составе ряд витаминов, включая каротин, B₁, B₂, C, PP, холин.

Изучалось влияние недостатка витаминов на метаболические процессы и возникновение патологических состояний, таких как диабет, повышенное давление крови, мочекаменная и желчекаменная болезни и патологии суставов.

Կատարվել է Հայաստանի տարբեր էկոլոգիական պայմաններում *Helianthus tuberosus*-ի տարբեր սորտերի և հիբրիդների բուժական հատկությունների կենսաքիմիական անալիզ: Բացահայտվել է, որ *Helianthus tuberosus*-ի փորձարկված բոլոր տեսակները պարունակում են մի շարք վիտամիններ, ներառյալ կարոտին, B₁, B₂, C, PP, խոլին:

Ուսումնասիրվել է վիտամինների անբավարարվածության ազդեցությունը մետաբոլիկ պրոցեսների և պաթոլոգիական վիճակների առաջացման վրա, ինչպիսիք են՝ շաքարախտ, արյան բարձր ճնշում, միզաքարերի և լեղաքարերի հիվանդություններ և հոդերի պաթոլոգիա:

Biochemical analysis of therapeutic properties of different varieties and hybrids of *Helianthus tuberosus* in various ecological regions of Armenia were carried out. It has been established that all varieties of *Helianthus tuberosus* tested contain in their composition a series of vitamins including carotene, B₁, B₂, C, PP, choline.

The influence of deficiency of vitamins on the metabolic processes and initiation of pathological states such as diabetes, rise of blood pressure, urine and gall-stone diseases, joint pathologies were studied.

Топинамбур - витамины - пищевые продукты

Առաջին անգամ ուսումնասիրվել է գետնատանձի տարբեր սորտերում և հիբրիդներում պարունակվող վիտամինների ընդհանուր կազմը, զարգացման դինամիկան և օգտագործման հնարավորությունները որպես օրգանիզմի նյութափոխանակության անհրաժեշտ գործոնների:

Վիտամինները որպես կենսաբանական ակտիվ նյութեր անհրաժեշտ են նյութափոխանակության և օրգանիզմի կենսագործունեության համար: Հետևապես նրանք նպաստում են մարդու ֆիզիկական և մտավոր աշխատունակության բարձրացմանը [3-5]: Ըստ քիմիական կազմի վիտամինները բազմազան են, տարբեր են նաև նրանց դերը և ունեցած ֆիզիոլոգիական ազդեցությունը: Օրինակ՝ սննդի մեջ կարոտինի անբավարարության դեպքում ի հայտ է գալիս օրգանիզմի աճի խախտում, B₁, B₂ վիտամինների պակասի ժամանակ առաջանում է ընդհանուր թուլություն, PP-ի անբավարար լինելու դեպքում նկատվում է արյունատար անոթների պատերի փխրունություն:

Գարնանը օրգանիզմում վիտամինների պակասի հետևանքով ավելանում են կենսաառիթմների տատանումները, խախտվում է իմունիտետը, առաջանում է անքնություն, ախորժակի անկում և այլն [1, 2, 7, 8]:

Վիտամինների հարուստ բուժահումք հանդիսացող բույսերից մեկի՝ գետնատանձի վերաբերյալ եղած գրական տվյալները ամբողջական չեն: Միայն նշվում է այդ կուլտուրայի կանաչ զանգվածում պարունակվող կարոտինի քանակը, թարմ մասսայում 74,4-102,6, չոր քաշում 258-382 մգ/կգ [13], իսկ խլիճը որոշված է միայն մեկ սորտի Կիկյան սպիտակի մեկ նմուշում, այն է տերևներում 193,6-810,0, պալարներում 445-1462 մգ/կգ [9]:

Ներկա աշխատանքը նվիրված է գետնատանձի նորագույն սորտերի ու հիբրիդների կուլտուրայում բացահայտելու վիտամինների բաշխման դինամիկան և տալու նրանց օգտագործման հնարավորությունները բուսաբուծության մեջ՝ լրացնելու առ այսօր բացակայող վիտամինային պրոբլեմը վերոհիշյալ կուլտուրայի վերաբերյալ:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունները կատարվել են 1993-1996թթ. Երևանի (կիսաանապատային) ու Յանիխի (բարձրալեռնային) գոտիներում աճեցրած գետնատանձի տարբեր սորտերից ու հիբրիդներից վեցրած 50 փորձանմուշներում (թարմ և չոր), բույսերի ծաղկման սկզբնական փուլում, գոյություն ունեցող ժամակակալից մեթոդներով [3, 10, 11, 12, 15]:

Արդյունքներ և քննարկում: Կատարված ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ինչպես կիսաանապատային, այնպես էլ բարձրալեռնային գոտիներում փորձարկված գետնատանձի բոլոր սորտերն ու հիբրիդները ինտենսիվ աճում ու զարգանում են, տալով կանաչ զանգվածի (300–600 գ/հա) ու պալարների (185-380 գ/հա) բարձր բերք տարբեր հողակլիմայական պայմաններում [1, 2, 6, 16]: Նրանք հողի նկատմամբ պահանջկոտ չեն, հեշտությամբ տանում են ամառվա երկարատև երաշտը և ձմեռվա սառնամանիքները, ցուցաբերելով բարձր պլաստիկություն էկոլոգիական պայմանների նկատմամբ: Գետնատանձի պարունակած վիտամինների վերաբերյալ ստացված տվյալները բերվում են 1-2 աղյուսակներում:

Ըստ բերված ցուցանիշների, տարբեր կլիմայական պայմաններում գետնատանձի բոլոր սորտերն ու հիբրիդները պարունակում են որոշակի քանակության կարոտին [պրովիտամին A), B₁, B₂, խլիճ, C, PP, որոնց մաքսիմալ քանակը պարունակում են գետնատանձի հիբրիդների կանաչ զանգվածն ու պալարները:

Ինչ վերաբերվում է գետնատանձի բուժիչ հատկություններին (ինուլինի պարունակությունը տերևներում մինչև 7,5, պալարներում մինչև 18-60%, չոր և թարմ քաշից), այն ժողովրդական բժշկության մեջ օգտագործվում է արյան ճնշման իջեցման, ճարպակալվածության, սակավարյունության, լեղապարկի ու երիկամների քարերի առկայության, բազմահողաբորբերի և աղերի կուտակման հիվանդությունների դեպքում [14]: Ցավոք, այն դեռ չի մտել գիտական բժշկության դեղորայքային պատրաստուկների շարքը: Անհրաժեշտ է ձեռնամուխ լինել նրա կլինիկական փորձարկումներին նաև մեր հանրապետությունում: Կիկի սննդարդյունաբերության տեխնոլոգիայի և էնդոկրինոլոգիայի գիտահետազոտական ինստիտուտում կատարած կլինիկական հետազոտությունների հիման վրա դեռ 1988թ. առաջարկել են գետնատանձի պալարներից ստացված պատրաստուկները տարբեր սննդամթերքների մեջ

(գալետ, կոնֆետ, խորիզ, բուլկի, կարկանդակ) օգտագործել շաքարախտ հիվանդության բուժման նպատակով [8]: Ապացուցված է, որ մարդու օրգանիզմի վրա գետնատանձը թողնում է լեղամուղ, միզամուղ, ցավազրկող, հակաճառագայթային, հակաուռուցքային, հակախոցային, վերքերն արագ լավացնող, մկանային պրկումներն հանող, առիթմիաները վերացնող, հակակարծրախտային և այլ ազդեցություններ [5]:

Հունգարացի բժիշկ գիտնականների կարծիքով հակաուռուցքային արդյունքը, ինչպես նաև օրգանիզմում իմունային համակարգի ակտիվությունը խթանելու գետնատանձի ազդեցությունը ապահովվում է նրանում պարունակվող մագնեզիումի, ցինկի, սելենի և այլ մետաղների իոնների բարձր քանակություններով: Գետնատանձի պալարներում եղած ինուլինը նպաստում է օրգանիզմի կողմից կալցիումի, երկաթի և այլ իոնների յուրացմանը՝ ակտիվացնելով ենթաստամոքսային գեղծի աշխատանքը և թեթևացնելով լյարդի շաքարային փոխանակությունը [5]: Գետնատանձի այս հզոր նախազգուշական և բուժիչ հատկությունները ապահովվում են նրանում պարունակվող կենսաբանական ակտիվ նյութերի շնորհիվ, որոնց մեջ մտնում են նաև վերոհիշյալ վիտամինները: Մարդը գետնատանձի միջոցով ստանալով կենսաբանական ակտիվ նյութերի կոմպլեքս, ստրենների և շատ այլ հիվանդությունների նկատմամբ դառնում է անընկալունակ:

Աղյուսակ 1. Հայաստանի Հանրապետությունում փորձարկված գետնատանձի սորտերի ու հիբրիդների տերևներում եղած կարոտինի քանակը (ծաղկման սկզբի փուլում, միջինը 1993-1996թթ.)

Սորտ, հիբրիդ	խոնավությունը, %	կարոտին, մգ/կգ	
		թարմ բաշից	չոր բաշից
Երևանի շրջակայք (Ավան, կիսաանապատային գոտի, բարձրությունը 1200 մ)			
Տեղական (ստուգիչ)	71.85	88.15	278
Կիևյան սպիտակ	72.47	99.07	297
Վաղին	73.04	88.45	283
Նախողկա	71.93	88.77	293
Ինտերես	71.58	89.83	279
Ինտերես - 21	72.24	100.01	298
Գետնարևածաղիկ - 15	72.01	120.74	324
Նովոստ ՎԻՐԱ	72.28	117.31	306
Գ - 71 - 39	72.33	120.06	328
Գետնարևածաղիկ մանուշակագույն	71.86	111.00	300
Յանիխի տարածք (Մարտունի, բարձրալեռնային գոտի, բարձրությունը 2300 մ)			
Տեղական (ստուգիչ)	72.86	95.04	291
Կիևյան սպիտակ	73.16	107.95	316
Վաղին	73.88	105.03	307
Նախողկա	72.65	96.41	298
Ինտերես	73.18	88.83	287
Ինտերես - 21	73.67	106.31	309
Գետնարևածաղիկ - 15	72.88	130.15	351
Նովոստ - ՎԻՐԱ	72.94	121.32	330
Գ - 71 - 39	73.00	126.44	340
Գետնարևածաղիկ մանուշակագույն	73.24	131.66	360

Աղյուսակ 2. Հայաստանի Հանրապետությունում փորձարկված գետնատանձի սորտերի ու հիբրիդների վիտամինային կազմը (մգ/կգ, միջինը՝ 1993-1996թթ. բնական խոնավությամբ, %)

Սորտ, հիբրիդ	B ₁	B ₂	խտին	C	PP
Երևանի շրջակայք (Ավան, Կիսաանապատային գոտի)					
Տեղական (ստուգիչ)	0.33- 0.78	0.12 1.38	465 1950	11.40 4.50	7.56 11.25
Կիկյան սպիտակ	0.40 0.81	1.47 1.63	486 1994	18.10 4.68	8.46 13.67
Վաղիմ	0.63 0.90	1.51 1.74	541 2160	17.60 4.78	9.00 14.28
Նախողկա	0.75 0.93	1.64 1.80	588 2188	15.40 5.30	8.40 15.60
Ինտերես	0.43 0.76	1.42 1.58	493 2000	17.80 5.67	9.05 12.76
Ինտերես-21	0.53 0.81	1.46 1.60	500 2018	17.90 4.95	10.25 13.31
Գետնարևածաղիկ-15	0.70 1.02	2.07 2.61	670 2290	21.20 5.70	10.31 18.40
Նովոստ ՎԻՐԱ	0.55 0.96	2.44 2.85	740 2370	20.80 6.20	9.75 20.60
Գ - 71 - 39	0.83 1.21	2.48 2.80	816 2413	23.40 6.80	10.15 23.70
Գետնարևածաղիկ մանուշակագույն	0.88 1.35	2.68 2.71	685 2341	23.10 6.40	11.84 20.73
Յանիխի տարածք (Մարտունի, բարձրալեռնային գոտի)					
Տեղական (ստուգիչ)	0.27 0.68	0.91 1.00	458 1890	10.05 3.18	6.80 10.67
Կիկյան սպիտակ	0.33 0.80	1.33 1.40	480 1980	17.50 3.60	7.70 12.65
Վաղիմ	0.55 0.81	1.33 1.68	528 2100	16.70 3.45	8.50 13.27
Նախողկա	0.68 0.80	1.50 1.82	577 2081	14.20 4.30	7.61 13.80
Ինտերես	0.38 0.60	0.98 1.60	500 2015	16.75 5.80	8.83 12.80
Ինտերես - 21	0.40 0.75	1.33 1.45	476 1997	15.70 4.83	9.25 12.08
Գետնարևածաղիկ - 15	0.61 0.93	1.85 2.00	672 2200	18.75 4.80	10.00 17.70
Նովոստ ՎԻՐԱ	0.50 0.82	1.93 2.15	700 2310	21.00 5.80	10.00 17.71
Գ - 71 - 39	0.80 0.97	2.00 2.40	800 2390	20.40 5.90	9.08 21.00
Գետնարևածաղիկ մանուշակագույն	0.86 1.13	2.01 2.40	688 2300	22.08 5.81	10.80 17.21

Օճանորություն: Համարիչ տերևներում, հայտարար պալարներում:

Վիտամինները պաշտպանում են նաև սրտի աշխատանքը: Ըստ ամերիկյան մի խումբ բժիշկ գիտնականների [4], որոնք ուսումնասիրել են շուրջ 87 հազար սրտային հիվանդների, պարզել են, որ վիտամինները պաշտպանում են սրտի նորմալ աշխատանքը: Այդ հիվանդներից միայն, որոնք շաբաթը 5 անգամ օգտագործել են թարմ կանաչեղեն վիտամիններով հարուստ, 3 անգամ քիչ են

հիվանդացել սրտի ինֆարկտով, կանաչեղեն չօգտագործողի համեմատությամբ: Նույն երկրի սրտաբանների մի ուրիշ խումբ հաստատել է, որ մաքսիմալ քանակությամբ վիտամին E և C պարունակող բանջարեղեններով սնվող մարդիկ 40%-ով պակաս են հիվանդացել, քան այն քիչ օգտագործողները:

Յուրաքանչյուր վիտամին ունի իր յուրահատուկ դերն օրգանիզմում, սակայն նրանցից չափազանց մեծ է խոլինի դերը լյարդի հիվանդությունների ցիրոզի դեպքում: Բժշկության մեջ լյարդի հիվանդությունների բուժման նպատակով լայնորեն օգտագործվում է խոլին քլորիդ քիմիական պատրաստուկը: Հաշվի առնելով բուսական պատրաստուկների մեծ առավելությունը և գետնատանձի պալարներում եղած վիտամինների բազմազան տեսակաշարը, այդ թվում նաև խոլինի առավելագույն քանակի առկայությունը (2000-2413 մգ/կգ), անհրաժեշտ է այն շտապ անվանական կարգով առաջարկել կլինիկական փորձարկման, որի կիրառումը բժշկության մեջ կունենա մեծ նշանակություն:

Այսպիսով, գետնատանձի մասսայական տարածվածությունը Հայաստանում կհեշտացնի նրա անվարձահատույց օգտագործումը որպես լավագույն բուժահումքի տարբեր հիվանդությունների բուժման համար:

ЛИТЕРАТУРА

1. *Александрова М.И.* Тезисы 3 симп. по новым силосным растениям. АН СССР, Коми филиал. 3-5, Сыктывкар, 1965.
2. *Априкян С.В., Адунц Г.Т., Акопян Г.О.* Биолог. журн. Армении, 26, 6, 52-56, 1973.
3. Биохимия и физиология витаминов. Методы определения витаминов. Сб. 4-5, М., Л., 1962, 1963.
4. Витамины защищают сердце. *АиФ – Здоровье*, (19) 9, М., 1993.
5. *Гринкович Н.И., Сорокина А.А.* Легенды и быль о лекарственных растениях. 2-18, Наука, М., 1988.
6. *Давидович С.С.* Тезисы 5 симп. по новым силосным растениям, ч.1, 75, Л., 1970.
7. *Зинченко Н.И., Стахив И.В., Макушко Т.Я.* Лекарственные растения в гастроэнтерологии. Научно думка, Киев, 1989.
8. *Киянский Д.* Здоровье, 9, 16, М., 1988.
9. *Марченко И.И.* Тезисы 6 симп. по новым корм. растениям, 213-214, Саранск, 1973.
10. Методы биохимических исследований. Под ред. проф. Зубрилина А.А., 54-57, Дубровицы, 1973.
11. Методическое руководство по определению витаминов. Под ред. Лаврова Б.А., Медгиз, 15-120, М., 1960.
12. *Петров К.П.* Практикум по биохимии пищевого растительного сырья. Изд-во Пищевая промышленность, 130-200, М., 1965.
13. *Привало О.Е.* Тезисы 5 симп. по новым силосн. раст., ч.1, 89-90, Л., 1970.
14. *Сидоров П.* Школа выживания. *АиФ – Здоровье*, 12-14, М., 1993.
15. *Трусов В.И.* Биохимия, 15, 6, 459, М., 1950.
16. *Устименко Г.В.* Земляная груша. 16-21, М., 1969.

Ստացվել է 24.XII.1999

ԳԵՏՆԱՏԱՆԶԸ ՈՐՊԵՍ ՇԱՔԱՐԱԽՏԻ ԲՈՒԺՄԱՆ ԴԵՂԱՄԻՋՈՑ ԵՎ ԴԻԵՏԻԿ ՍՆՈՒՆԴ

Ս.Վ. ԱՊՐԻԿՅԱՆ*, Վ.Ս. ԱՊՐԻԿՅԱՆ**, Ս.Յ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ*,
Ա.Լ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ**

*Երևանի «Հայրուսակ» ինստիտուտ, բուսաբուծության լաբորատորիա, 375010
**Երևանի պետական համալսարան, կենսաքիմիայի ամբիոն, 375025
***ՀՀ ԳԱԱ Հ.Բունիաթյանի անվ. կենսաքիմիայի ինստիտուտ, 375014

Հայաստանի տարբեր կլիմայական պայմաններում աճեցված գետնատանձի *Helianthus tuberosus* տարբեր սորտեր և հիբրիդներ կարող են տալ կանաչ զանգված մինչև 60 տ, պալարներ 38 տ, կամ 16 տ բյուրեղային պտղային շաքար, կամ 928 դՎլ էթանոլ, կամ 2290 դՎլ պտղաֆրուկտոզային հյուսք մեկ հա հաշվարկով: Համաձայն կատարված կենսաքիմիական անալիզի գետնատանձը հարուստ է օրգանական և հանքային նյութերով, հատկապես չոր նյութեր - 18-26%, սպիտակուցներ - 2,98-9,11%, ինուլին - 18-23%, վիտամիններ (պրովիտամին A, B₁, B₂, C, PP, խոլին) մակրո- և միկրոէլեմենտներ (K, Ca, P, B, Fe, Mg, Mo, Zn, Co, Se), ամինաթթուներ (արգինին, լիզին, տրեոնին): Գետնատանձի թարմ պալարներից կարելի է ստանալ շաքարախտի բուժման համար պատրաստուկներ, և նրանցից ստացված քսուլը կարելի է օգտագործել դիետիկ սննդի մեջ:

Различные сорта и гибриды земляной груши *Helianthus tuberosus*, выращенные в различных климатических условиях Армении, могут давать урожай зеленой массы до 60 т, клубней - 38 т или 16 т кристаллического плодового сахара, или 928.4 ДКЛ этилового спирта или 2290 ДКЛ плодо-фруктозного сока на 1 га. Согласно проведенному биохимическому анализу, *Helianthus tuberosus* богата органическими и минеральными веществами, т.е. сухие вещества - 18-26%, белки - 2,98 - 9,11%, инулин - 18-23%, витамины (провитамин A, B₁, B₂, C, PP, холин) макро- и микроэлементы (K, Ca, P, B, Fe, Mg, Mo, Zn, Co, Se), аминокислоты (аргинин, лизин, треонин). Из свежих корнеклубней земляной груши можно получать препараты для лечения сахарного диабета, и полученную из них пасту применять в диетическом питании.

Various sorts and hybrids of *Helianthus tuberosus* grown in different climatic zones of Armenia may give yield of green mass up to 60 t, tubers - 38 t or 16 t with the yield of crystalline fruit sugar, or 928.4 deciliters of ethanol, or 2290 deciliters of fruit juice per hectare. According to biochemical analysis, *Helianthus tuberosus* is rich in organic and mineral substances, namely the dry substances 18-26%, proteins - 2,98-9,11 %, inulin - 18-23 %, vitamins (provitamin A, B₁, B₂, C, PP, choline), macro- and microelements (K, Ca, P, B, Fe, Mg, Mo, Zn, Co, Se), aminoacids (arginine, lysine, threonine). From fresh fruits of plant may be obtained medicines for the treatment of diabetes, and a paste from them may be used in dietetic foods.

Топинамбур - диабет - диетическая пища

Վերջին ժամանակներս առանձին հեղինակներ [5, 6, 9, 11] նշում են գետնատանձի դիետիկ, բուժիչ հատկությունների մասին հիմք ընդունելով ժողովրդական ավանդույթները: Օգտվելով գետնատանձի վերաբերյալ վերջին 20 տարիներին մեր կողմից կատարած ազգագրա-բուսաբանական (этно-ботанической) և կենսաքիմիական հետազոտություններից, մենք նպատակ ենք դրել որոշելու կենսաբանական ակտիվ նյութերի տեսակաշարը, որոնց

կենսագործունեության հետ կապված են վերոհիշյալ կուլտուրայի բուժիչ ունակությունները:

Նյութ և մեթոդ: Ազգագրա-բուսաբանական ուսումնասիրությունները կատարվել են Լոռու-Փամբակի, Սևանի ավազանի և մասամբ Երևանի բնակչության կողմից օգտագործվող սննդամթերքների տեսակաշարին ծանոթանալու միջոցով: Միաժամանակ կենսաքիմիական անալիզների են ենթարկվել Երևանի և Մարտունիի տարածքներում մեր կողմից փորձարկվող գետնատանձի նորագույն սորտերի ու հիբրիդների 13 տեսակներից (տեղական պոպուլյացիա, Կիկյան սպիտակ, Վաղմ, Նախոդկա, Ինտերես, Ինտերես-21, Գետնաբլածաղիկ-15, Նովոստ ՎԻՐԱ, Գ-71-39, Ցելեննի-87, Գետնաբլածաղիկ մանուշակագույն, Խարկովի ԱԳԻ-80, Խարկովյան խոշորապալար) շուրջ 50 փորձանմուշներ, գոյություն ունեցող ժամանակակից մեթոդներով [4, 7, 8, 10, 12]: Հատուկ նշան է արժանի այն փաստը, որ 500 տարուց ավելի է ինչ Կոլումբոսի կողմից հայտնաբերվել է Ամերիկայի մայրցամաքը: Սակայն գրականության մեջ [9, 11] իշխում է այն սխալ կարծիքը, որ իբրև հնդկացիները եղել են Ամերիկայի բնիկներ և նրանք են առաջին անգամ գետնատանձի օգտագործել որպես սնունդ ու բուժամյութ:

Հիմնվելով ժամանակակից երկրաբանների ու հնաբանների գիտականորեն հիմնավորված փաստերի վրա, Կոսիդովսկին [3] ժխտում է հիշյալ տեսակետը: Նա գտնում է, որ հնդկացի ցեղերը ժամանակի ընթացքում զաղթել են արևելքից և բնակություն հաստատել Ամերիկյան մայրցամաքում, հետևապես նրանք Ամերիկայի բնիկներ չեն: Ամենայն հավանականությամբ գետնատանձի վայրի ձևերի պալարները առաջին անգամ որպես սնունդ ու բուժամյութ կարող էին օգտագործվել մեր թվարկությունից դեռ 10.000 տարի առաջ՝ Ամերիկայի մայրցամաքի ամենահնագույն բնիկների կուլիտների, ինկերի, ացտեկների ու մայաների կողմից, որոնք, դեռ այն ժամանակ, ունեցել են զարգացած կուլտուրա, գիր ու գրականություն: Հենց այդ ցեղերի մշակույթն էլ պետք է, որ լինի աշխարհի ամենահին մշակույթը, շատ ավելի հին, քան Միջագետքի ու Եգիպտոսի մշակույթները [3]:

Արդյունքներ և քննարկում: Մեր հետազոտությունները ցույց են տվել, որ գետնատանձի բոլոր սորտերն ու հիբրիդները պարունակում են մեծ քանակությամբ ինուլին, պտղաշաքար - ֆրուկտոզա, ապա վիտամիններ՝ կարոտին, B₁, B₂, C, PP, խոլին ու միկրո և մակրոէլեմենտներ՝ Na, K, Ca, Mg, Fe, P, S, J, Zn, Mn, Mo, Cu, Ni, Br, Se, B և մարդու օրգանիզմի համար անհրաժեշտ ամինաթթուներ (լիզին, հիստիդին, արգինին, տրեոնին, թիրոզին, վալին, ֆենիլալանին, լեիցինին, տրիպտոֆան, մեթիոնին): Թվարկված տվյալները հաստատում են գետնատանձի ունեցած սննդային ու բուժիչ հատկությունների առկայությունը:

Գետնատանձի բուժիչ հատկության մասին առաջին հիմնավոր սննդային ու կլինիկական հետազոտությունները կատարվել են Կիկի Սննդա-տեխնոլոգիայի և էնդոկրինոլոգիայի գիտահետազոտական ինստիտուտների կողմից [6], որոնք առաջարկել են շաքարախտ հիվանդության բուժման համար գետնատանձի բազայի վրա ստեղծելու բուժիչ պրեպարատների արտադրություն, որն առ այսօր չի իրագործվել:

Մեր կողմից ստացված գետնատանձի պարունակության մեջ եղած կենսաբանական ակտիվ նյութերը (վիտամիններ, մակրո, միկրոէլեմենտներ, պեկտին, ամինաթթուներ, ինուլին, պտղաշաքար և այլն) հենց այն բուժահիմքերն են, որոնցից պատրաստած պրեպարատները կարող են լայն կերպով օգտագործվել բուսաբուժության մեջ, այս կամ այն հիվանդության բուժման նպատակով:

Անհրաժեշտ է հատուկ նշել գետնատանձի ունեցած պրակտիկ կիրառման մասին:

Աղյուսակ 1. Գետնատանձից պատրաստվող դիետիկ ճաշատեսակների խմբավորումը ըստ նրանց բաղադրիչների, որոնք օգտագործվում են հայերի կողմից

ճաշատեսակների անվանումը	ճաշատեսակների բաղադրիչների քանակական հարաբերությունը
Սալաթ ամռան	Գետնատանձի թարմ տերևներ 150գ, գազար 60գ, վարունգ 80գ, մանր կտրատել, ավելացնել աղ, բուսական յուղ 4 ճաշի գդալ ու բոլորը խառնել իրար հետ:
Սալաթ աշնան	Գետնատանձի մատղաշ տերևներ 160գ, խնձոր 60գ, սոխ 25գ, թթու կաղամբ 120գ, համեմ կամ սամիթ 50գ, աղ և բուսական յուղ 4 ճաշի գդալ: Ամբողջը խառնել միմյանց:
Սալաթ կանաչ	Գետնատանձի մատղաշ տերևներ 180գ, պալարներ 140գ, քերիչով քերել, ավելացնել 3 հատ եփած ձու, շերտ-շերտ կտրտած, 4 ճաշի գդալ մայրենց, աղ ըստ ցանկության և խառնել միմյանց:
Խառնախորտիկ բանջարային	Գետնատանձի եփած, մաքրած պալարներ 80 գ, կարմիր ճակնդեղ 30գ, գազար 40գ, թթու վարունգ 40գ, թթու կաղամբ 50գ, կանաչ սոխ 60գ: Այս բոլորը մանր կտրատել, դասավորել շերտ-շերտ, ենթարկել ջերմային մշակման, ավելացնել աղ և 3 ճաշի գդալ բուսական յուղ:
Գետնատանձ տապակած	Վերցնել գետնատանձի թարմ պալարներ 600գ, կտրատել բարակ շերտերով, ենթարկել ջերմային մշակման եռացրած ջրով (30-60°) և տապակել 5-6 ճաշի գդալ բուսական յուղում:
Գետնատանձ եփած	500գ գետնատանձի պալարները լվանալ, եփել, կեղևը մաքրել, ավելացնել 150գ քերած գազար, 60գ սոխ, 100գ թթվասեր, 60գ կարագ, աղ և բոլորը խառնել միմյանց:
Գետնատանձ խորոված	Գետնատանձի համեմատաբար խոշոր 10-12 պալարներ լվանալ հոսող ջրի տակ, առանձին-առանձին փաթաթել ֆոլգայով, շարել երկաթյա ծողերի վրա, պահել կրակի վրա մինչև եփվելը: Մատուցել կարագով:
Գետնատանձ թթու դրած	1 կգ գետնատանձի թարմ պալարները լվանալ հոսող ջրի տակ, կտրատել, շերտերով դասավորել 2 կամ 3 լիտրանոց ապակյա բանկաների մեջ: Շերտերի արանքներում դասավորել մանրացրած սխտոր, համեմ, քարավուզ, դափնու տերև ու վրան լցնել աղաջուր (մեկ լիտր ջրին, եռացրած հովաքրած, 2 ճաշի գդալ) մինչև լրիվ ծածկվելը: Այն 2 օր պահել տաք սենյակում, հետո տեղափոխել համեմատաբար սառը տեղ, որը պատրաստ կլինի 2 շաբաթից:
Գետնատանձ չորացրած	1 կգ գետնատանձի պալարները լվանալ հոսող ջրի տակ, կտրտել 3-4մմ հաստությամբ շերտերով և չորացնել 60-75° ջերմաստիճանում: Այն պատրաստ է, երբ փշրվում է հեշտությամբ և նման է պաքսիմատների: Օգտագործել կաթի, թեյի, սուրճի հետ:
Գետնատանձ տապակած, կաթով, ձվով, յուղով	300գ. գետնատանձի պալարները լվանալ, եփել, մաքրել, կտրտել շերտերով, տապակել: Ավելացնել եփած սոխ 30գ., ձու 3 հատ, կաթ 0.5 բաժակ, յուղ 3 ճաշի գդալ: Բոլորը միասին եփել թույլ կրակի վրա: Մատուցել կանաչ կտրտած համեմունքով:
Գետնատանձի թխվածք	Էմալպատ ամանում լցնել կես բաժակ մածուց, ավելացնել ջրում բացված թխսոր 25գ, ցորենի ալյուր 200գ, խառնել, դարձնել համասեռ և այն բոլորն էլ 3 մաս: Ավելացնել 200 գ գետնատանձի հում, քերած պալարներ, աղ, խառնել և բոլորը միասին լցնել յուղած ամանի մեջ ու թխել: Եփել 220-240° ջերմաստիճանում 30 րոպե:

Վերջին տասնամյակում գետնատանձի թարմ կանաչ տերևներից ու պալարներից չինացիները, ճապոնացիները, կորեացիները պատրաստում են 100 տեսակից ավելի դիետիկ ճաշատեսակներ, ռուսները՝ շուրջ 40 [11], իսկ հայերը մոտ 11 [1, 2]:

Վերջինիս վերաբերյալ համապատասխան տվյալները բերվում են աղյուսակում:

Աղյուսակում բերված տվյալները համարվում են որպես լավագույն դիետիկ

կերակրատեսակներ, որոնք ունեն մարդկանց կենսունակությունը բարձրացնելու և արագ կազդուրելու հատկություն:

Գետնատանձը դարերի վեր օգտագործվում է ժողովրդական բժշկության մեջ [2, 5, 11]:

1. Որպես պրոֆիլակտիկ միջոց՝ ինֆարկտի և ինսուլտի դեմ: Այս դեպքում խորհուրդ է տրվում օգտագործել գետնատանձի թարմ պալարները՝ առանց աղի և որևէ խառնուրդի: Ընդունել 50-ական գրամ, ուտելուց կես ժամ առաջ, օրը 3 անգամ: Բուժման կուրսի տևողությունը 30 օր է: Ընդմիջում 10 օր, որից հետո կարելի է այն կրկնել:

2. Արյան ճնշումը իջեցնելու համար գետնատանձի թարմ կամ չոր պալարներից պատրաստել կոմպոտ առանց շաքարի: 1 լիտր ջրի համար վերցնել 3 խոշոր, թարմ պալարներ կամ 3 ճաշի գդալ՝ մանրացրած օղաչոր պալարներ: Թարմ պալարները 1 լիտր ջրում եռացնել 10-15 րոպե, չորը՝ 1 ժամ: Ընդունել օրական 3-4 անգամ տաք կամ սառը վիճակում:

3. Ճարպակալվածություն հիվանդության ժամանակ հավաքել գետնատանձի թարմ, երիտասարդ ցողուններ ու տերևներ, մանր կտրատել, վրան ավելացնել բուսական յուղ և օգտագործել որպես սալաթ: Նույն նպատակի համար օգտագործել գետնատանձի չոր տերևներ ու ցողուններ (ծաղկման փուլում հավաքած) 30 գ 1 լիտր ջրում 70° թողնել 40 րոպե, որից հետո քամել ու խմել որպես թեյ մեկ օրվա ընթացքում: Բուժման տևողությունը 30 օր է, որից հետո ընդմիջում 10 օր: Անհրաժեշտության դեպքում կարելի է կրկնել:

4. Սակավարյունության, երիկամների ու լեղապարկի քարերի, գլխացավի և այրոցի դեպքում օգտագործել գետնատանձի պալարների հյուրը ամեն առավոտ 2 ճաշի գդալ, նույն քանակության ջրի հետ միասին:

5. Շաքարախտի և բազմահոդաբորբ (պոլիարտրիտ) հիվանդությունների ժամանակ ընդունել թարմ պալարահյութ 0,5 բաժակ, օրական 3 անգամ, իսկ ցավող հոդերի վրա դնել պալարահյութի թրջոցներ:

6. Աղերի կուտակման ժամանակ վերցնել գետնատանձի թարմ պալարներից 1 կգ, մանրացնել 3-5 սմ մեծությամբ, լցնել 5-8 լիտր ջրում, եռացնել 25 րոպե, քամել և ավելացնել տաք ջուր 1 : 7 հարաբերությամբ ու պառկել պատրաստած բուսաջրում 10-15 րոպե: Նույն ձևով կարելի է վարվել վերցնելով գետնատանձի թարմ տերևներից և ցողուններից 2 կգ: Ամեն վաննայից հետո անհրաժեշտ է անկողնային հանգիստ 1-2 ժամ: Տաք վաննաներ կարելի է ընդունել բժշկի խորհրդով ամեն օր կամ ընդմիջումներով: Յուրաքանչյուր 20 վաննա ընդունելուց հետո անհրաժեշտ է 15 օր ընդմիջում: Բոլոր դեպքերում գետնատանձի բուսաթուրը, եփուկը, լուծանգվածքը ու վաննաներն անվնաս են:

Այսպիսով, գետնատանձի զանգվածային տարածվածությունը Հայաստանում հեշտացնում է նրա անվարձահատույց օգտագործումը՝ թվարկած դիետիկ սննդի ու հիշյալ հիվանդությունների բուժման համար: Անհրաժեշտ է հաշվի առնել ժողովրդի բազմադարյան փորձը և կանաչ ճանապարհի հարթել նրա համընդհանուր օգտագործման համար:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Ապրիկյան Ս.Վ., Ապրիկյան Վ.Ս., Սուրատովա Տ., Խոջոյան Ա.Կ. Գյուղատնտ. զիտ. տեղեկագիր, 4-6, 195-203, Երևան, 1993:
2. Ապրիկյան Ս.Վ., Հակոբյան Ս.Հ. Ագրոգիտություն, 4, 343-349, 1999:
3. Կոսիդովսկի Ջ. Երբ արևը աստված էր, «Արևիկ» հրատ., 316-325, Երևան, 1987:
4. Биохимия и физиология витаминов. Методы определения витаминов. Сборник, 4-5, М-Л, 1962, 1963.
5. Витамины защищают сердце. АиФ - Здоровье, 11(19), 12, М., 1993.
6. Киянский Д. Журн. Здоровье, 9, 16, М., 1988.
7. Методы биохимических исследований под общей ред. проф. Зубрилина А.А., Дубровцы, 54-57, 1973.
8. Методическое руководство по определению витаминов. Под ред. Лаврова Б.А., Медгиз, 15-120, М., 1960.
9. Пасько Н.М. Автореф. докт. дисс. 3-6, 14-18, Л., 1989.
10. Петров К.П. Практикум по биохимии пищевого растительного сырья. Изд-во Пищ. промыш., 130-200, М., 1965.
11. Сидоров П. АиФ - Здоровье, 12-14, 1993.
12. Трусков В.И. Биохимия, 15, 6, 459, 1950.

Ստացվել է 24.XII.1999

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЦИДИНА - "HONGO" НА ЯЙЦЕНОСКОСТЬ КУР-НЕСУШЕК КРОССА "ЗАРЯ-17" В ПЕРИОД ЕЕ СПАДА

В.Б. ГОГИНЯН

*Армянская сельскохозяйственная академия,
кафедра микробиологии и вирусологии, 375009, Ереван*

Установлено, что бактерицидин - "Hongo" (культуральная жидкость чайного гриба) в суточной дозе 6 мл/гол повышает яйценоскость кур-несушек кросса "Заря-17" в период ее спада и стимулирует неспецифическую резистентность их организма как в период дачи препарата (5 дней), так и после его отмены. Положительный эффект препарата длится 95 дней, достигая максимума на 55-е сутки. Следовательно, бактерицидин в данной дозе может быть использован для повышения яйценоскости кур-несушек в период ее спада и стимулирования неспецифического иммунитета птицы с периодичностью в 2-2,5 месяца.

Որոշվել է, որ բակտերիցինը - "Hongo" (թեյի սնկի կուլտուրալ հեղուկ) անկ զխի համար 6 մլ օրական դոզայով բարձրացնում է "Զարյա-17" կրոսի հավերի ծվատվությունը նրա անկման ժամանակահատվածում և խթանում է նրանց օրգանիզմի ոչ սպեցիֆիկ դիմադրողականությունը, ինչպես պրեպարատի տրման (5 օր), այնպես էլ նրա դադարեցման ժամանակ: Պրեպարատի դրական էֆեկտը տևում է 95 օր, հասնելով ամենաբարձր ցուցանիշին 55-րդ օրը: Հետևաբար, բակտերիցինը տրված դոզայով կարող է օգտագործվել 2-2,5 ամիս պարբերականությամբ հավերի ծվատվության բարձրացման և թռչունների ոչ սպեցիֆիկ իմունիտետի խթանման համար:

The bactericidin - "Hongo" (the cultural liquid of the tea fungus) in daily 6 ml/head doses improves egg-laying qualities of laying hens of the "Zarya-17" cross during the falling down period and stimulates the non-specific resistance of their organisms, both during the period of giving the preparation (5 days) and after its stopping. The positive effect of the preparation lasts 95 days, with the maximum index on the 55th day. Thus, bactericidin can be used for improving of egg-laying qualities of laying hens during the falling down period, and for stimulating the non-specific immunity in the poultry, with the 2-2,5 month periodicity.

*Чайный гриб - бактерицидин - "Hongo" - яйценоскость -
иммунологическая резистентность кур*

На яйценоскость кур оказывает влияние ряд факторов: вид, порода, кросс, линька, индивидуальные особенности, кормление, содержание и др. В условиях интенсивной эксплуатации несушек на промышленных комплексах особое значение приобретает возрастной фактор птицы. Не секрет, что к концу срока эксплуатации у птицы исчерпываются физиологические ресурсы организма, что приводит к заметному снижению яйцекладки и сказывается на эффективности ведения данной отрасли сельского хозяйства [8]. По данным Бессарабова и Петрова [1], одним из способов повышения яйценоскости кур является применение биостимулирующих препаратов. Как отмечает Мозгов [6], их употребление наиболее эффективно в начале яйцекладки (1-3 месяца) и менее - в конце (6-8 месяцев). Годзецкий и Флинн отмечают [7], что под действием биостимуляторов могут изменяться многие реактивные системы организма.

Проблему повышения продуктивности одновременно со стимуляцией факторов неспецифической резистентности в период спада яйценоскости кур мы пытались разрешить, применяя бактерицидин - напиток "Hongo". По данным Даниелян [2, 3], этот препарат обладает разносторонними медико-биологическими свойствами, в том числе, антибиотическим и стимулирующим физиологические функции организма.

В настоящей работе перед нами ставились следующие цели и задачи: установить стимуляцию бактерицидином яйценоскости кур-несушек яичных пород в период ее спада; провести повторное стимулирование яйцекладки по окончании действия первоначального эффекта препарата; установить влияние препарата на массу и неспецифические защитные механизмы (иммунологический статус) птицы.

Материалы и методы. Исследования проводили на базе птицеводческой фермы ООО "Элиган-96", где изучали влияние препарата на 40 курах-несушках двухлетнего возраста кросса "Заря 17", разделенных на две группы, опытную и контрольную, по 20 голов в каждой.

Бактерицидин, полученный на основе культуральной жидкости чайного гриба и названный напитком "Hongo", с биологической активностью 16 единиц разведения в отношении *E. coli* (штамм ИНИИА В-5002), задавали курам опытной группы, увлажняя им комбикорм, в течение 5 дней с 26 по 30 апреля, однократно, в дозе 6 мл/гол. Наблюдения проводили на протяжении 95 дней, поэтапно: период до дачи препарата; период дачи препарата; период после дачи препарата. Ежедневно учитывали количество снесенных курами яиц. Одновременно определяли титр естественных антител в сыворотке крови исследуемой птицы до, на 5-й день дачи препарата и после его отмены на 10, 20, 25, 35, 45, 55, 65, 75 дни наблюдений пробирочным методом Райта [4, 5]. Кровь получали в асептических условиях из подкрыловой вены *v. cutanea ulnaris*. В качестве антигена использовали 1 млрд. микробную взвесь кишечной палочки *E. coli* (штамм ИНИИА В-5002).

Подекадно проводили контрольные взвешивания изучаемого поголовья кур. Птицы опытной и контрольной групп находились в одинаковых условиях кормления и содержания, полностью на глубокой соломенной подстилке, при режиме светового дня - 16 ч, температуре воздуха 18-22°.

Результаты опытов статистически обработаны по методу Ойвина [7].

Результаты и обсуждение. Представляем сравнительные данные среднесуточной яйценоскости кур-несушек опытной и контрольной групп до, в период и после применения бактерицидина.

Из табл. 1 видно, что до применения препарата в обеих группах яйценоскость была одинаковой - по $8,3 \pm 0,28$ яиц в сутки, что составляет по 41,5 % несущихся кур.

В период дачи препарата, на 5-й день, в опытной группе отмечалось повышение яйценоскости несушек, которая составила $10 \pm 0,37$ яиц в сутки, т.е. процент несущихся кур составил 50,1, превышая контроль на 15,9.

На 10-й день после отмены препарата наблюдалось небольшое снижение яйценоскости в опытной группе, однако с превышением контроля на 5,1 %.

Наблюдения в последующие дни после отмены дачи препарата показали, что в опытной группе продолжалось постепенное повышение среднесуточной яйценоскости, достигающее максимума на 55-й день, с превышением контроля на 59,3 %, а по сравнению с исходным до применения препарата - на 83,1 %, что составляет $15,3 \pm 0,26$ яиц в сутки, или 82 % несущихся кур опытной группы, т.е. увеличивается количество несушек.

Таблица 1. Яйценоскость кур-несушек кросса "Заря-17" под влиянием бактерицидина - "Hongo"

Дни наблюдений	Среднесуточное количество снесенных яиц, шт.		Превышает контроль, на %	Количество несушек, %	
	Опытная группа, $M \pm m$	Контрольная группа, $M \pm m$		Опытная группа	Контрольная группа
До применения	$8,3 \pm 0,28$	$8,3 \pm 0,28$	0	41,5	41,5
Период применения	$10,2 \pm 0,37$	$8,8 \pm 1,0$	15,9	51,0	44,0
После применения					
10	$10,3 \pm 0,37$	$9,8 \pm 0,63$	5,1	51,5	49,0
20	$11,1 \pm 0,46$	$9,4 \pm 0,36$	18,0	55,5	47,0
25	$11,4 \pm 0,68$	$8,4 \pm 0,74$	35,0	57,0	42,0
35	$13,6 \pm 0,4$	$8,2 \pm 0,91$	65,5	68,0	41,0
45	$15,2 \pm 0,4$	$9,8 \pm 0,48$	55,0	76,0	49,0
55	$15,3 \pm 0,26$	$9,6 \pm 0,49$	59,3	76,5	48,0
65	$13,8 \pm 0,41$	$9,6 \pm 0,5$	43,7	69,0	48,0
75	$12,1 \pm 0,43$	$10,0 \pm 0,51$	21,0	60,5	50,0
85	$11,1 \pm 0,38$	$9,4 \pm 0,52$	18,0	55,5	47,0
95	$10,1 \pm 0,43^*$	$10,0 \pm 0,51$	1,0	50,5	50,0

Примечание: $P < 0,05$, кроме значения, обозначенного знаком *.

Начиная с 65-го дня яйценоскость кур опытной группы медленно снижалась и сравнивалась с контрольной на 95-й день наблюдений.

Таким образом, среднесуточная яйценоскость несушек опытной группы возросла за исследуемый период после применения бактерицидина по сравнению с исходными показателями на 36,2 %, а в контрольной группе сохранилась примерно на том же уровне.

Показатели повторной дачи препарата вполне согласуются с данными первоначальной. Так в период дачи препарата яйценоскость опытной группы кур превышала контроль на 28 %, против 15,9% первого раза дачи препарата, а на 10-й день после отмены препарата - на 27,2%, против 5,1%. Сравнивая результаты исследований при повторной даче бактерицидина - "Hongo" с результатами первоначального применения за тот же период времени, мы установили, что повторная дача препарата через 60 дней после первой не оказывает подавляющего действия на яйценоскость, а наоборот, повышает ее.

Исследования показали, что наряду с повышением яйценоскости применение бактерицидина положительно влияет на напряженность гуморального иммунитета, что выражается в выработке естественных антител в сыворотке крови птицы. Об этом свидетельствует сравнительная характеристика титра естественных антител опытной и контрольной групп птицы до применения, в период и после применения бактерицидина.

Согласно табл. 2, до применения бактерицидина титр естественных антител в сыворотке крови у обеих групп кур составлял 1:32, однако уже на 5-й день дачи препарата отмечался интенсивный синтез антител, достигающих максимального титра - 1:128. Этот уровень продолжал сохраняться до 25-го дня после дачи препарата, затем постепенно снижался, а к 75 - выравнивался

с показателями контрольной группы кур, где титр антител на протяжении всех наблюдений оставался на уровне - 1:32.

Таблица 2. Сравнительная характеристика титра естественных антител исследуемых групп птиц под влиянием бактерицидина - "Hongo"

Исследуемые группы кур	Титр антител сыворотки крови, в разведениях									
	До дачи	Период дачи	После дачи препарата, дни							
			10	20	25	35	45	55	65	75
Опытная	1:32	1:128	1:128	1:128	1:128	1:96	1:64	1:64	1:48	1:32
Контрольная	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32

Таким образом, иммунологический статус кур опытной группы оставался на высоком уровне более 60 дней, что в целом указывает на стимулирующее действие данного препарата.

В период исследований мы проводили подекадно взвешивания птиц с целью определения влияния бактерицидина на массу кур. Установлено, что препарат практически не влияет на массу птицы как в период, так и после его применения. Колебания массы тела птицы в сравниваемых группах незначительны - $1816 \pm 17,2$ - $1862 \pm 12,46$ г, т. е. препарат не способствовал ожирению птицы и сохранял ее исходную упитанность.

Таким образом, нами установлено, что бактерицидин с биологической активностью 16 единиц разведения в указанных выше дозах с периодичностью применения 2-2,5 месяца способствует стимуляции не только яйценоскости птицы, но и повышает ее иммунологический статус, что свидетельствует о взаимосвязи яйценоскости со степенью естественной резистентности организма кур-несушек.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бессарабов Б.Ф., Петров Е.Б., Мельникова И.И. Мат-лы Всесоюз. научн. конф. "Актуальные проблемы ветеринарной и зоотехнической науки в интенсификации животноводства", с. 264, М., 1981.
2. Даниелян Л.Т. Мат-лы Межд. научн. конф. "Аграрная наука и пути развития в 21 в.", Ереван, 5-7 ноября, с. 355, 1988.
3. Даниелян Л.Т. "Чайный гриб", Ереван, "Айастан", 1993.
4. Костенко Т.С., Скаршевская Е.И., Гительсон С.С. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии., с. 105, М., "Агропромиздат", 1989.
5. Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А., Привольнев Т.И. Гематология животных и птиц., с. 5, М., "Колос", 1969.
6. Мозгов И.Е. Антибиотики в ветеринарии., с.21, М., "Колос", 1971.
7. Ойвин И.А. Журн. патол. физиология и эксперим. перапия, 4, 76-78, 1960.
8. Соколов В.Д. Антимикробные средства в птицеводстве., с. 74, М., "Колос", 1984.
9. Юхно А. Науч. тр. ВАСХНИЛ, 147-178, 1976.

Поступила 24.X.2001

Биолог. журн. Армении, 1-2 (54), 2002

УДК 617:616-073.1

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ У АРМЯН

А.С. АЙРАПЕТЯН

Центр медицинской генетики НАН РА, 375019, Ереван

Периодическая болезнь - мутации гена MEFV - фенотип - генотип

Генетический скрининг популяций для определения частоты встречаемости рецессивных мутаций является важным профилактическим мероприятием по предупреждению рождения больных детей. С этой точки зрения важное значение имеет выявление некоторых редких рецессивных мутаций, распространенных среди армян. В частности, к таким заболеваниям относится аутосомно-рецессивно наследуемая периодическая болезнь (ПБ), или семейная средиземноморская лихорадка [16, 19]. ПБ чаще всего встречается в популяциях армян, турок, евреев-сефардов и арабов. Одним из наиболее тяжелых осложнений при этой болезни является системный амилоидоз [1, 2, 5].

Ген MEFV, ответственный за развитие ПБ, локализован и картирован на коротком плече 16-й хромосомы и содержит 10 экзонов, охватывающих около 14 кб геномной ДНК. Продуктом гена MEFV является белок – пирин или маренострин, состоящий из 781 аминокислоты. Идентифицировано более двух десятков мутаций и полиморфизмов в экзонах гена MEFV, многие из которых вызывают развитие ПБ. К ним относятся в основном миссенс мутации, приводящие к замене одной аминокислоты на другую [10, 11, 13, 15].

Материал и методика. Скрининг мутаций разных экзонов гена MEFV проведен на геномной ДНК, выделенной из периферической крови больных с подозрением на ПБ, проживающих на территории Армении. Кровь брали из локтевой вены в специальные пробирки с EDTA для предотвращения свертывания крови или деградации ДНК. Параллельно проводили клинико-генеалогический анализ с составлением родословных и последующим молекулярно-генетическим анализом в семьях больных. Для каждого больного заполняли специально разработанную анкету с учетом установленных диагностических критериев [17]. Геномную ДНК выделяли из периферической крови. Для диагностики наследственного заболевания или выявления носителей рецессивных мутаций в гетерозиготном состоянии фрагмент ДНК, содержащий ген MEFV, амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции. Идентификацию генных мутаций, т.е. обнаружение нарушений в первичной нуклеотидной последовательности в образцах ДНК исследуемых больных, проводили с помощью ферментативного рестрикционного анализа.

в этом случае возможна прямая детекция мутаций гена MEFV. Полученные продукты рестрикции определяли методом электрофореза в 2%-ном агарозном геле.

Результаты и обсуждение. Нами представлено молекулярно-генетическое обследование 1500 больных ПБ и членов их семей, а также 650 здоровых лиц, у которых определены частоты распространения мутаций гена MEFV в армянской популяции. Изучение корреляций между генотипом и фенотипом при ПБ позволило заключить, что разграничение клинических форм заболевания по тяжести и прогнозу наиболее точно может быть обеспечено клинико-генеалогическим и молекулярно-генетическим критериями. Полученные результаты по распределению спектра мутаций гена MEFV подтвердили установленные нами ранее закономерности [2, 3, 11]. В армянской популяции наиболее часто встречаются три мутации: M694V (51,95%), V726A (21,82%), M680I (17,92%). Более редкими являются: R761H (2,71%), E148Q (1,92%), F479L (1,19%), M694I (0,45%), R408Q (0,06%) и некоторые другие [4]. Исходя из полученных результатов по частотам указанных трех мутаций экзона 10, обладающих наибольшей пенетрантностью (M694V, M680I, V726A), можно предположить, что теоретически частота больных среди армян может достигнуть 1:25, что было определено совместно с Национальным Институтом Здоровья США [4, 5]. Согласно полученным данным, генотип MEFV каждого больного в основном представлен двумя мутациями, унаследованными от одного или обоих родителей. Общее число больных ПБ с двумя мутациями (гомозиготы и компаунд-гетерозиготы) составило 696 (1388 независимых аллелей). Из них гомозиготными по мутации M694V оказались 24,57%. Частоты компаунд-гетерозиготных генотипов составили: M694V/V726A - 23,71%; M694V/M680I - 16,24%. При сравнении данных генетического анализа с клиническими проявлениями нами установлена роль мутантного гена в полиморфизме клинического фенотипа и проведено сравнение клинических признаков в подгруппах больных с целью выявления их корреляции с генотипом MEFV. При сопоставлении данных по некоторым наиболее характерным симптомам заболевания были выявлены следующие достоверные различия. У больных с генотипом M680I/M680I повышение температуры наблюдается в 2 раза чаще по сравнению с другими генотипами. У больных с гетерозиготным генотипом V726A/M680I реже наблюдается абдоминалгия по сравнению с другими группами пациентов. Кожные высыпания встречаются чаще у гомозигот M694V/M694V. Спленомегалия чаще встречается у гомозигот M694V/M694V.

Согласно полученным результатам, у 64,6% больных ПБ с амилоидозом почек наблюдается высокая частота аллели M694V. Среди них обнаружен наиболее характерный гомозиготный генотип по мутации M694V (22,2%, $P < 0.01$). У гомозигот по мутации M694V чаще наблюдается артрит (56,3%, $P < 0,01$) в сравнении с больными с другим генотипом [2, 3]. Это различие является достоверным при сравнении гомозигот по M694V с компаунд-гетерозиготами по наиболее часто встречающимся мутациям среди армян, к которым относятся компаунд-гетерозиготы M694V/V726A и M694V/M680I ($P < 0,01$).

Представленное исследование свидетельствует о целесообразности

проведения молекулярно-генетического анализа для подтверждения диагноза ПБ и ранней диагностики заболевания. Впервые предлагается способ прогнозирования тяжелейшего осложнения ПБ, к которому относится амилоидоз почек.

Таким образом, на примере ПБ демонстрируется возможность молекулярной диагностики моногенных наследственных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bernot A., Silva C. da , Dode C., Touitou I. et al. Hum. Mol. Genet, 7, 1317-1325, 1998.
2. Cazeneuve C., Sarkisian T., Ajrapetyan H., Amselem S. et al. Am. J. Hum. Genet., 65:88-97, 1999.
3. Cazeneuve C., Sarkisian T., Ajrapetyan H., Babloyan A., Sarkisian A., Papazian M., Amselem S. et al. Am. J. Hum. Genet., 67, 1136-1143, 2000.
4. Centola M., Wood G., Frucht D.M., Kastner D. Blood, 95, 10,3223-3231, 2000.
5. Chae J.J., Centola M., Aksentijevich I., Kastner D. et al. Mammalian Genome, 11, 428-435, 2000.
6. The French FMF Consortium, Nat. Genet, 17, 25-31, 1997.
7. Gasperini S., Marchi M., Calzetti F. et al. J.Immunol.,162, 4928,1999.
8. The International FMF Consortium, Cell, 90,797-807, 1997.
9. Kastner D.L. Molecular Genetics in Clinical Practice, XIII, 1-14, 1999.
10. Livneh A., Langevitz P., Zemer D. et al. In: 2nd Conference of FMF, Antalia, 185-186, 2000.
11. Torosyan Y., Aksentijevich I., Sarkisian T., Ajrapetyan H., Amaryan G., Astvatsatryan V., Kastner D. Am. J. Hum. Genet, 67, 4-2265, 2000.

Поступила 12.X.2001

ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТА ДУБРОВНИКА (*TEUCRIUM HYRCANICUM*) НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Ж.М. БУНАТЯН

*Институт тонкой органической химии им. А.Л.Миджояна НАН Армении,
375037, Ереван*

Кровь – свертываемость – гиперкоагуляция

Актуальность изыскания новых эффективных лекарственных препаратов, недостаток которых остро ощущается в клинике, совершенно очевидна. В этом плане изучение и разработка природных соединений растительного происхождения позволит получить новые эффективные средства, которые обладают малой токсичностью и дают возможность длительного применения. Кроме того, они имеют широкий диапазон фармакотерапевтического действия и могут служить для получения препаратов, используемых при профилактике и лечении различных заболеваний. Если учесть, что природные соединения обычно не вызывают аллергии, то их растущая популярность вполне объяснима [3].

Ранее нами было установлено, что экстракт дубровника при однократном и длительном введении ускоряет процесс свертывания крови у подопытных животных [2].

Целью настоящего исследования было изучение влияния экстракта дубровника на некоторые показатели свертывания крови у интактных животных и в условиях экспериментальной гипокоагуляции.

Материал и методика. Эксперименты проводили на беспородных половозрелых крысах обоего пола, разделенных на три группы (по 12 в каждой). В первую опытную группу вошли интактные животные, которым внутривенно вводили экстракт дубровника в дозе 50 мг /кг. Во вторую группу вошли животные, которым дубровник вводили на фоне экспериментальной гипокоагуляции, вызываемой введением гепарина (100 ед/мл). Третью группу составили контрольные животные, получавшие физиологический раствор хлористого натрия в том же объеме. Пробы крови брали из яремной вены через 30, 60 мин после введения дубровника.

Для биохимического анализа кровь стабилизировали раствором цитрата натрия 9:1, центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин для получения плазмы, в которой затем определяли следующие показатели свертывания крови: время рекальцификации [5], тромбопластическую активность [1], протромбиновое время [6].

Для проведения тромбоэластографического анализа и количественной характеристики свертывания крови проводили запись кривой с вычислением параметров тромбоэластограммы: R - константа (измеряется от начала записи до расширения кривой на 2 мм); K - константа (измеряется от конца R до расширения кривой на 20 мм); T - общее время свертывания (длина всей кривой); Ма - максимальная амплитуда (показатель выпадения фибрина).

Для сравнительных исследований использовали известный экстракт лагохилуса, полученный из растения лагохилус опьяняющий (*Lagochilus inebrians*). Статистическую обработку полученных данных проводили общепринятым методом Стьюдента-Фишера.

Результаты и обсуждение. При изучении влияния экстракта дубровника на показатели свертывания крови крыс выявлены изменения следующих биохимических показателей: укорочение времени рекальцификации, протромбинового времени и повышение тромбопластической активности (табл.1).

Таблица 1. Влияние экстракта дубровника в дозе 50 мг/кг на изменение показателей свертываемости крови крыс

Условие опыта	Время рекальцификации, с	Тромбопластическая активность, %	Протромбиновое время, с
Контроль	42±2.1	90±2.8	20±0,4
Экстракт дубровника (30 мин)	32±3.6 p<0.05	117±7.8 p<0.01	18±0.9
Экстракт дубровника (60 мин)	28±1.6 p<0.001	123±3.1 p<0.001	17±0.4 p<0.01
Гепарин	110±2.6 p<0.001	182±3.7 p<0.001	41±2.2 p<0.001
Гепарин + экстракт дубровника (30 мин)	64±1.3 p<0.001	111± 2.5 p<0.001	30±1.0 p<0.01
Гепарин + экстракт дубровника (60 мин)	52±2.1 p<0.001	99±1.4 p<0.001	27±1.9 p<0.001

Как видно из данных таблицы, изменения отмечаются уже через 30 мин, но более выражены через 60 мин после введения экстракта дубровника. Время рекальцификации укорачивается в среднем на 23, 33%; тромбопластическая активность повышается на 30 и 36% соответственно, протромбиновое время уменьшается незначительно по сравнению с контролем. Отмеченные изменения достоверны и свидетельствуют о гиперкоагуляционных сдвигах в системе гемостаза.

Сходные, но более выраженные сдвиги в аналогичных показателях были получены у животных с экспериментальной гипокоагуляцией. Как свидетельствуют данные таблицы, внутривенное введение гепарина приводит к выраженной гипокоагуляции, в результате которой отмечаются замедление времени рекальцификации (в 2,5 раза), понижение тромбопластической активности и протромбинового времени (в 2 раза).

Установлено, что при внутривенном введении экстракта дубровника в дозе 50 мг/кг на фоне гепарина отмечается значительная нормализация указанных показателей, что приводит к уменьшению гипокоагуляционных сдвигов. По полученным данным, через 60 мин после введения дубровника время рекальцификации и протромбиновое время сокращаются на 52% и 34%, а тромбопластическая активность понижается на 45%. Указанные результаты свидетельствуют о способности дубровника уменьшать действие гепарина, т.е. проявлять антигепариновое действие и восстанавливать свертывающую способность крови. Введение меньших доз экстракта дубровника приводит к менее выраженным сдвигам показателей свертывания крови.

Исследование тромбоэластографических параметров гемокоагуляции экстракта дубровника проводили на гепаринизированных животных в

сравнении с параметрами экстракта лагохилуса, полученного из растения лагохилус опьяняющий, который является представителем того же семейства губоцветных (*Labiatae*). Сравнительное исследование показало идентичность их влияния на систему гемостаза (табл. 2). В обоих случаях установлено повышение коагуляционной способности крови. Однако следует отметить, что выраженность действия дубровника превосходит действие лагохилуса по всем изучаемым параметрам тромбоэластограммы: уменьшению константы образования сгустка (R), отражающей образование активного тромбопластина и тромбина, стабилизации последнего (K), общей константы свертывания (T) и увеличению максимальной амплитуды (Ma) - показателя выпадения фибрина. Изменение указанных параметров свидетельствует об активации коагуляционного звена гемостаза, что является результатом ускоренного образования тромбопластина и тромбина.

Таблица 2. Изменение параметров тромбоэластограммы

Условие опыта	R, см	K, см	T, см	Ma, см
Гепарин	3.0 ± 0.2	3.8 ± 0.1	21 ± 0.2	4.2 ± 2.6
Гепарин + экстракт дубровника (60 мин)	1.5 ± 0.1 $p < 0.001$	1.8 ± 0.6 $p < 0.01$	14 ± 0.7 $p < 0.001$	5.5 ± 3.8 $p < 0.05$
Гепарин + экстракт лагохилуса (60 мин)	2.0 ± 0.2 $p < 0.01$	2.3 ± 0.4 $p < 0.01$	16 ± 1.2 $p < 0.01$	5.0 ± 1.1 $p < 0.05$

Таким образом, полученные данные по изучению влияния экстракта дубровника (*Teucrium hircanicum*) на некоторые показатели свертывания крови свидетельствуют о прокоагулянтной активности изучаемого экстракта, что выражается в изменении биохимических и тромбоэластографических показателей как у интактных, так и гепаринизированных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балуда В.П., Баркаган З.С. и др. Лабораторные методы исследования системы гемостаза, Томск, 313, 1980.
2. Бунатян Ж.М., Степанян Н.О., Оганесян Г.Б., Мнацаканян В.А. АрмНИИНТИ, Деп. 11.09.95, N 108-Ар 95.
3. Рашн О.А., Пашинский В.Г. Растительные ресурсы, Санкт -Петербург, 1-2, 98, 1994.
4. Якунин Г.А. Современные методы анализа тромбодинаграммы, М., 1987.
5. Borgerhot H., Roka L. Ztschz Vitamin-Hormon u. Fermentforch, 6, 1954.
6. Quick A.J. Haemorrhagic Diseases and Trombosis, 2nd edition, Philadelphia, 1966.

Поступила 07.1.2002

СОСТОЯНИЕ ГЕМОСТАЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТРЕССЕ

В.К. МКРТЧЯН, Л.Г. ТАТЕВОСЯН

Армянская сельскохозяйственная академия, кафедра физиологии, патофизиологии и радиобиологии, 375009, Ереван

Стресс - гиперкоагуляция - гипогепаринемия - гемостаз - иммобилизация

Изучение состояния гемостаза при стрессе имеет важное общебиологическое и клиническое значение. Известно, что стресс-реакция сопровождается изменениями со стороны многих функциональных систем организма и реализуется на молекулярно-клеточном уровне. Установлена основная роль нейрогуморальных факторов в генезе стресса [1, 3, 4, 10, 11]. Так, показано, что при стрессе имеет место дегрануляция разной степени, разрушение тучных клеток и высвобождение гепарина, гистамина и других физиологически активных веществ, создаются благоприятные условия для реализации действия вазоактивных аминов, имеющих защитно-приспособительное значение. Из данных литературы известно, что при стрессах свертывающая и антисвертывающая системы крови подвергаются изменениям, однако сведения о состоянии отдельных звеньев этой сложной системы относительно скудны и противоречивы. В частности, неоднозначны данные по коагуляционным показателям и уровню гепарина при развитии стресс-реакции [2, 8, 9]. Эти изменения требуют уточнения и объяснения. В этой связи представляется важным изучение антикоагулянтной активности гепарина и некоторых показателей коагуляционных свойств крови при остром стрессе на разных стадиях его развития в зависимости от продолжительности действия стрессора.

Материал и методика. Эксперименты проводили на 15 половозрелых беспородных белых мышах и 10 беспородных крысах массой 25-30 г и 150-170 г соответственно и на 15 озерных лягушках. Животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания.

У белых мышей и крыс иммобилизационный стресс вызывали по общепринятой классической модели, одновременно сопровождающейся эмоциональным и физическим стрессом; у лягушек болевой стресс вызывали электротоком, накладывая электроды на передние, затем на задние лапки и вдоль туловища в условиях иммобилизации.

Состояние гемостаза у контрольных и подопытных животных изучали по методике Федоровой [5], включающей определение следующих показателей: содержание свободного гепарина в плазме крови по методу Сирмаи, времени свертывания крови по методу Ли Уайта и Милони параллельно, содержание фибриногена и тест-тромбин (активность тромбина, для чего к цитратной крови добавляли тромбин, создавая его избыток).

В условиях стресса эксперименты были поставлены в нескольких сериях. В первой и второй сериях мышей и крыс иммобилизовали в течение 1,5 и 2,5 ч, после чего после 1,5- и 2,5-часовой иммобилизации брали кровь для исследования. В третьей серии мышей и крыс иммобилизовали 2,5 ч, затем освобождали от иммобилизации и через 2,5 ч после обычных условий содержания вновь исследовали кровь. У лягушек кровь исследовали в норме и через 20 и 40 мин после нанесения боли.

Результаты и обсуждение. Установлено, что содержание гепарина, коагуляционные показатели крови у мышей, крыс и лягушек имеют видовую особенность как в норме, так и в зависимости от динамики воздействия стресс-фактора (табл. 1).

Иммобилизация мышей и крыс в течение первых полутора часов вызывала у животных сильное беспокойство, одышку, цианоз и стремление освободиться от фиксации, причем мыши оказались более чувствительными к иммобилизационному стрессу, чем крысы. Сразу после этого в показателях гемостаза определялись несколько противоречивые данные, выражающиеся у белых мышей в значительном удлинении времени свертывания крови и выраженном уменьшении содержания свободного гепарина на фоне практически неизмененного содержания фибриногена и активности тромбина плазмы крови. У крыс через 1,5 часа после иммобилизации коагуляционные свойства крови подверглись незначительным изменениям, в то время как содержание гепарина в плазме крови снизилось в 2 раза по сравнению с таковыми у контрольных животных. Отмечался также несколько измененный процесс фибринолиза.

Анализируя полученные данные, можно предположить, что в начальной стадии стресс-реакции (1,5 часа) нейрогуморальные механизмы, в том числе адренокортикотропный гормон (АКТГ), адреналин, гепарин и другие регулирующие факторы еще не окончательно стабилизировались для формирования и установления нового уровня регулирования функций организма, в том числе гемостаза, и находятся в процессе перестройки.

Таблица 1. Показатели гемостаза у лабораторных животных при экспериментальном стрессе (средние данные)

Показатели крови	Мыши, n=15				Крысы, n=10				Лягушки, n=15		
	Конт-роль	Иммобилизацион. стресс, ч			Конт-роль	Иммобилизацион. стресс, ч			Конт-роль	Болевой стресс, через мин	
		1,5	2,5	через 2,5ч		1,5	2,5	через 2,5ч		20	40
Гепарин, сек	10,0	-30,0	-13,0	6,0	5,0	2,5	2,0	4,0	3,0	-30,0	-20,0
Время свертывания крови	5,0 мин	8,0 мин	17,0 сек	35,0 сек	4,0 мин	3,5 мин	2,0 мин	2,5 мин	18,0 сек	10,0 сек	12,0 сек
Фибриноген, мг %	110,0	100,0	280,0	200,0	220,0	200,0	300,0	320,0	-	-	-
Активность тромбина, сек	40,0	50,0	7,0	9,0	9,0	10,0	6,0	5,8	-	-	-

Более длительная иммобилизация подопытных животных в течение 2,5 ч была преодолена относительно спокойнее, несмотря на продолжающиеся одышку и беспокойство. Сразу после 2,5-часового стресса показатели коагуляционной и антикоагуляционной системы отличались от таковых при 1,5-часовом стрессе. Так, у мышей коагуляция крови наступала быстро, в течение 17 сек., в то время как у крыс только через 2,0 мин после 2,5-часового стресса. При этом наблюдалось повышение количества фибриногена и

активности тромбина, по сравнению с контрольными показателями, при сохранении низкого уровня гепарина. Определено, что при 2,5-часовом стрессе в механизме гиперкоагуляции существенное значение имеет увеличение образования прокоагулянтов и угнетение антикоагулянтной системы крови. Отмечается гипогепаринемия.

В следующей серии экспериментов исследования гемостаза у белых мышей и крыс были проведены через 2,5 ч после освобождения животных от 2,5-часовой иммобилизации. В этих условиях гиперкоагуляция продолжалась с незначительными сдвигами в показателях прокоагулянтов, однако с значительным увеличением содержания гепарина в плазме крови по сравнению с таковыми при 1,5- и 2,5-часовом стрессах, приближаясь к уровню физиологических значений для мышей и крыс. Повышение уровня гепарина на фоне гиперкоагуляции через 2,5 ч после стресса рассматривается нами как защитно-приспособительная реакция организма, направленная на восстановление стабильности гемостатических свойств и повышение резистентности организма в экстремальных условиях. Аналогичные данные о гепарине как факторе неспецифической резистентности организма получены другими исследователями [6, 7].

Эксперименты, проведенные на интактных лягушках, показали, что содержание гепарина в крови у них колебалось в пределах 2,5-3 сек., а время свертывания крови в пределах 18-20 сек. Из данных таблицы видно, что болевой стресс вызывает укорочение времени свертывания крови до 10 и 12 сек. Болевой стресс у лягушек вызывает значительное снижение содержания гепарина, приводящее к выраженной гипогепаринемии.

На основании полученных данных можно предположить, что иммобилизационный и болевой стрессы сопровождается гиперкоагуляцией и гипогепаринемией как у мышей и крыс, так и у лягушек. Представляется возможным, что при боли, как и при других видах стресса повышается активность симпатoadреналовой системы и выделяющийся адреналин связывается с гепарином, образуя комплекс гепарин-адреналин, в связи с чем гепарина обнаруживается в крови мало.

Резюмируя полученные нами данные, можно прийти к заключению о том, что при иммобилизационном и болевом стрессах существенно повышаются коагуляционные свойства крови со снижением антикоагуляционной активности.

Гиперкоагуляция и гипогепаринемия являются характерными проявлениями острого стресса. При 1,5- и 2,5-часовом стрессах гиперкоагуляция приводит к нарушению гемостаза и возможному усилению тромбообразования, однако спустя несколько часов после воздействия стрессора наблюдается гипергепаринемия, рассматриваемая нами как защитно-приспособительный механизм, необходимый для поддержания гемостаза, как в описанном стрессовом режиме, так и в экстремальных условиях.

Сравнительные исследования выявили, что уровень гепарина у всех исследованных животных и продолжительность действия нейрогуморальных механизмов имеют выраженную видовую особенность как в норме, так

и при стрессах.

Определение содержания эндогенного гепарина может иметь важное диагностическое значение для выявления различных стадий стресс-реакции и для суждения о состоянии гемостаза и резистентности организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виру А.А. Гормональные механизмы адаптации и тренировки, 155, Л., 1981.
2. Вопросы нейрогуморальной регуляции процесса свертывания крови в норме и в патологии (Сборник), 171, Чита, 1971.
3. Горизонтов П.Д. Стресс. В кн.: Гомеостаз, 428-458, М., 1976.
4. Григорян М.С., Татевосян Л.Г., Маркарян Н.В. Биол. журн. Армении, 39, 8, 723, 1986.
5. Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования, 104, 109, М., 1975.
6. Лукашин Б.П. В кн.: Мат-лы VII Всероссийского симпозиума "Эколого-физиологические проблемы адаптации", 390, М., 1994.
7. Маркарян Н.В., Татевосян Л.Г. В кн.: VIII Международный симпозиум "Эколого-физиологические проблемы адаптации", 242, М., 1998.
8. Маркосян А.А. В кн.: Гепарин, физиология, биохимия, фармакология и клиническое применение, 378, Л., 1969.
9. Петрова Т.Р. В кн.: Гепарин в клинике сердечно-сосудистых заболеваний, 184, Краснодар, 1979.
10. Dallman M.F., Jones M.T. Endocrinology, 3, 1367, 1973.
11. Selye H. Stress without distress, Toronto, 1974.

Поступила 20.XI.2001

РЕАКЦИЯ КАПИЛЛЯРОВ МИОКАРДА КРЫС НА РАЗРУШЕНИЕ ГОЛУБОГО ПЯТНА

Н.Н.МЕЛКОНЯН, И.Г.САРКИСЯН, К.В.КАЗАРЯН

Институт физиологии им.Л.А.Орбели НАН Армении, 375028, Ереван

Голубое пятно - катехоламин - норадренергический нейрон

Голубое пятно (ГП) расположено в оральном отделе дна IV желудочка. Его аксоны снабжают своими ветвями кору мозжечка, кору больших полушарий, большую часть ядер промежуточного мозга, спинной мозг. Нейроны ГП непосредственно контактируют с капиллярами адренергическими терминалами и даже внедряются в базальный слой капилляров [1]. Исследования позволяют предполагать, что ГП является основным компонентом центрального аппарата функциональной системы гомеостаза [3]. Имеются также данные, свидетельствующие о том, что в условиях стресса происходят существенные изменения метаболизма катехоламина (КА), как в ЦНС, так и в периферических органах. Морфометрически показано наличие изменений характеристик сердечно-сосудистых функций в условиях перенапряжений [2], а физиологически - участие ГП в организации прессорной реакции [4]. При нарушении сердечно-сосудистых функций в условиях эмоционального стресса наблюдалось разное падение уровня норадреналина в гипоталамусе, в продолговатом мозге. Тяжелый стресс увеличивает физиологическую активность НА-нейронов.

Исходя из вышеизложенного, нам представлялось интересным выяснить, какие изменения происходят в микроциркуляции сердечной мышцы крысы по сравнению с нормой после разрушения ГП по кальций-аденозинтрифосфатному методу [5].

Материал и методика. Эксперименты проведены на 30 белых крысах массой 200-250 г. Разрушение ГП проводили под нембуталовым наркозом из расчета 50 мг/кг массы, внутривенно. Координаты подбирали по атласу Фифковой-Маршалл. Для разрушения ГП подавали постоянный ток (1,5 МА) с реле времени ТРВ-1 длительностью 20 сек [6].

После операции извлекали сердце, фиксировали в 5%-ном формалине 24 часа. По истечении этого времени готовили замороженные срезы из кусочков миокарда толщиной 60 мкм и помещали их на 2 ч в инкубационную смесь, приготовленную по кальций-аденозинтрифосфатному методу. После инкубации срезы заключали в глицерин-желатину. После приготовления препаратов приступали к измерению диаметров капилляров на световом микроскопе "Биолам" (ок.15, об.40) и морфометрическому анализу состояния капиллярного звена микроциркуляторного русла миокарда.

Следует отметить, что при изучении микроциркуляторного русла важное значение имеет возможность получения количественных данных о его морфофункциональном состоянии.

Результаты и обсуждение. В таблице представлены данные, наглядно показывающие те количественные сдвиги, которые произошли в капиллярном звене микроциркуляторного русла миокарда при одно- и двустороннем разрушении ГП.

Таблица 1. **Морфометрический анализ реакции капилляров миокарда крыс**

Орган	Средний диаметр капилл. (контроль), мкм	Средний диаметр капилл. при одностор. разруш.	Средний диаметр капилл. при двустор. разруш.
Миокард	6,3	5,3 мкм или 16%	3 мкм или 50%

Билатеральное разрушение ГП вызывало резкое сужение диаметров капилляров. Просвет капиллярных сосудов с 6,3 мкм в норме сузился до 3 мкм. Изменения просвета капилляров при одностороннем разрушении голубого пятна выражены слабее. Сужение просвета составляет всего 16% (с 6,3 мкм до 5,3 мкм).

Мы считаем, что среднее значение диаметров капилляров не отражает полной картины функционального состояния капиллярного звена в различных частях сосудистой сети органа, однако оно облегчает сравнение и сопоставление этих величин при различных сроках и различных видах воздействий. Сопоставление средних значений диаметров капилляров при одно- и двустороннем разрушении ГП со средним значением диаметров капилляров в контроле показало, что капилляры являются активным звеном микроциркуляторного русла и при различных воздействиях реагируют на ГП неоднозначно.

Норадреналин оказывал тормозное действие на симпатические преганглионарные нейроны, что было доказано при исследовании нейромедиаторных механизмов реализации нисходящего влияния на активность симпатических преганглионарных нейронов [7]. О центральном симпатоингибирующем влиянии норадреналина свидетельствуют и данные других авторов [8].

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что и нисходящие волокна из ГП оказывают определенное влияние на организм, в частности на микроциркуляторное русло сердца. В some клеток ГП синтезируются и хранятся норадреналин и ферменты его синтеза, при разрушении этих клеток он освобождается, вызывая констрикцию сосудов. Но по силе воздействия одно- и двустороннее разрушение ГП вызывает неоднозначные изменения в сосудистом русле.

В дальнейшем предполагается продолжить исследования в более отдаленные постоперационные сроки, чтобы выяснить динамику изменений в микроциркуляторном русле в стрессовых ситуациях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина И.П. Вестник АМН СССР, 8, 34-43, 1975.
2. Анохин П.К. Очерки по физиологии функциональных систем. М., Медицина, 447, 1975.
3. Белова Т.И., Голубева Е.Л., Судаков К.В. Гомеостатические функции *Lotus Geruleus* (синего пятна), 1980.
4. Саркисян И.Г. Биолог. журн. Армении, 38, 12, 1035-1039, 1985.
5. Чилингарян А.М. Журн. exper. и клинич. медицины, 5, 119-128, 1986.
6. Coote Y.H., MacLeod V.H. J. Hisiology (London), 225, 2, 44-44, 1972.
7. Groat W.C., De., Ryall R.W. Exp. Brain Res., 3,4, 299-365, 1967.
8. Kavanura E., Gunn Ch.G., Frohich E.D. Brain Res. 140, 137-147, 1978.

Поступила 28.IX.1997

ԼԱԿՏՈՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ԿԵՆՏՐՈՆԱՐԱՍՏՈՒԿԻ ԱԶՂԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՀՈՐԹԵՐԻ ԱՐՅԱՆ ՖԱԳՈՑԻՏԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Գ.Ռ. ՀԱՍԲԱՐՁՈՒՄՅԱՆ, Յու.Հ. ԱՐՈՎՅԱՆ, Հ.Ս. ՂԱԶԱՐՅԱՆ

Հայկական Գյուղատնտեսական Ակադեմիա, 375009, Երևան

*Հորթեր - ֆագոցիտոզ - բնական դիմադրողականություն -
լակտոբակտերին-6 - լեյկոցիտներ*

Հետծննդյան առաջին օրերին հորթերի մոտ հաճախակի նկատվող հիվանդությունները և դրա հետ կապված անկումները հիմնականում պայմանավորված են նրանց օրգանիզմի բնական դիմադրողականության անկատարությամբ: Նշված հիմնահարցը լուծելու հետ կապված խնդիրները շատ հետազոտողների և գործնական աշխատողների առջև առաջադրանք է ներկայացրել մշակել պաշտպանիչ յուրահատուկ և ոչ յուրահատուկ միջոցներ՝ հորթերին հիվանդություններից պաշտպանելու և անկումները կանխելու համար:

Հորթերի աղեստամոքսային հիվանդությունների դեմ պայքարում կիրառվող դեղամիջոցները, և մասնավորապես, հակաբիոտիկները, այս կամ այն չափով գրգռում են հատկապես նորածինների աղիների դեռևս նուրբ լորձաթաղանթը, ճնշիչ ազդեցություն են թողնում աղիների միկրոֆլորայի օգտակար ներկայացուցիչների վրա՝ դրանով իսկ երկարաձգելով հիվանդության ընթացքը կամ պատճառ հանդիսանալով նոր հիվանդության առաջացման:

Բնական դիմադրողականության ձևավորման մեջ օրգանիզմի նորմալ միկրոֆլորայի ունեցած մեծ դերի մասին է վկայում այն փաստը, որ ընդհանուր դիմադրողականության նվազումը անկախ պատճառից, միշտ ուղեկցվում է աղեստամոքսային ուղում կաթնաթթվային մանրէների և բիֆիդոբակտերիաների քանակի կտրուկ նվազմամբ:

Այդ պատճառով պաշտպանիչ միկրոֆլորայի բացակայությամբ կամ խիստ անբավարարությամբ մասամբ կարելի է բացատրել նորածին հորթերի աղեստամոքսային ուղու օրգանների հիվանդությունների հաճախակիությունը, քանի որ այդ շրջանում աղիքային միկրոֆլորան ունի խայտաբղետ և խիստ փոփոխական կազմ աղիքային ցուպիկների, նեխային մանրէների գերակշռմամբ:

Հիմք ընդունելով այդ հանգամանքը, բազմաթիվ հետազոտողներ [1-4, 7, 8] առաջարկում են ծննդյան առաջին իսկ օրվանից նորածիններին կերակրել կաթնաթթվային տարբեր մթերքներով՝ նպատակ ունենալով հարստացնել աղիքային միկրոֆլորան կաթնաթթվային օգտակար մանրէներով և դրանով իսկ կանխել հիվանդությունների առաջացումը:

Մեր հետազոտությունների նպատակն է ուսումնասիրել լակտոբակտերին-6 (L-6) կենսապատրաստուկի ազդեցությունը հորթերի բնական դիմադրողականության վրա:

Որպես դիմադրողականության պաշտպանիչ բջջային գործոն ուսումնասիրել ենք արյան օպոնոն-ֆագոցիտային ռեակցիան:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտությունները կատարվել են ՀԳԱ-ի Բալահովիտի ուսումնափորձնական տնտեսությունում, որտեղ համանմանության սկզբունքով կազմվել է կովկասյան գորշ ցեղին պատկանող, կլիմիկայեն առողջ հորթերի պայմանական 4 խումբ, յուրաքանչյուր խումբը 6-ական գլխով: Բոլոր խմբերի հորթերը կաթով կերակրվել են տվյալ տնտեսությունում ընդունված չափաքանակով:

Առաջին խումբը հանդիսացել է որպես ստուգիչ:

Փորձնական երկրորդ, երրորդ և չորրորդ խմբերի հորթերից յուրաքանչյուրը խիժային չրջանում ստացել է 300 մլ L-6 պատրաստուկից, իսկ այնուհետև, նրանց տրվող օրական կաթի համապատասխանաբար 30, 50 և 60% փոխարինվել է վերոհիշյալ պատրաստուկով:

Լեյկոցիտների ֆագոցիտային ակտիվությունը որոշել ենք ըստ Գոստևի, Պլաշենկոյի [5] ձևափոխմամբ: Փորձի ժամանակ օգտագործվել է աղիքային ցուպիկի 1 օրական ազարային կուլտուրայի 2 մլ-ը. կախուկ: Հորթերից վերցված արյան (1 մլ) և 2 % լիժոնաթթվային նատրիումի (0,5 մլ) խառնուրդին ավելացրել ենք 0,5 մլ վերոհիշյալ մանրէային կախուկից, զգույշ թափահարել և 30 ր տողությամբ տեղադրել 37° ջեռոցի մեջ յուրաքանչյուր 10 րոպեյն մեկ զգույշ թափահարելով: Այնուհետև արյունից պատրաստել ենք քսուկներ և ներկել ըստ Ռոմանովսկու-Գիմզայի:

Հետազոտվող նմուշների արյան ֆագոցիտոզի գնահատման համար որոշել ենք ֆագոցիտային ակտիվությունը (ՖԱ), ֆագոցիտոզի ինդեքսը (ՖԻ), ֆագոցիտային թիվը (ՖԹ) և ֆագոցիտային տարողությունը (ՖՏ) հետևյալ բանաձևերով.

$$\text{ՖԱ} = \frac{\text{ֆագոցիտոզին մասնակցած մանրէների քանակ}}{100} \cdot 100\%$$

$$\text{ՖԻ} = \frac{\text{ֆագոցիտոզի ենթարկված մանրէների քանակ}}{\text{ֆագոցիտոզին մասնակցած լեյկոցիտների քանակ}}$$

$$\text{ՖԹ} = \frac{\text{ֆագոցիտոզի ենթարկված մանրէների քանակ}}{100}$$

$$\text{ՖՏ} = \text{ՖԹ} \cdot 1\text{մմ}^3 \text{ ում առկա լեյկոցիտների քանակ:}$$

Ստացված տվյալները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման, որոշվել է նրանց միջին քվադրանկանը (M) և նրա սխալը (m), միջին քառակուսային շեղումը (σ) և հավաստիության գործակիցը (t):

Արդյունքներ և քննարկում: Ինչպես վկայում են ստացված տվյալները, նորածին հորթերն աչքի են ընկնում լեյկոցիտների բարձր ֆագոցիտային ակտիվությամբ և ինդեքսով, կազմելով համապատասխանաբար, % 33,3 և 7,10 (առաջին խումբ), 34,50 և 7,21 (երկրորդ խումբ), 35,83 և 6,77 (երրորդ խումբ), 33,67 և 7,30 (չորրորդ խումբ), որը համընկնում է գրականությունում եղած տվյալների հետ: Սինչև 10 օրական հասակը ստուգիչ և փորձնական հորթերի մոտ հետազոտվող ցուցանիշների միջև եղած տարբերությունը աննշան է ($P < 0,1$):

10 օրականում երկրորդ, երրորդ և չորրորդ խմբի հորթերի ֆագոցիտային ակտիվությունն արդեն գերազանցում է ստուգիչ խմբի հորթերի նույն ցուցանիշին, համապատասխանաբար՝ 3,67 ($P < 0,05$), 6,50 ($P < 0,02$) և 5,50%-ով ($P < 0,05$): Այդ տարիքում արժանահավատ է նաև փորձնական և ստուգիչ հորթերի արյան ֆագոցիտային թվի և ֆագոցիտային տարողության միջև եղած տարբերությունը. փորձնական խմբերի հորթերի մոտ վերոհիշյալ ցուցանիշներն ավելի բարձր են ($P < 0,02$): Սակայն հարկավոր է նշել, որ այդ տարիքում փորձնական և ստուգիչ հորթերի արյան ֆագոցիտային ինդեքսների միջև եղած տարբերությունը դեռևս մեծ է ($P < 0,1$):

10 և 20 օրական հորթերի մոտ՝ հետազոտվող ցուցանիշներն աստիճանաբար նվազում են, 20 օրականում գտնվելով ամենացածր աստիճանի վրա՝ հետազոտության ամբողջ ժամանակահատվածում: Այդ հասակում փորձնական խմբերի հորթերի լեյկոցիտների ֆագոցիտային ակտիվությունները համապատասխանաբար՝ 6,0 ($P < 0,05$), 4,50 ($P < 0,05$) և 4,67 %-ով ($P < 0,02$) բարձր

Աղյուսակ 1. Ֆագոցիտային ակտիվությունը տարբեր հասակի հորթերի մոտ

$$n=6, M \pm \sigma \pm m$$
[illegible]

են առաջին խմբի հորթերի նույն ցուցանիշից: 20 օրական փորձնական հորթերի մոտ բարձրանում է նաև ֆագոցիտային ինդեքսը, որը 1,17-ով (երկրորդ խումբ), 0,85-ով (երրորդ խումբ) և 0,97-ով (չորրորդ խումբ) գերազանցում է ստուգիչ հորթերի նույն ցուցանիշին ($P<0,05$):

Հետազոտվող բոլոր ցուցանիշները 30 օրականից սկսած, աստիճանաբար սկսում են բարձրանալ, միաժամանակ, բոլոր փորձնական հորթերի մոտ ավելի բարձր լինելով, քան ստուգիչ խմբի հորթերի մոտ ($P<0,05$):

Հետազոտության վերջում ամենաբարձր ֆագոցիտային ակտիվությունը չորրորդ խմբի հորթերի մոտ է, որը 4,17 %-ով ($P<0,05$) գերազանցում է առաջին խմբի նույն ցուցանիշին: Իսկ առավելագույն ֆագոցիտային ինդեքսը (8,57 $P<0,01$), թիվը (3,35 $P<0,01$) և տարողությունը (32618,67 $P<0,02$) երրորդ խմբի հորթերի մոտ են:

Ամփոփելով ստացված տվյալները, կարելի է եզրակացնել, որ լակտոբակտերին-6 կենսապատրաստուկը նպաստում է կաթնային շրջանում գտնվող հորթերի արյան լեյկոցիտների ֆագոցիտային ակտիվության բարձրացմանը, հորթերին տրվող կաթի օրական չափաբաժնի փոխարինումը վերոհիշյալ պատրաստուկով դրականապես է ազդում հորթերի օրգանիզմի բնական դիմադրողականության վրա, որն էական նշանակություն ունի հիվանդությունների կանխարգելման հարցում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Երզնկյան Լ. Դ.* Ացիդոֆիլ կաթը, նրա պատրաստումը և կիրառումը անասնաբուծության մեջ, 91, Երևան, 1955:
2. *Арутюнян Б.* Выращивание телят и поросят с применением мацуна, 14, Кишинев, 1962.
3. *Глухова Г.С.* Как вырастить здоровых телят, 61, Кемерово, 1972.
4. *Грязнева Т.Н., Ставцева Л.Я.* Ветеринария, 6, 21-21, 1991.
5. *Плященко С.И. и др.* Естественная резистентность организма животных. 7-15, Минск, 1973.
6. *Семеновцев А.И.* Кисломолочные продукты при выращивании молодняка, 79, М., 1983.
7. *Храмов А.С.* Ацидофилин и его применение для телят и поросят. 40, М., 1939.

Ստացվել է 04.III.2002

ԳԼՈՒՏԱՄԻՆԱԶԱ ՖԵՐՄԵՆՏԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ԽՍՈՐԱՍՆԿԵՐԻ ԵՎ ԻՆՖՈՒԶՈՐԻԱՆԵՐԻ ՍՈՏ

Ա.Յ. ԹԱՄՐԱԶՅԱՆ

Երևանի պետական համալսարան, կենսաքիմիայի ամբիոն, 375025

Գլուտամինազա - խմորասնկեր - ինֆուզորիաներ

Ազոտ պարունակող միացություններից կենդանի օրգանիզմի նյութափոխանակության մեջ էական դեր են խաղում ամինաթթուների ամիդները, մասնավորապես գլուտամինը և ասպարագինը: Գլուտամինը բավականին մեծ քանակով առկա է կենդանի հյուսվածքներում [10]: Հայտնի է, որ գլուտամինաթթուն չեզոքացնելով բջիջների մեջ առաջացած ամոնիակը փոխադրում է այն գլուտամինի ձևով համապատասխան օրգաններ՝ ազոտ պարունակող միացությունների սինթեզի համար: Օրգանիզմում այն մասնակցում է մի շարք կարևոր ազոտական միացությունների կենսասինթեզին՝ պուրինային և պիրիմիդինային հիմքեր, տարբեր ամինաթթուներ և այլն [10]: Գլուտամինի կատաբոլիզմը օրգանիզմներում հիմնականում իրականացվում է գլուտամինազա ֆերմենտի միջոցով: Այն պարունակվում է ինչպես էուկարիոտ, այնպես էլ պրոկարիոտ օրգանիզմներում [7,13]: Միկրոօրգանիզմներից անջատված և մաքրված գլուտամինազան օգտագործվում է բժշկական հետազոտությունների մեջ, որպես հակաուռուցքային պրեպարատ [4,6]:

Ներկայացված աշխատանքում նպատակ ենք ունեցել ուսումնասիրել գլուտամինազա ֆերմենտը ինֆուզորիաներում և խմորասնկերում:

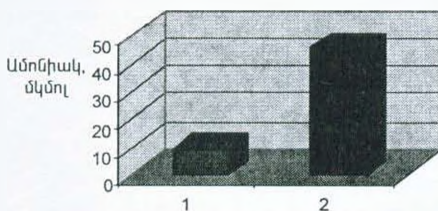
Նյութ և մեթոդ: Որպես հետազոտման օբյեկտ հանդիսացել են *Candida guilliermondii* HPI-4 խմորասնկերը և աէրոբ *Paramecium multimicronucleatum* ինֆուզորիաները:

Խմորասնկային կուլտուրան աճեցվել է հեղուկ սննդամիջավայրում Վիկերիամի միջավայր [14] մոդիֆիկացված Մակարովայի կողմից [3]:

Ինֆուզորիաները աճեցվել են Սոնեբորնի միջավայրում [12]:

Գլուտամինազայի ակտիվությունը որոշվել է ըստ գլուտամինի հիդրոլիզից առաջացած ամոնիակի քանակի: Ամոնիակը որոշվել է Ջելիգսոնի [15] մեթոդով՝ ձևափոխված Սիլակովայի և աշխատակիցների կողմից [5]:

Արդյունքներ և քննարկում: Վերը նշված օբյեկտների հոմոգենատներում



Նկ. 1. Գլուտամինազա ֆերմենտի ակտիվությունը 1. խմորասնկեր, 2. ինֆուզորիաների հոմոգենատներում (տրիս HCl բուֆերում, pH=8.0, մկմոլ ամոնիակ 1 գ թաքմ կենսազանգվածում):

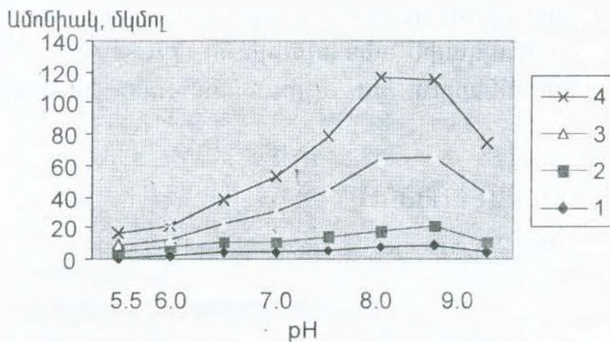
ուսումնասիրվել է գլուտամինազա ֆերմենտի ակտիվությունը: Ստացված արդյունքները բերված են ստորև նկար 1-ում:

Համաձայն նկարի տվյալների՝ երկու հետազոտվող օբյեկտների հոմոգենատներում տեղի է ունենում գլուտամինի հիդրոլիզ (9.35 մկմոլ խմորասնկերի և 45.49 մկմոլ ինֆու-

զորիաների 1 գ թարմ կենսազանգվածում): Գլուտամինազա ֆերմենտի ամենաբարձր ակտիվությունը դրսևորվում է ինֆուզորիաների մոտ, որը 4.8 անգամ ավելի է խմորասնկերից:

Միկրոօրգանիզմներից անջատված ֆերմենտներն իրենց ֆիզիկաքիմիական հատկություններով կտրուկ տարբերվում են կենդանական ծագում ունեցող ֆերմենտներից [1, 2, 8, 9, 13]: Գոյություն ունեն աշխատանքներ, համաձայն որոնց կենդանական հյուսվածքների գլուտամինազաների օպտիմում pH-ը գտնվում է հիմնային զոնայում: Ի տարբերություն միկրոօրգանիզմների գլուտամինազաների, մեծամասնությունը առավել ակտիվ է pH-ի թթվային և չեզոք պայմաններում: Սակայն գոյություն ունեն բակտերիալ գլուտամինազաներ, որոնք կարող են ցուցաբերել կենդանական հյուսվածքներին բնորոշ pH օպտիմումներ [1, 2, 11]:

Միաժամանակ ուսումնասիրվել է ֆոսֆատ իոնի ազդեցությունը ֆերմենտատիվ ակտիվության վրա: Ստորև բերված նկարներում ցույց է տրված գլուտամինազայի ակտիվությունը տարբեր pH-ի, տրիս HCl և ֆոսֆատային բուֆերների պայմաններում խմորասնկերի և ինֆուզորիաների համար:



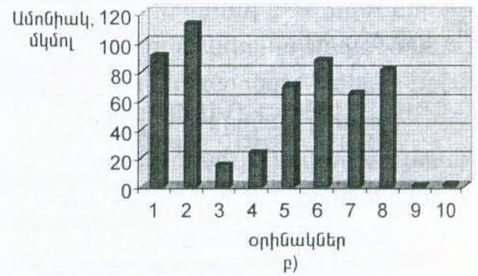
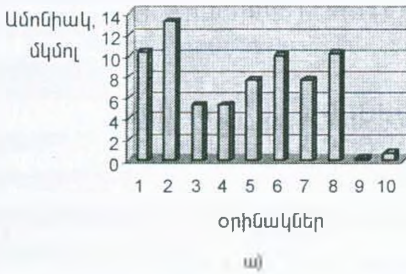
Նկ. 2. Գլուտամինազայի ակտիվությունը տարբեր pH-ի պայմաններում, մկմոլ ամոնիակ 1 գ թարմ կենսազանգվածում: 1. խմորասնկեր՝ տրիս HCl բուֆերում: 2. խմորասնկեր՝ ֆոսֆատային բուֆերում: 3. ինֆուզորիաներ՝ տրիս HCl բուֆերում: 4. ինֆուզորիաներ՝ ֆոսֆատային բուֆերում:

Նկար 2-ի տվյալների համաձայն *Candida guilliermondii* HП-4 խմորասնկերի և *Paramecium multimicronucleatum* ինֆուզորիաների գլուտամինազայի ամենաբարձր ակտիվությունը դրսևորվում է pH 8.0-8.5 պայմաններում: Համեմատելով գլուտամինազային ակտիվությունը տրիս HCl և ֆոսֆատային բուֆերներում, ակնհայտ

է դառնում, որ ֆոսֆատային բուֆերում տեղի է ունենում ֆերմենտի որոշակի ակտիվացում: Ելնելով վերը նշվածից, կարելի է ենթադրել, որ *C. guilliermondii* HП-4 խմորասնկերի և *P. multimicronucleatum* ինֆուզորիաների գլուտամինազան կամ իզոֆերմենտներից մեկը ֆոսֆատ ակտիվացվող է:

Համաձայն գրականության տվյալների, հայտնի է, որ գլուտամինազա ֆերմենտը կենդանի բջիջներում հանդես է գալիս երկու իզոֆերմենտների կարգով, որոնք տարբերվում են իրենց լուկալիզացիայով և կարգավորմամբ [7, 10, 13]: Աշխատանքի հաջորդ էտապում որոշվել է գլուտամինազային ակտիվությունը բջջային տարբեր ֆրակցիաներում (կորիզային, միտոքոնդրիումային, ցիտոպլազմատիկ) ֆոսֆատ իոնի ներկայությամբ և բացակայությամբ:

Ստացված արդյունքները ներկայացված են ստորև բերված նկարներում:



Նկ. 3. Գլուտամինազային ակտիվությունը ա) *C. guilliermondii* НП-4 խմորասնկերի բջջային տարրեր ֆրակցիաներում, տարբեր բուժերներում տրիս HCl և ֆոսֆատային բուժեր pH-ը 8.0, վերահաշվարկած մկմոլ ամոնիակ 1 գ թարմ կենսազանգվածում, բ) *P. multimicronucleatum* ինֆուզորիաների բջջային տարրեր ֆրակցիաներում, տարբեր բուժերների տրիս HCl և ֆոսֆատային պայմաններում վերահաշվարկած մկմոլ ամոնիակ 1 գ թարմ կենսազանգվածում:

1. հոմոգենատ տրիս HCl բուժեր, 2. հոմոգենատ ֆոսֆատային բուժեր, 3. կորիզային ֆրակցիա տրիս HCl բուժեր, 4. կորիզային ֆրակցիա ֆոսֆատային բուժեր, 5. վերնատվածք տրիս HCl բուժեր, 6. վերնատվածք ֆոսֆատային բուժեր, 7. միտոքոնդրիումային ֆրակցիա տրիս HCl բուժեր, 8. միտոքոնդրիումային ֆրակցիա ֆոսֆատային բուժեր, 9. ցիտոպլազմատիկ (առանց միտոքոնդրիումների) ֆրակցիա տրիս HCl բուժեր, 10. ցիտոպլազմատիկ (առանց միտոքոնդրիումների) ֆրակցիա ֆոսֆատային բուժեր:

Ստացված տվյալներից (Նկ. 3 ա, բ) բխում է, որ բջջում և խմորասնկերի, և ինֆուզորիաների մոտ գլուտամինազային ակտիվությունը (շուրջ 70-75 %) կենտրոնացված է միտոքոնդրիումներում, այս գլուտամինազան ֆոսֆատ կախյալ է:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Абдумаликов А. Х., Еременко В.В. Биохимия, 32, 363, 1967.
2. Коваленко Н. А., Козлов Е.А., Биохимия, 35, 670, 1970.
3. Макарова А.С. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1963.
4. Пехов А.А., Жукова О.С., Занин З.А. Экспериментальная онкология, 6, 1, 55-63, 1984.
5. Силакова А.И., Труш Г.П., Являкова А.А. Вопросы мед. химии, 5, 538, 1962.
6. Соколов Н.Н., Занин В.А., Александрова С.С. Вопросы мед. химии, 6, 2000.
7. Crabtree Ch. ExPasy Molecular Bio Server, August 30, 2000.
8. Duran S., Du Pont G., Calderon J. Microb., 141, 2883-2889, 1995.
9. Duran S. Biochem. Genetics, 34, 453-463, 1996.
10. Greenwell I. LE Magazine, 1999.
11. Roberg B., Torgner I., Laake J. J. Biol. Chem., 279, 3, 648-657, 2000.
12. Soneborn T.M. Methods in Cell Physiology, 4, Presscot, 1970.
13. Soberon M., Gonzales A. J. Gen. Microb., 133, 1-8, 1987.
14. Wikerham L.J. US Dept. Agr. Technical Bull., 1029, 1951.
15. Zelingson D., Zelingson H. J. Lab. Clin. Med. 38, 324, 1951.

Поступила 11.III.2002

ՆՈՐ ԲՈՒՍԱՏԵՍԱԿՆԵՐ ԿԵՆՏՐՈՆԱԿԱՆ ԵՎ ՀՅՈՒՄԻՍԱԶԻՆ ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ՖԼՈՐԻՍՏԻԿԱԿԱՆ ՇՐՋԱՆՆԵՐԻ ՀԱՍԱՐ

Ս.Ա.ԲԱԼՈՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտ, 375063, Երևան

Հայաստանի ֆլորա - ալպիական գոտի – նոր բուսատեսակներ

Կենտրոնական և Հյուսիսային Հայաստանի ֆլորիստիկական շրջանները համրապետության առավել ուսումնասիրված հատվածներն են [1, 3, 5], սակայն դրանցում առկա ալպիական գոտին մինչև վերջին ժամանակներս հետազոտողների կողմից լիարժեք ուշադրության չի արժանացել: Իմ կողմից կատարված ֆլորիստիկական ուսումնասիրությունները (1988-1989 թթ.) ընդգրկել են Կենտրոնական Հայաստանի՝ Գեղամա և Վարդենիսի լեռնաշղթաների, իսկ Հյուսիսային Հայաստանի՝ Փամբակի, Խալաբի, Մուրղուզի և Ջավախքի լեռնաշղթաների, ալպիական գոտին:

Նշված լեռնազանգվածները բուսաբանա-աշխարհագրական շրջանացման համակարգում պատկանում են տարբեր երկրամասերի և ենթաերկրամասերի [4]: Այսպես, Գեղամա լեռնաշղթայի արևմտյան մակրոլանջը ընդգրկված է Հայ-Իրանական երկրամասի հայկական ենթաերկրամասի տարածքում: Նույն երկրամասի Ատրպատական ենթաերկրամասին է պատկանում Վարդենիսի լեռնաշղթայի հարավային մակրոլանջը: Գեղամա լեռների արևելյան, իսկ Վարդենիսի լեռնաշղթայի հյուսիսային մակրոլանջերը, ինչպես նաև Հյուսիսային Հայաստանի տարածքում գտնվող բոլոր լեռնազանգվածները ընդգրկված են Կովկասյան երկրամասում: Բացի այդ, ուսումնասիրված լեռնազանգվածները տեղաբաշխված են Հայաստանի ֆլորիստիկական տարբեր շրջաններում: Ջավախքի լեռնաշղթան՝ Վերին Ախուրյանի, Փամբակի, Խալաբի և Մուրղուզի լեռնազանգվածները ամբողջությամբ գտնվում են Իջևանի շրջանում, Գեղամա լեռնաշղթան՝ Գեղամի, Վարդենիսի լեռնաշղթայի հարավային մակրոլանջը՝ Դարալագյազի, իսկ հյուսիսայինը՝ Սևանի ֆլորիստիկական շրջաններում:

Ուսումնասիրությունների ընթացքում նշված ֆլորիստիկական շրջանների համար առաջին անգամ նշվում են 18 տեսակի բարձրակարգ բույսեր:

Հավաքված նյութը պահվում է ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտի հերբարիումում (ERE):

Pimpinella grossheimii Schischk. – Հայաստանի տարածքում չափազանց հազվադեպ հանդիպող հիբկանական տեսակ է: ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտի հերբարիումում պահպանվում է այս տեսակի հերբարիումային մեկ թերթ, հավաքված 1963 թ. Յա.Ի.Մուկիջյանյանի կողմից Սեղրու շրջանի Լիճք գյուղի շրջակայքից: Իմ կողմից հայտնաբերվել է Դարալագյազի ֆլորիստիկական շրջանում՝ Վարդենիս լեռնազանգվածի հարավային մակրոլանջի վրա, ծովի մակարդակից 2700-3000մ բարձրություններում: Աճում է քարացրոններում (չինգիլներում):

Pimpinella nudicaulis Trautv. - Առաջին անգամ է նշվում Վերին Ախուրյանի շրջանի համար: Հայտնաբերվել է Ջավախքի լեռնաշղթայի հարավային վերջավորությունում ծովի մակարդակից 2600-2800 մ բարձրության վրա: Հայ-Ատրպատական տարածաշրջանին բնորոշ այս տեսակը նախկինում հայտնի էր միայն Երևանի և Դարալագյազի ֆլորիստիկական շրջանների համար, իսկ 1987 թ. իմ կողմից հայտնաբերվել է նաև Ջանգեզուրի շրջանում [2]:

Didymophysa aucheri Boiss. - Այս ատրպատական տեսակը մինչև այժմ Հայաստանում հայտնի էր միայն Արագած լեռան «խառնարանից» [7]: 1988 թվականին իմ կողմից հայտնաբերվել է Գեղամա լեռնաշղթայի Աղուսարք լեռնահամալիրում ծովի մակարդակից 3300-3400 մ բարձրության վրա: Ինչպես Արագածում, այնպես էլ այստեղ այն աճում է բացառապես խճաքարային լանջերի վրա:

Isatis takhtajanii Avet. - Առաջին անգամ է տրվում Իջևանի շրջանի համար: Հայտնաբերվել է Սայմեխ լեռան վրա (Փամբակի լեռնաշղթա) ծովի մակարդակից 2900մ բարձրությունում: Այս հազվագյուտ տեսակը հայտնի էր Հայաստանի Լոռու և Ջանգեզուրի տարածքում: Մեր ուսումնասիրությունների արդյունքները վկայում են, որ այն իր ֆիտոգենետիկ առանձնահատկություններով առավել աչքի է ընկնում Ջանգեզուրի ֆլորիստիկական շրջանում:

Murbeckiella huetii (Boiss.) Rothm. - Նոր տեսակ է Վերին Ախուրյանի ֆլորայի համար: Հայտնաբերվել է Ջավախքի լեռնաշղթայի Աջքասար լեռնագագաթում ծովի մակարդակից 3000-3200 մ բարձրության վրա: Հայ-Իրանական տեսակ է: Ամենամոտիկ տարածման վայրը Լոռու ֆլորիստիկական շրջանն է:

Herniaria caucasica Rupr. - Հայաստանի ալպերում հազվադեպ հանդիպող արևելակովկասյան տեսակներից է [2]: Առաջին անգամ է դիտվում Դյուսիսային Հայաստանում: Հայտնաբերվել է Խալաբի լեռնաշղթայի վրա (Իջևանի շրջան) ծովի մակարդակից 2600-2700 մ բարձրություններում: Ամենուրեք հարմարված է խճաքարային լանջերին:

Minuartia sclerantha (Fisch. Et Mey.) Thell. - Առաջավորասիական այս տեսակը առաջին անգամ է նշվում Հայաստանի ֆլորայի համար: Իմ կողմից հայտնաբերվել է Իջևանի շրջանում Թեժ (Փամբակի լեռնաշղթա) և Խալաբ լեռնագագաթներին, որտեղ տարածված է ծովի մակարդակից 2600-3100 մ բարձրությունների վրա: Հարմարված է խճաքարային վայրերին: Անդրկովկասում հանդիպում է Հայաստանին հարակից արևելյան և հարավային շրջաններում [6]:

Dianthus inamoenus Schischk. - Նոր տեսակ է Դարալագյազի ֆլորիստիկական շրջանի համար: Հայտնաբերվել է Վարդենիսի լեռնաշղթայի հարավային մակրոլանջին ծովի մակարդակից 2800-2900մ բարձրության վրա: Անդրկովկասյան տեսակ է: Հայաստանում հանդիպում է նաև Մեղրիում, Խալաբի լեռնաշղթայում և Սյունիքի Արավուս գյուղի շրջակայքում: Հարմարված է քարքարոտ վայրերին:

Carex oreophila C.A.Mey. - Կենտրոնական Հայկական հրաբխային բարձրավանդակի ալպիական գոտում լայնորեն տարածված կովկասյան այս տեսակը առաջին անգամ է հիշատակվում Իջևանի ֆլորայի համար: Հայտնաբերվել է Թեժ լեռան գորգային համակեցություններում ծովի մակարդակից 3000-3100մ բարձրության վրա: Դյուսիսային Հայաստանում նրա

խիստ սահմանափակ տարածվածությունը հիմնականում պայմանավորված է այստեղ ալպիական գորգերի նվազ արտահայտմամբ, որոնցում և բացահայտվում են այս տեսակի ֆիտոցենոտիկ առանձնահատկությունները:

Oxytropis savellanica Bunge - Առաջին անգամ է նշվում Հյուսիսային Հայաստանի ֆլորայի համար: Հայտնաբերվել է Թեժ և Աջքասար լեռների զագաթաներձ հատվածների մարգագետնային և պետրոֆիլ բուսականության համակեցություններում: Մինչև այժմ իրանական այս տեսակի տարածման ամենահյուսիսային սահմանը եղել է Գեղամա լեռնաշղթան, որտեղ այն հանդիպում է Ակնա լճի շրջակայքում, Մեծ Սպիտակասար և Գեղմաղան լեռնագագաթների վրա ծովի մակարդակից 2800-3400 մ բարձրություններում:

Corydalis alpestris C.A.Mey. - Հայաստանի բարձրալեռներում լայնորեն տարածված կովկասյան այս տեսակը հայտնաբերվել է Վարդենիս լեռան հյուսիսային մակրոլանջին միայն 1988 թ., որը մտնում է Սևանի ֆլորիստիկական շրջանի մեջ: Ամենամոտ տարածման վայրը Գեղամա շրջանն է:

Nepeta supina Stev. subsp. buschii (Sosn. et Manden.) Menitsky - Այս բուսատեսակը առաջին անգամ է նշվում Դարալագյազի ֆլորայի համար: Հայտնաբերվել է Վարդենիս լեռան հարավային մակրոլանջին ծովի մակարդակից 3300-3400 մ բարձրության վրա: Հարմարված է քարացրոններին: Հայկական տեսակ է: Ամենամոտ տարածման վայրը Գեղամա լեռնաշղթայի Մեծ Սպիտակասար լեռնագագաթն է:

Dactylorhiza umbrosa (Kar. et Kir.) Nevski - Այս իրանա-թուրանական տեսակը Հայաստանի հազվագյուտ բույսերից է: Մինչև այժմ հայտնի էին այս տեսակի երեք պոպուլյացիաներ Լոռիում, Մեղրիում և Ջանգեզուրում [2]: 1988 թ. Վարդենիս լեռան հյուսիսային մակրոլանջին, ծովի մակարդակից 2800-2900 մ բարձրության վրա հայտնաբերվել է նաև չորրորդ պոպուլյացիան: Նորություն է Սևանի ֆլորիստիկական շրջանի համար:

Catabrosella araratica (Lipsky) Tzvel. - Նորություն է Իջևանի ֆլորայի համար: Հայտնաբերվել է Թեժ լեռան զագաթաներձ տարածքում: Հայկական տեսակ է, տարածված է Կենտրոնական Հայկական հրաբխային բարձրավանդակի լեռնահամակարգում:

Alopecurus aucheri Boiss. - Ատրպատականի բարձրալեռնային գոտում բնորոշ այս բուսատեսակը, որը լայնորեն տարածված է Մերձարաքսյան լեռնաշղթաների և Հայկական հրաբխային բարձրավանդակի լեռներում, առաջին անգամ է նշվում Հյուսիսային Հայաստանի համար: Այն նորություն է Վերին Ախուրյանի ֆլորայի համար, որտեղ հայտնաբերվել է Ջավախքի լեռներում ծովի մակարդակից 2600-3200 մ բարձրության վրա: Աճում է ինչպես մարգագետնային համակեցություններում, այնպես էլ քարքարոտ լանջերին:

Helictotrichon adzharicum (Albov) Grossh. - Հայաստանի տարածքում հանդիպող չափազանց հազվագյուտ կովկասյան այս տեսակը հայտնի էր միայն Սևանի ավազանում: 1989 թ. այն հայտնաբերվել է նաև Հյուսիսային Հայաստանի ֆլորիստիկական երկու շրջաններում Իջևանի (Թեժ լեռ) և Վերին Ախուրյանի (Ջավախքի լեռնաշղթա): Նշված վայրերում այն հանդիպում է ծովի մակարդակից 2800-3100 մ բարձրության վրա, հիմնականում մարգագետնային համակեցություններում:

Euphrasia juzepczukii Deniss. - Առաջին անգամ է նշվում Հյուսիսային Հայաստանի ֆլորիստիկական երկու շրջանների համար Իջևանի (Սուրդուզ) և Վերին Ախուրյանի (Ջավախքի լեռնաշղթա): Ատրպատական այս տեսակի տարածման ամենահյուսիսային սահմանը դիտվում էր Արագած լեռը [2]: Ինչպես ամենուրեք, այնպես էլ հայտնաբերված նոր վայրերում այն հարմարված է ալպյան գոտու մարգագետնային և պետրոֆիլ համակեցություններին:

Potentilla agrimonioides Bieb. - Արևելակովկասյան այս հազվագյուտ տեսակը Հայաստանի տարածքում հայտնի էր միայն Սևանի և Ջանգեզուրի ֆլորիստիկական շրջաններում: Առաջին անգամ է նշվում Իջևանի շրջանի համար: Հայտնաբերվել է Թեթ լեռան գագաթաներձ վայրերում: Աճում է փլուզուտներում:

Ամփոփելով ստացված արդյունքները, ակնառու է, որ հայտնաբերված նոր բուսատեսակների գերակշռող մասը բաժին է ընկնում Հյուսիսային Հայաստանի ֆլորիստիկական շրջաններին: Սա մեկ անգամ ևս հաստատում է Հայկական լեռնաշխարհի այս հատվածի բարձրալեռնային գոտու, մասնավորապես ալպիական ֆլորայի անբավարար ուսումնասիրվածությունը:

Մյուս կողմից, վերլուծելով Հյուսիսային Հայաստանում նոր բուսատեսակների ընդհանուր տարածվածությունը, պարզվում է, որ դրանց մեծ մասը հանդիսանում են առաջավորասիական աշխարհագրական տարրի ներկայացուցիչներ: Հաշվի առնելով այս հանգամանքը և նկատի ունենալով այն, որ Հյուսիսային Հայաստանը ամբողջապես ընդգրկված է Կովկասյան երկրամասում [4], կարելի է եզրակացնել, որ, առաջին, Հյուսիսային Հայաստանի ալպիական գոտու ֆլորան որոշակիորեն կրում է առաջավորասիական ֆլորայի ազդեցությունը, և, երկրորդ, անհրաժեշտ է վերանայել Կովկասյան և Հայ-Իրանական ֆլորիստիկական երկրամասերի սահմանները:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Африкян К.Г. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1987.
2. Балоян С.А. Биолог. журн. Армении, 41, 9, 756-760, 1988.
3. Гусян К.Е. В сб.: Научн. тр. Арм. Отд. ВБО "Флора, растительность и растительные ресурсы Армянской ССР", 8, 38-45, 1981.
4. Тахтаджян А.Л. Флористические области Земли, Л., 1978.
5. Файбуш Г.М. В сб.: Научн. тр. Арм.отд. ВБО "Флора, растительность и растительные ресурсы Армянской ССР", 8, 46-52, 1981.
6. Флора Армении, 3, Баку, 1945.
7. Флора Армении, 5, Ереван, 1966.

Ստացվել է 10.V.1991

БИОЛОГИЯ *SALVIA VIRIDIS* L. (LAMIACEAE)**Ж.А. АКОПЯН***Институт ботаники НАН Армении, 375063, Ереван**Флора Армении — биология *Salvia viridis* L.*

Salvia viridis L. (шалфей зеленый) — однолетнее растение высотой 10-40 см с прямым простым стеблем или ветвистое от основания с одной или тремя парами ветвей. Стебель густо опушен длинными многоклеточными и короткими прижатыми волосками. Листья до 5 см длины, тупые, по краю мелкогородчатые, снизу беловатые от короткого густого опушения. Прицветные листья ромбически-яйцевидные, сидячие или короткочерешковые, опушенные, с двумя длинными линейными прицветничками. Соцветия простые, располагаются на концах главного стебля и ответвлений, состоят из нескольких отстоящих друг от друга на расстоянии 2(5) см четырех-шестицветковых мутовок. Цветки на широких эллиптических цветоножках. Чашечка трубчатая, по ребрам снаружи опушенная. Верхняя губа чашечки с неравнобокими боковыми зубцами и маленьким средним зубчиком; нижняя губа с более крупными зубцами. Венчик фиолетовый с почти белой нижней губой, в полтора раза длиннее чашечки. Трубка венчика скрыта в чашечке, верхняя губа слегка вогнутая, средняя лопасть нижней губы округлая, на верхушке с выемкой, боковые лопасти продолговатые, торчащие вверх. Верхние гнезда пыльников 2 мм длины, нижние расширенные, прямоугольные с глубокой выемкой ниже середины. Столбик значительно выдается из венчика, рыльце с неодинаковыми лопастями. Орешки темно-бурые, яйцевидные, гладкие.

Произрастает на Кавказе, в Европе, Средиземноморье, Малой Азии, Северном Иране. В Армении шалфей зеленый распространен в Иджеванском, Ереванском, Даралегисском, Зангезурском и Меграинском флористических районах, произрастает от нижнего до среднего горного пояса на сухих глинистых склонах.

Прорастание семян шалфея зеленого начинается в середине апреля. В конце апреля проростки представлены семядолями с развивающимися в их пазухах первыми двумя (четырьмя) зачатками настоящих листьев. На этом этапе рост проростков замедлен, появление и развитие новых листьев происходит с интервалом в 5-7 дней. Семядоли до 7 мм длины и 5,5 мм ширины, сердцевидные, с ровными краями, мясистые, светло-зеленого цвета. Черешки у семядолей четырехгранные, уплощенные, вдоль наружного края опушенные белыми торчащими волосками. Эпикотиль, до 6 мм длины, неправильно-четырёхгранный, с опушением короткими оттопыренными волосками. Гипокотиль бледно-вишневого цвета, до 15 мм длины, округлой формы, голый. Черешки первых листьев, до 5 мм длины, по краю опушены белыми торчащими редкими волосками до 0,8 мм длины.

В первой декаде мая вегетативный рост шалфея зеленого активизируется, появляются боковые побеги. В первом (эпикотильном) узле в пазухах первых двух листьев латеральные почки не развиваются, а закладываются со второго узла, в пазухах второй пары листьев. При этом рост главного побега продолжается и в течение всего онтогенеза опережает развитие побегов второго порядка. Схема ветвления завершается развитием коротких побегов третьего порядка, представленных скупенными на них листьями и зачатками цветочных почек. На главном побеге, начиная с третьего узла и во всех последующих 10-12 узлах, в пазухах супротивно расположенных листьев развиваются бутоны.

Начало цветения приурочено ко второй декаде мая. Цветки собраны по 4-6 в мутовки, расположенные в пазухах супротивных листьев. Цветение начинается функционированием цветков, расположенных на главном побеге. Порядок цветения акропетальный. Цветки пятичленные, обоеполые. Чашечка и венчик образованы пятью сросшимися своей основной частью в трубку листочками. Венчик разделен на две губы, из которых верхняя образована двумя, а нижняя - тремя лепестками. Верхняя губа вогнутая, нижняя губа более крупная (так как служит посадочной площадкой для насекомых), трехлопастная, с более крупной двухлопастной средней лопастью. Тычинок четыре, гнезда пыльников развиты неодинаково. В роде *Salvia* в связи с совершенным приспособлением к опылению определенными насекомыми каждый из пыльников двух имеющихся здесь тычинок превратился в своеобразное рычажное устройство, на одном конце которого находится вполне развитое верхнее гнездо пыльника, а на другом - обычно ложкообразный рудимент нижнего гнезда пыльника. Разросшийся в длинную нить связник подвижно закреплен на очень короткой тычиночной нити. В цветке имеются нектарники, являющиеся производными основания плодолистиков - диск с четырьмя лопастями, выделяющими нектар. Гинецей образован двумя плодолистиками с двумя гнездами, разделенными ложной перегородкой пополам, вследствие чего завязь становится четырехлопастной с одним семязачатком в каждой лопасти.

Разгар цветения шалфея зеленого приурочен к первой декаде июня. В этот период полноценно развитые растения достигают 25(30) см длины с развитыми четырьмя боковыми побегами и значительным количеством функционирующих цветков как на главном, так и на побегах второго порядка. Цветок шалфея зеленого, как и у других видов в роде *Salvia*, обладает комплексом признаков, свидетельствующих об их насекомоопылении. Цветки шалфея зеленого посещаются пчелами, которые в поисках нектара просовывают голову в трубку венчика, отодвигая внутрь и кверху ложкообразно расширенный рудимент нижнего гнезда пыльника, а находящееся на другом конце удлиненного связника фертильное гнездо пыльника ударяет по спинке насекомого, высыпая на нее пыльцу.

Параллельно с цветением начинается процесс завязывания и созревания плодов. Нередко после начала созревания плодов шалфея зеленого наблюдается появление новых зеленых побегов в основании главного стебля, а также нарастание его верхушки. Байковой [1] описано явление интенсивного

нарастания постфлоральной зоны шалфея зеленого, что объясняется влиянием благоприятных условий влажности во второй половине лета.

При плодах венчик опадает, чашечка остается и немного увеличивается. Она складчатая, шершаво-волосистая, обращенная вниз. Плод состоит из четырех односемянных, орешкообразных долей. Поверхность орешков гладкая, что свидетельствует об отсутствии приспособлений к анемохории. Однако, по нашим наблюдениям, осенью стебли растения долго сохраняются в сухом состоянии вместе с семенами, заключенными в сухие чашечки, что способствует распространению посредством ветра всего растения или отдельных обламывающихся ветром веточек с плодами, а следовательно, перенесению семян на достаточно далекие расстояния. Характерна также барохория (опадение семян под материнское растение), благодаря чему происходит закрепление видов-однолетников в последующих поколениях в характерных для них местообитаниях.

В литературе [2] имеются сведения, согласно которым шалфей зеленый рассматривается как остаток садовой культуры XVII века. Вид возделывается как неприхотливое садовое декоративное растение. Может быть рекомендован для оформления клумб и рокариев в засушливых условиях на глинистых обедненных почвах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байкова Е.В. Бюлл. Главного бот. сада. 173, 90-99, 1996.
2. Победимова Е.Г. Флора СССР. 21. 257-363. 1954.

Поступила 17.X.1997

ՄԱԶԱԾԱԾԿԻ ԳՈՒՅՆԻ ԺԱՌԱՆԳՄԱՆ ԲՆՈՒՅԹԸ ՈՒՂԻՂ ԵՎ ՀԱԿԱԴԱՐԶ
ՏՐԱՄԱԽԱՀՈՒՄՆԵՐԻՑ ՍՏԱՑՎԱԾ ՃԱՅՃԱԿՈՒՂԲԵՐԻ ՍՈՏ

Գ.Ա. ԳԱՍՊԱՐՅԱՆ

*Հայկական Գյուղատնտեսական Ակադեմիա,
ընդհանուր կենսաբանության ամբիոն, 375009, Երևան*

Ճահճակուղը - ռեցիպրոկ տրամախաչում - պոպուլյացիա

Հայաստանում մորթատու գազաններից հիմնականում բուծվում են ճահճակուղերը: Ներկայումս որոշակի հետաքրքրություն է ցուցաբերվում ճյուղի բուծման տարածաշրջանի ընդարձակման նկատմամբ: Անկանոն շուկայական հարաբերությունների պայմաններում անհետաձգելի հիմնախնդիր է մշակել գիտականորեն հիմնավորված ծրագիր՝ այդ կենդանատեսակի գենետիկական առանձնահատկությունների բացահայտման հաշվառմամբ, կուղբաբուծության զարգացման համար պրոբլեմ, որի վճռման ուղղությամբ հանրապետությունում համակողմանի ուսումնասիրություններ գրեթե չեն կատարվել [1, 2, 4]:

Նշենք, որ ճահճակուղերի օգտակար կենսատնտեսական հատկանիշների դրսևորման բնույթը նույնպես պայմանավորված է գենոտիպի և միջավայրի փոխազդեցությամբ: Ուստի տարբեր գենոտիպերով ճահճակուղերի ուղիղ և հակադարձ տրամախաչումներից ստացված հիբրիդների կենսատնտեսական հատկանիշների դրսևորման և ժառանգման օրինաչափությունները սահմանող փորձառական հետազոտությունների արդյունքները կարող են ունենալ գիտագործնական որոշակի նշանակություն:

Սույն հոդվածում ներկայացնում ենք մեր համալիր հետազոտություններից ճահճակուղերի ներտեսակային տարբեր տիպերի ուղիղ և հակադարձ տրամախաչումներից ստացված հիբրիդների մազածածկի գույնի ժառանգման բնույթին վերաբերվող փորձնական ուսումնասիրությունների արդյունքները:

Նյութ և մեթոդ: Փորձնական հետազոտությունները կատարվել են 1999-2001թ. ՀՀ Արմավիրի մարզի Ակնալճի ԲԲԸ-ն կուղբաբուծական տնտեսությունում: Մազածածկի սև, ստանդարտ և դեղնագույն ճահճակուղերի միջև կատարել ենք ուղիղ և հակադարձ տրամախաչումներ (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Փորձնական ճահճակուղերի տրամախաչումների սխեմա

Խմբերը	Ճահճակուղերի ներտեսակային տիպերը		Փորձնական կենդանիների գլխաքանակը	
	♀ ±	♂	♀ ±	♂
1	սև	ստանդարտ	14	3
2	ստանդարտ	սև	6	3
3	դեղնագույն	սև	1	1
4	սև	դեղնագույն	9	2

Ուսումնասիրությունների ընթացքում կիրառվել են հետազոտությունների հիբրիդացման, պոպուլյացիոն գենետիկական և կենսաչափական մեթոդները:

Արդյունքներ և քննարկում: Մորթատու գազանների մագաժածկի գույնը հանդիսանում է հիմնական սելեկցվող հատկանիշ:

Հանրահայտ է, որ մագաժածկի գույնը ձևավորվում է քստամազի և աղվամազի գույների համակցմամբ: Ընդ որում քստամազի գույնը վճռում է մագաժածկի գունավորման ընդհանուր ֆոնը, իսկ աղվամազի գույնը՝ նրբերանգները:

Իլյինան և Կուզնեցովը նշում են, որ բոլոր տեսակի մորթատու գազանների մոտ, բացի վայրի ստանդարտ գույնի տիպից, առաջացել են գունավոր ներտեսակային բազմաթիվ տիպեր [2]:

Ճահճակուղբերի ստանդարտային ("վայրի") մագաժածկի գույնը կարող է տատանվել դարչնագույնից մինչև մուգ դարչնագույնը՝ տարբեր աստիճանի արտահայտչականությամբ՝ գորշ, դեղնամարնջագույն, մոխրագույն, երբեմն էլ մանուշակագույն նրբերանգներով:

Սև ճահճակուղբերը ըստ մագաժածկի գույնի հանդիսանում են դոմինանտ մուտանտներ, իսկ դեղնավունը ռեցեսիվ մուտացիայի արդյունք է [2]:

Հարկ ենք համարում նշել, որ մասնագիտական գրականության մեջ ընդամենը նշվում է ճահճակուղբերի մագաժածկի ժառանգման բնույթը, առանց հաշվի առնելու ուղիղ և հակադարձ տրամախաչումների ժամանակ հիբրիդային սերնդի ծնողական ձևերի դերը [1-3]:

Ուստի, այդ տեսանկյունից որոշակի հետաքրքրություն են ներկայացնում մեր փորձերի արդյունքները և դրանցից բխող եզրահանգումները: Միաժամանակ նշենք, որ հեղինակները մի կողմից ներկայացնում են ճահճակուղբերի գենոտիպերը (դոմինանտ և ռեցեսիվ), մյուս կողմից նշում են հիշյալ գենոտիպերով ներտեսակային տիպերի տրամախաչումներից ստացված հիբրիդների մենդելացվող հատկություններից մագաժածկի գույնի ժառանգման բնույթի այլ արդյունքներ [3]: Այսպես, ստանդարտ x դեղնագույնի F_1 -ի սերունդները ստացվում են 100% ստանդարտ մագաժածկով, իսկ դեղնագույնի գենոտիպը հոմոզիգոտ ռեցեսիվ է (kk) [3]: Ստանդարտ x հոմոզիգոտ սև (zz գենոտիպով) գուգակցությունից ստացված F_1 -ը 100% լինում է մագաժածկի շերտավոր գունավորումով: Դեղնագույն x հոմոզիգոտ սև գուգակցությունից 100% ստացվում են շերտավոր գունավորմամբ մագաժածկով ձագեր:

Փորձնական հետազոտությունների ժամանակ ուղիղ և հակադարձ տրամախաչումների չորս համակցություններով ձևավորել ենք 8 բույն, որտեղ ընդգրկվել են 30 մայր ճահճակուղբեր (23-ը սև 76.66%, 6-ը ստանդարտ 20.0% և 1 դեղնագույն մագաժածկով՝ 3.34 %)՝ Նշենք, որ այդ ընթացքում տնտեսությունը ունեցել է ընդամենը 6 ստանդարտ և 1 դեղնագույն մայրացու ճահճակուղբեր:

Ճահճակուղբերի ներտեսակային տիպերի ուղիղ և հակադարձ տրամախաչումների դեպքում մագաժածկի գույնի ժառանգման բնույթի պարզաբանման նպատակով վերլուծենք 2-րդ և 3-րդ աղյուսակներում բերված տվյալները: Այսպես, հիբրիդային առաջին սերնդում վերոնշյալ ներտեսակային տիպերի չորս գուգակցություններում ցայտուն կերպով դրսևորվում է սեռի հետ կապակցված ժառանգման տիպը. առաջին համակցությունում 14 սև մագաժածկով մայրերի և ստանդարտային 3 արուի գուգակցությունից ստացվել

է 45 ծագ, որից 39-ը կամ 87.7 %-ը՝ սև մազածածկով և 6-ը՝ ստանդարտ գույնի: Ըստ երևույթին, այս տարբերակում մայրերից երկուսը եղել են հետերոզիգոտ գենոտիպով, որոնցից և ստացվել են ստանդարտային գույնի մազածածկով ծագեր: Երկրորդ համակցությունում 6♀ ստանդարտ $\times 3\text{♂}$ սև զուգակցությունից ընդամենը ստացվել են 23 ծագ, որից 17-ը կամ 74.0%-ը՝ ստանդարտային, 3-ը՝ շերտավոր գունավորմամբ և 3-ն էլ՝ սև մազածածկով: Համակցությունների այս տարբերակում նույնպես գերակշռում է մայրական (ցիտոպլազմատիկ) ժառանգականությունը, իսկ շերտավոր և սև մազածածկով ծագերի ստացումը տվյալ պարագայում, ըստ երևույթին, պայմանավորված է ստանդարտ ճահճակուղբերի ըստ մազածածկի գույնի ոչ մոնոմորֆ գենոտիպով:

Աղյուսակ 2. Ճահճակուղբերի մազածածկի գույնի բաշխումը F_1 -ում ըստ համակցությունների

Կոմբի- մա- ցիա- ներ	F_1 -ի ծնողական ձևերը									Ստացվել են F_1 -ի սերունդներ				
	սև			ստանդարտ			դեղնագույն			Ընդա- մենը	Այդ թվում			
	n	♀	♂	n	♀	♂	n	♀	♂		սև	ստան- դարտ	շեր- տա- վոր	դեղ- նա- գույն
1	14	♀	-	3	-	♂	-	-	-	45	39	6	-	-
2	3	-	♂	6	♀	-	-	-	-	23	3	17	3	-
3	1	-	♂	-	-	-	1	♀	-	5	-	-	5	-
4	9	♀	-	-	-	-	2	-	♂	10	10	-	-	-

Երրորդ համակցությունում 1♀ դեղնագույն և 1♂ սև զուգակցությունից ստացվել են 5 շերտավոր մազածածկի գույնով ծագեր, այսինքն արձանագրվել է հետազոտվող հատկանիշի գծով կոդոմինանտավորում: Նշենք, որ տվյալ դեպքում սև մազածածկը, որպես դոմինանտ հատկանիշ, լրիվ չի գերիշխել, այլ ժառանգվել է միջանկյալ բնույթով:

Չորրորդ համակցությունից (9♀ սև $\times 2\text{♂}$ դեղնագույն) ընդամենը ստացվել է 10 ծագ, բոլորն էլ սև մազածածկով: Ինչպես տեսնում ենք, համակցությունների այս տարբերակի արդյունքները նույնպես հավաստում են ցիտոպլազմատիկ ժառանգականության առկայությունը՝ սեռի հետ չղթայակցված ձևով:

Հիբրիդային երկրորդ սերունդ ստանալու նպատակով F_1 -ի բազայի վրա ձևավորել ենք 8 բուն հիմնականում F_1 -ը մազածածկի գույնի միատարրությամբ՝ «իր մեջ» բուծման մեթոդով (աղ.3): Աղյուսակի տվյալների վերլուծությունը ցույց է տալիս, որ F_2 -ում դարձյալ գերակայում է մայրական ժառանգականությունը (բուն 2, 4, 5, 6, 7 և 8), որտեղ նույնպես դրսևորվել է սեռի հետ չղթայակցված ժառանգման երևույթը:

Այսպիսով, փորձառական հետազոտությունների արդյունքում սահմանվել են ճահճակուղբերի մազածածկի գույնի ժառանգման բնույթի հետևյալ տիպերը՝ սեռի հետ չղթայակցված, թեր դոմինանտավորում և կոդոմինանտավորում, ինչպես նաև F_2 -ում ճեղքավորում:

Ճահճակուղբերի գործնական սելեկցիայում, մասնավորապես Ակնալիճի

Աղյուսակ 3. Ճահճակուղբերի մագաժածկի գույնի բաշխումը F_1 և F_2 սերունդներում

Բների h/h	F ₁ -ի ծնողական ձևերը									Ստացվել են F ₁ -ի սերունդներ				F ₂ -ի ծնողական ձևերը									Ստացվել են F ₂ -ի սերունդներ					
	ստանդարտ			սև			դեղնագույն			Ընդա- մենը	Այդ թվում				ստանդարտ			սև			դեղնագույն			Ընդա- մենը	Այդ թվում			
	ո	♀	♂	ո	♀	♂	ո	♀	♂		սև	ստան- դարտ	շեր- տա- վոր	դեղ- նա- գույն	ո	♀	♂	ո	♀	♂	ո	♀	♂		սև	ստան- դարտ	շեր- տա- վոր	դեղ- նա- գույն
1	2	♀	-	1	-		-	-	-	9	-	6	3	-	4	♀	1♂	1	♀	-		-	-	11	1	10	-	-
2	1	-	♂	4	♀	-	-	-	-	10	10	-	-	-	-	-	-	5	♀	1♂	-	-	-	17	14	2	1	-
3	1	-	♂	6	♀	-	-	-	-	10	5	5	-	-	1	♀	1♂	2	♀	-	-	-	-	5	1	4	-	-
4	-	-	-	4	♀	-	1	-	♂	9	8	1	-	-	1	♀	-	3	♀	1♂	-	-	-	4	3	-	-	1
5	2	♀	-	1	-	♂	-	-	-	7	3	4	-	-	-	-	-	3	♀	1♂	-	-	-	11	11	-	-	-
6	1	-	♂	4	♀	-	-	-	-	16	15	1	-	-	1	♀	-	1	♀	1♂	-	-	-	4	2	2	-	-
7	-	-	-	4	♀	-	1	-	♂	10	10	-	-	-	-	-	-	4	♀	1♂	-	-	-	10	6	2	-	2
8	2	♀	-	1	-	♂	1	♀	-	12	-	7	5	-	4	♀	1♂	2	♀	-	-	-	-	22	5	16	-	1

Ծանոթություն *) բաց դարչնագույն նրբերանգով:

ԲԲԸ-ն համար, կարևոր նշանակություն ունի մազածածկի գույնով ձևավորման փուլում գտնվող տնտեսության զագանների ներտեսակային ցանկալի տիպի ստեղծումը, քանզի արդի պայմաններում ճյուղի արդյունավետությունը զգալի չափով պայմանավորված է խնդրի առարկա պրոբլեմի ճիշտ վճռումով:

Գրականություն

1. *Արակեյան Մ.Ա.* Биолог. журн. Армении, 30, 8, 3-11, 1977.
2. *Արутյանյան Վ.Ս.* Автореф. канд. дисс., 23с., М., 1981.
3. *Ильина Е.Д., Кузнецов Г.А.* Основы генетики и селекции пушных зверей. М., “Колос”, 275, 1983.
4. *Փարսնյան Ե.Ա.* Известия АН Арм. ССР, 12, с.53, 1963.
5. *Смирнов В.* Песцы, нутрии, ондатры., М., 127-155, 2001.

Ստացվել է 01.IV.2002

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ФУНГИЦИДА МОНСЕРЕНА В КАРТОФЕЛЕ

К.В.АВETИСЯН

*Научный центр земледелия и защиты растений, МСХ РА,
378312, Эчмиадзин, Мердзаван*

Тонкослойная хроматография - монсерен - картофель

В комплексе мероприятий, направленных на получение высокого урожая, важное значение имеет своевременная борьба с сорняками, вредителями и возбудителями заболеваний сельскохозяйственных культур, против которых применяются пестициды [1].

Против парши картофеля высокую эффективность проявил фунгицид монсерен, производства фирмы Байер.

Монсерен N / (4-хлорфенил)-метил-/N'-циклопентил-N' фенилуреа это бесцветный порошок с эмпирической формулой $C_{19}H_{21}Cl_2O$. Молекулярная масса 328,8.

Цель нашей работы заключалась в разработке метода определения остаточных количеств фунгицида монсерена в картофеле.

Материал и методика. Принцип разработанного нами метода заключается в хроматографическом определении монсерена в тонком слое пластинки "Силуфол".

Экстракцию монсерена из картофеля производили ацетоном. Растертую среднюю пробу (25-30г) заливают ацетоном до покрытия пробы и ставят на 1 час на аппарат для встряхивания. Экстракцию проводят еще дважды, каждый раз встряхивая по 20 мин. Полученные ацетоновые экстракты соединяют и в случае окрашивания помещают в колбу с 5г активированного угля, оставляя на 30 мин в теплой (30-40°) водяной бане, затем фильтруют через фильтровальную бумагу. Обесцвеченный ацетоновый экстракт, содержащий воду, смешивают с равным по объему петролейным эфиром в делительной воронке, взбалтывают, затем петролейный эфир отделяют, пропуская через слой ваты с безводным сернокислым натрием. Экстракт упаривают на ротационном испарителе. Остаток переносят на пластинку и хроматографируют.

Пробу наносят на пластинку, слева и справа от нее наносят стандартные растворы монсерена, содержащие 5, 10 мкг препарата. Пластинку высушивают на воздухе и опускают в хроматографическую камеру с подвижной фазой гексан-ацетон (60:40). Когда фронт растворителя поднимается на 10 см, пластинку вынимают и оставляют на несколько минут на воздухе для полного испарения подвижного растворителя.

Пластинку обрабатывают одним из двух проявителей:

1. Смесью 0,4%-ного ацетонового раствора бромфенолового синего с 2%-ным водным раствором азотнокислого серебра в равных объемах. Для осветления фона пластинку опрыскивают 2%-ным водным раствором лимонной кислоты.

2. Аммиаком серебра (в 5 мл дистиллированной воды растворяют 0,5 г нитрата серебра, прибавляют 5-10 мл аммиака и доводят ацетоном до 100 мл). После опрыскивания и высушивания на воздухе до удаления запаха аммиака хроматограмму облучают УФ-светом.

При использовании первого проявителя получаются синие пятна на желтом фоне пластинки. При опрыскивании вторым реагентом проявляются коричневые пятна.

Rf монсерена - 0,51.

Результаты и обсуждение. Нами определена метрологическая характеристика метода:

Чувствительность метода - 1 мкг в пробе;

Воспроизводимость метода - $89 \pm 5\%$;

Предел обнаружения - 0,04 мг/кг;

Стандартное отклонение - 5,84;

Относительное стандартное отклонение - 6,57.

Количественное определение фунгицида монсерена производят по формуле: $X = \frac{A}{B}$ [2], где X - содержание препарата в пробе в мг/кг; A - количество препарата, найденное путем визуального сравнения со стандартным раствором; B - навеска анализируемой пробы в граммах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бажанова Н.В., Арутюнян Ж.А., Аветисян К.В., Алтунян М.Г., Аджемян Л.А. Методы определения микроколичеств гербицидов, фунгицидов и динамика их детоксикации в объектах окружающей среды, 140, Ереван, 1986.
2. Клисенко М.А., Александрова Л.Г. Определение остаточных количеств пестицидов, 248 с., Киев, 1983.

Поступила 1.XI.2001

**BACILLUS POLYMYXA ՏԵՍԱԿԻ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՅՈՒՐԱՅԱՏՈՒԿ
ՖԻԶԻՈԼՈԳԱԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՅԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ**

Ա.Ս. ՄԱԼԽԱՍՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ, 378510, ք. Արուլյան

Bacillus polymyxa - ֆիզիոլոգիա - կենսաքիմիա

Բնության մեջ աերոբ սպորավոր բակտերիաները տարածված են ամենուրեք, հիմնականում հանդիպում են հողում և մեծ դեր են խաղում հողագոյացման պրոցեսներում:

Bacillus polymyxa տեսակի բակտերիաները օժտված են ուժեղ արտահայտված անտոգոնիստական հատկություններով և հանդիսանում են բազմաթիվ ֆիզիոլոգիապես ակտիվ միացությունների արտադրիչներ [1-4]:

Սեր նպատակն է եղել, ելնելով *B. polymyxa* տեսակի բակտերիաների ֆիզիոլոգա-կենսաքիմիական հատկությունների ուսումնասիրությունից, հատուկ ուշադրություն դարձնել այդ տեսակի դիֆերենցիալ հատկությունների մշակման վրա նրանց ճիշտ տեսակավորելու համար:

Լյուք և մեթոդ: Ուսումնասիրվել են աերոբ սպորավոր բակտերիաների *B. polymyxa* տեսակին պատկանող 34 շտամների ֆիզիոլոգա-կենսաքիմիական առանձնահատկությունները: Ուսումնասիրված շտամները ավանդադրված են ՄԱԴԿ-ում և զրանցված մանրէների տվյալների բազայում: Օգտագործվել են սպորավոր բակտերիաների համաշխարհային ենթակոմիտեի կողմից առաջարկված տեսակավորման մեթոդները [5]:

Ուսումնասիրվել են հետևյալ տեսները կուլտուրաների աճելու ունակությունը pH 5,7 թթվության, 50°-ի, սննդամիջավայրում 7% նատրիումի քլորի առկայության պայմաններում դիհիդրոքսիացետոնի, ուրեազի, լեցիտինազի առաջացումը, տիրոզինի քայքայումը, կազեինի և նատրիումի ցիտրատի յուրացումը, կաթի պեպտոնիզացիան, լիզին, օրնիտին դեկարբօքսիլազների, արգինինդիհիդրոլազի առաջացումը, չեզոք պրոտեազ արտադրելու ունակությունը, նատրիումի պրոպիոնատի յուրացումը, նատրիումի հիպուրատի հիդրոլիզը:

Արդյունքներ և քննարկում: *B. polymyxa* տեսակի բակտերիաները 1%-անոց գլյուկոզ պարունակող ՄՊԱ սննդամիջավայրի պայմաններում լավ աճում են, առաջացնելով կրեմագույն, սպիտակա-կրեմագույն, դեղնավուն և կրեմավարդագույն պիգմենտավորում: Գաղութների մակերեսը լինում է թափանցիկ կամ ոչ թափանցիկ, խոնավանման փայլով, մանր կնճռավոր, դժվար է վերցվում ազարի մակերեսից, այսինքն ներաճում են ազարի մեջ:

B. polymyxa տեսակի կուլտուրաների ֆիզիոլոգա-կենսաքիմիական առանձնահատկությունների ուսումնասիրություններից ստացված արդյունքները բերվել են աղյուսակում:

Ինչպես երևում է աղյուսակի տվյալներից, ուսումնասիրված 34 շտամներից 33-ը արտադրում են լիզին դեկարբօքսիլազ և արգինինդիհիդրոլազ, բացառությամբ 1-ական շտամի: Նրանք քայքայում են կազեինը, առաջացնում կաթի պեպտոնիզացիա, աճում սննդամիջավայրում pH 5,7 թթվության պայմաններում և առաջացնում դիհիդրոքսիացետոն, բացառությամբ 4 շտամի:

B. polymyxa տեսակի բակտերիաները չեն արտադրում լեցիտինազա, չեն

հիդրոլիզում նատրիումի հիպուրատը և չեն քայքայում տիրոզինը: Չեն արտադրում օրնիտին դեկարբօքսիլազ և չեն առաջացնում ուրեազ ֆերմենտ, բացառությամբ 2-ական շտամի: Բացառությամբ 4 շտամի, մնացած 30 շտամները չեն յուրացնում նատրիումի պրոպիոնատը, իսկ բացառությամբ 6 շտամի, մնացած 28 շտամները չեն աճում սննդամիջավայրում 7% նատրիումի քլորի առկայության պայմաններում:

Աղյուսակ 1. *B.polymyxa* տեսակի բակտերիաների ֆիզիոլոգա-կենսաքիմիական առանձնահատկությունները

Ուսումնասիրված ռեակցիաները	Շտամների քանակը ըստ ռեակցիաների	
	Դրական	Բացասական
Լիզին դեկարբօքսիլազ	33	1
Օրնիտին դեկարբօքսիլազ	2	32
Արգինին դիհիդրոլազ	33	1
Չեզոք պրոտեազ	13	21
Լեցիտինազ	0	34
Ուրեազ	2	32
Կազեինի քայքայումը	34	0
Նատրիումի ցիտրատի յուրացումը	12	22
Կաթի պեպտոնիզացիա	34	0
Նատրիումի հիպուրատի հիդրոլիզ	0	34
Տիրոզինի քայքայումը	0	34
Դիհիդրօքսիացետոնի առաջացումը	30	4
Նատրիումի պրոպիոնատի յուրացումը	4	30
Աճը 50°	10	24
Աճը pH 5,7	34	0
Աճը 7% NaCl	6	28

Քանի որ *B.polymyxa* տեսակի բակտերիաների մի մասի մոտ ստացվում են դրական, իսկ մյուս մասի մոտ բացասական տվյալներ, այդ պատճառով էլ չեզոք պրոտեազի արտադրումը 13 դրական և 21 բացասական շտամների մոտ, նատրիումի ցիտրատի յուրացումը 12 դրական և 22 բացասական շտամների մոտ պետք է համարել տատանվող հատկություններ:

Համեմատելով *B.polymyxa* տեսակի բակտերիաների և մեր կողմից ուսումնասիրված աէրոբ սպորավոր բակտերիաների այլ տեսակներին պատկանող կուլտուրաների ֆիզիոլոգա-կենսաքիմիական հատկությունները, պարզել ենք, որ *B.polimyxa* տեսակի բակտերիաներին յուրահատուկ ֆիզիոլոգա-կենսաքիմիական հատկություններ կարելի է համարել արգինին դիհիդրոլազի և դիհիդրօքսիացետոնի առաջացումը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Африкан Э.К. Бактерии-антагонисты и их применение. Ереван, 1959.
2. Гаспарян А.В. Биолог. журн. Армении, 1, 48, 28-32, 1995.
3. Гаспарян А.В., Абелян В.А., Африкан Э.К. Биохимия, 57, 6, 856-861, 1992.
4. Малхасян А.М. VI съезд Всесоюзного микробиологического общества. Тез. докл., Рига, 25-29 марта, 102, 1980.
5. Gordon R.T., Haynes N.C., Pang C.H. The genus *Bacillus*. Washington D.C. 1973.

Поступила 22.XI.2001

Ավանդադրված հոդվածների ռեֆերատներ
Рефераты депонированных статей
Abstracts of deponated articles

Биолог. журн. Армении, 1-2 (54), 2002

УДК 576.895.132

**К ГЕЛЬМИНТОФАУНЕ РЫБ ПРУДОВЫХ ХОЗЯЙСТВ
АРАРАТСКОЙ РАВНИНЫ / Оганесян Р.Л. - Институт зоологии
НАН Армении - Ереван, 2002 - 5 с, - Библиогр. 10 назв. - Рус.
Деп. N 65 - БЖА 2002**

С целью выявления гельминтофауны рыб прудовых карповых хозяйств Араратской равнины из 4-х хозяйств было обследовано 1540 экземпляров промысловых рыб - карпов, толстолобиков и белых амуров (по методике И.Е. Быховской-Павловской, 1969). У рыб были обнаружены метацеркарии 4-х видов трематод, которые паразитируют в хрусталике глаза, вызывая его помутнение, приводящее к слепоте. Два вида трематод - *Diplostomum rutili* Razmashkin, 1969 и *D. mergi* Dubois, 1932 зарегистрированы впервые в фауне Армении. Приводится описание новых видов.

Диплостомы являются биогельминтами: цикл их развития происходит с участием двух промежуточных хозяев - пресноводных моллюсков (прудовиков) и рыб, дефицитных, рыбадных птиц, преимущественно чайковых. Они широко распространены во всех прудовых хозяйствах. Это объясняется их широкой специфичностью, наличием в прудах I промежуточных хозяев - прудовиков и обилием рыбадных птиц.

Արարատյան հարթավայրի արհեստական լճակային տնտեսություններից հետազոտվել են ձկների 1540 նմուշներ: Հայտնաբերվել են 4 տեսակ տրեմատոդներ, որոնցից 2 տեսակը *Diplostomum rutili* Razmashkin, 1969 և *D. mergi* Dubois, 1932 նոր են Հայաստանի հելմինթոֆաունայի համար: Նրանք մակաբուծում են աչքի ռուպնյակում: Այդ տրեմատոդները բնորոշվում են: Տրվում է նրանց նկարագրությունը:

1540 samples of fishes from pond farms of the Ararat valley have been investigated. 4 species of the trematodes of the fishes from these farms have been found, they are parasite in the eyes. 2 of them are new for Armenian helminthfauna - *Diplostomum rutili* Razmashkin, 1969 and *D. mergi* Dubois, 1932.

Description of these species is given.

**ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТЕЙ КАТАЛАЗЫ И ОКСИДАЗ
D-, L-АМИНОКИСЛОТ У *ASPERGILLUS NIGER R-3* /
Папоян А.Р., Оганесян С.П., Габриелян Г.А., Мовсесян А.С.,
Давтян М.А. - Ереванский государственный университет - Ереван,
2001 - 5 с. - Библиогр. 10 назв. - Рус. Деп. N 66 - БЖА 2002**

Пероксисомы - это структурные образования стероидного типа, широко распространенные в клетках эукариотных организмов. Они обнаружены в клетках животных, высших и низших растений, а также в мицелиальных грибах и дрожжах.

В пероксисомах *Aspergillus niger R-3*, полученных методом изопикнического центрифугирования в градиенте 0,5 М сахарозы и 15% перколлы, исследованы активности как маркерных ферментов (каталаза, оксидаза D-аминокислот), так и оксидаза L-аминокислот. Из надосадка плесневого гриба были разделены свободные от ядерных фракций субклеточные подфракции: I фракция содержит митохондрии, II - легкие митохондрии и большие пероксисомы, III - пероксисомы, IV - цитозоль.

Установлено, что при выращивании *A. niger R-3* на мелассе каталазная активность в I фракции составляет 25×10^3 мкМ, во II - 72×10^3 мкМ, в III - 200×10^3 мкМ и в IV - 170×10^3 мкМ.

Наибольшая активность оксидазы D-аминокислот обнаруживается в III фракции - 11,4 мкМ NH_3 на 1 г мицелия, во II и IV фракциях 3,8 и 5,18 соответственно, а в I - отсутствует.

Исследования активности каталазы во фракциях плесневого гриба *A. niger R-3*, выращенной на синтетической среде, содержащей 2 г глюкозы и 0,35 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, показали, что активность фермента более выражена в III и IV пероксисомальных фракциях, составляя 127×10^3 мкМ и 25×10^3 мкМ соответственно. Подобным образом распределяется активность оксидазы D-аминокислот: в III фракции она составляет 9 мкМ NH_3 на 1 г мицелия, в IV - 3,5 мкМ, во II - 5,0 мкМ. Активность оксидазы L-аминокислот не выявляется ни в одной из фракций.

При выращивании гриба *A. niger R-3* на среде, содержащей 0,5 г D-глюкозы и 0,087 г сульфата аммония, активность оксидазы L-аминокислот выявляется в IV фракции (3,1 мкМ), а активность оксидазы D-аминокислот - во II - 4,95 мкМ, III - 12 мкМ и IV - 4,9 мкМ.

Можно заключить, что, в зависимости от концентрации глюкозы и источника азота в питательной среде *A. niger R-3*, образуются различные популяции пероксисом, характеризующиеся различными активностями каталазы и оксидазы D-, L-аминокислот.

Aspergillus niger R-3 բորբոսանկից անջատվել են ենթաբջջային կառուցվածքներ (միտոքոնդրիումներ, պերօքսիսոմներ) իզոպիկնիկ ցենտրիֆուգմամբ 14000 պտ/ր 90 ր ընթացքում 0,5 М սախարոզի և 15% պերկոլի (11,29 գ/լ) անընդհատ գրադիենտում: Այս կառուցվածքներում հայտնաբերվել են կատալազի, D-, L-ամինաթթվային օքսիդազների ակտիվություններ:

A. niger R-3 - ուն այս ֆերմենտների առաջացումը կախված է սննդանիջավայրի շաքարի և ազոտի աղբյուրներից, ինչը վկայում է պերօքսիսոմալ տարրեր պոպուլյացիաների առաջացման մասին:

The subcellular structures (mitochondrium, peroxisomes) of *Aspergillus niger R-3* were separated by isopycnic centrifugation at 14000 g for 90 min at discontinuous gradient of 0,5 M sucrose and 15% percoll (11,29 g/l). In these structures were found out the activities of catalase and D-, L-amino acid oxidases.

The formation of these enzymes in *A. niger R-3* depends on sources of sugar and nitrogen in the growth medium, which characterize the formation of different populations of peroxisomes.

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Բարսեղյան Է.Խ., Արծրունի Ն.Ա., Դավթյան Մ.Ա. <i>Rana ridibunda</i> գորտի լյարդի արգինազի հետազոտությունը էՊՏԱ ուլ ինակտիվացումից և հետագա ռեստուցումից հետո	3
Արծրունի Ն.Ա., Բարսեղյան Է.Խ., Դավթյան Մ.Ա. <i>Rana ridibunda</i> գորտի լյարդի համեմատական հետազոտությունը մինչ մետամորֆոզը և նրանից հետո	9
Ջրբաշյան Ա.Ռ. Լուկլետոսների բացակայությունը և հիսթոնների լիակատար հեռացումը <i>Drosophila melanogaster</i> քրոմատինի պոլի (Ս) հաջորդականություններում	14
Յովհաննիսյան Կ.Ռ. Մատուտակի դերը երկարատև թրթռահարման ազդեցությունից կատալազա ֆերմենտի ակտիվության փոփոխության մեխանիզմում	18
Շահնազարյան Ս.Ա., Սամուկյան Դ.Վ., Յովհաննիսյան Ա.Ե., Ալեքսանյան Յու.Տ., Յակոբյան Է.Ն., Յակոբյան Գ.Ռ., Բարնուբիշվիլի Ն.Օ. Արբովիորսների և Յայաստանում նրանց տարածիչների շրջանառությունը	23
Ղազարյան Պ.Ա., Պեպանյան Ա.Ա., Սահակյան Լ.Ա. ՎԱՍ 195 պրեպարատի ազդեցությունը աղենիլային համակարգի վիճակի վրա հյուսվածքներում ճառագայթային ախտահարման ժամանակ	28
Ջաբարյան Ա.Ե., Գոնյան Ս.Ա., Սարգսյան Ն.Ա. Որոշ հակաուռուցքային պրեպարատների ազդեցությունը լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման և օքսիդավերականգնման հավասարակշռության վրա	33
Ջաբարյան Ա.Ե., Սուքիասյան Ա.Ռ. Լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման և հակաօքսիդիչ ֆերմենտային համակարգի կախվածությունը դեղաբույսերի թուրմերի վրա ջերմային ազդեցությունից	38
Ավետիսյան Ի.Վ., Ջանփոլադյան Ե.Գ. Ֆոսֆոլիպիդների կարգավորող դերը ուշացած ճառագայթային ախտահարումների պաշտպանողական ներգործության ղեպում	43
Ղանիելյան Լ.Թ. Օրգանիզմի ինունաակտիվացումը և նրա փոխանցումը հետագա սերունդներին «Hong» բակտերիցիդինի օգտագործման ժամանակ որպես ինունադրոլիչ	48
Ղանիելյան Լ.Թ., Գոգինյան Վ.Բ. Բակտերիցիդին «Hong» ի ազդեցությունը էմբրիոնների և ճտերի ինունային համակարգի վրա էմբրիոգենեզի վաղ շրջանում	56
Փայծաղի ռեակտիվ փոփոխությունները լյարդի հետվնասվածքային ռեզեներացիայի պայմաններում	60
Կոզակ Վ.Մ., Յարությունյան Կոզակ Բ.Ա., Յեքիմյան Ա.Ա., Գրիգորյան Գ.Գ., Օրբելյան Գ.Ա. Կատվի կողմնային ծնկաձև մարմնի ներյուններում շարժվող գրգռիչների մասին ինֆորմացիայի տրանսֆորմացիա	65
Կոզակ Վ.Մ., Յարությունյան Կոզակ Բ.Ա., Յեքիմյան Ա.Ա., Ղազարյան Ա.Լ., Օրբելյան Գ.Ա. Տեսողական ինֆորմացիայի կենտրոնական մշակման հնարավոր մեխանիզմները	70
Գրիգորյան Ս.Ա., Գևորգյան Է.Ս., Մարտիրոսյան Ա.Ս., Սարկիսյան Ա.Յ. Անդատակային զգայական ազդակահոսքի դերը նշահամալիրի տարբեր կորիզների ֆունկցիոնալ կարգավորման գործընթացում	74
Յակոբյան Ն.Ա., Սարգսյան Ն.Վ., Աղամյան Ն.Յու., Կարապետյան Մ.Ա. Բուլբար շնչառական ներյունների ռեակցիան թալամուսի մեդիոդորսալ կորիզի գրգռման ժամանակ, նորմալում և հիպօքսիայի պայմաններում	80
Սարգսյան Ա.Ռ., Մկրտչյան Դ.Դ., Մելքոնյան Ա.Ա. Յարուցված պոտենցիալների պասիվ բաղադրամասեր առաջացնող համակարգերի պարամետրերի գնահատում: II. ԵՅԳ-ի Ե-ալիքի պարամետրերի իդենտիֆիկացիան	85

Պարոնյան Ա.Խ. Հայաստանի տարբեր էկոհամակարգերի ֆոտոտրոֆ բակտերիաների էկոլոգիան և կենսաբազմազանությունը	91
Պարոնյան Ա.Խ., Էլիսգյան Ա.Ա. Որոշ ֆոտոտրոֆ բակտերիաների վիտամինային պահանջներն ու վիտամին սինթեզող հատկությունները	99
Փանոսյան Հ.Հ., Թոգալաքյան Պ.Վ., Գասպարյան Ա.Վ., Պոպով Յու.Գ. Հայաստանի հողերից մեկուսացված նոր էքստրեմոֆիլ բացիլների ձևեր	104
Սովսիսյան Գ.Գ., Չարչոզյան Ա.Ա., Խուրշուդյան Հ.Պ. Արարատյան հարթավայրի աղուտներում բարդու ամերիկյան հիբրիդային սորտերի աճը	110
Ապրիկյան Ա.Վ., Ապրիկյան Վ.Ա., Հակոբյան Մ.Հ., Հարությունյան Ա.Լ. Գետնատանձի վիտամինային կազմը և նրա բուժիչ հատկությունները	115
Ապրիկյան Ա.Վ., Ապրիկյան Վ.Ա., Հակոբյան Մ.Հ., Հարությունյան Ա.Լ. Գետնատանձը որպես շաքարախտի բուժման դեղամիջոց և դիետիկ սնունդ	120
Գոգինյան Վ.Բ. Բակտերիցիդին «Hongoo»-ի ազդեցությունը «Զարյա-17» կրոսի հավերի ծվատվության վրա նրա անկման շրջանում	125

Համառոտ հաղորդումներ

Հայրապետյան Ա.Ա. Հայերի մոտ պարբերական հիվանդության մոլեկուլյար ախտորոշումը	129
Բուհիաթյան Ժ.Ս. Լերդախտի մզվածքի (<i>Teucrium hyrcanicum</i> -ի) ազդեցությունը արյան մակարդեղիության որոշ ցուցանիշների վրա	132
Սկրտչյան Վ.Կ., Թադևոսյան Լ.Գ. Հեմոստազի վիճակը փորձարարական սթրեսի պայմաններում	135
Սելբոնյան Ն.Ն., Սարգիսյան Ի.Գ., Ղազարյան Կ.Վ. Առնետների միոկարդի մազանոթների ռեակցիան կապույտ գոյացության քայքայումից հետո	139
Համբարձումյան Գ.Ռ., Աբուլյան Յու.Հ., Ղազարյան Հ.Ս. Լակտոբակտերին-6 կենսապատրաստուկի ազդեցությունը հորթերի արյան ֆագոցիտային ակտիվության վրա	142
Թամրազյան Ա.Հ. Գլուտամինազա ֆերմենտի ուսումնասիրությունը խմորասնկերի և ինֆուզորիաների մոտ	146
Բալոյան Ս.Ս. Նոր բուսատեսակներ Կենտրոնական և Հյուսիսային Հայաստանի ֆլորիստիկական շրջանների համար	149
Հակոբյան Ժ.Ա. <i>Salvia viridis</i> L. (<i>Lamiaceae</i>) տեսակի կենսաբանական առանձնահատկությունները	153
Գասպարյան Գ.Ա. Մազածածկի գույնի ժառանգման բնույթը ուղիղ և հակադարձ տրամախաչումներից ստացված ճահճակուղբերի մոտ	156
Ավետիսյան Կ.Վ. Կարտոֆիլում մոնստերեն ֆունգիցիդի միկրոքանակությունների որոշումը	161
Սալխապյան Ա.Ս. <i>Bacillus polymyxa</i> տեսակի բակտերիաների յուրահատուկ ֆիզիոլոգա-կենսաքիմիական առանձնահատկությունները	163

Ավանդադրված հոդվածների ռեֆերատներ

Հովհաննիսյան Ռ.Լ. Արարատյան հարթավայրի լճակային տնտեսությունների ձկների հելմինթոֆաունայի մասին	165
Պապոյան Ա.Ռ., Հովհաննիսյան Ա.Պ., Գաբրիելյան Գ.Ա., Սովսեյան Հ.Ս., Ղալբյան Ս.Ա. <i>Aspergillus niger</i> R-3 բորբոսասնկերի բջիջներում կատալազի և D-, L-ամինաթթվային օքսիդազների ակտիվության ուսումնասիրությունը	166

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

Барсегян Э.Х., Арцруни Н.А., Давтян М.А. Изучение аргиназы печени лягушки <i>Rana ridibunda</i> после инактивации при действии ЭДТА и последующей реактивации	3
Арцруни Н.А., Барсегян Э.Х., Давтян М.А. Сравнительное изучение аргиназы печени лягушек <i>Rana ridibunda</i> до и после метаморфоза	9
Джержабьян А.Р. Отсутствие нуклеосом и полное удаление гистонов в поли (А) последовательностях хроматина <i>Drosophila melanogaster</i>	14
Оганесян К.Р. Роль солодки голой (<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.) в механизме изменения каталазной активности в условиях вибрации	18
Шахназарян С.А., Манукян Д.В., Оганесян А.С., Алексанян Ю.Т., Акопян Э.Н., Акопян Г.Р., Барнабишвили Н.О. Циркуляция арбовирусов и их переносчиков в Армении	23
Казарян П.А., Пепанян А.А., Саакян Л.С. Действие препарата ВАС-195 на состояние адениловой системы в тканях при радиационном поражении	28
Закарян А.Е., Гонян С.А., Саркисян Н.А. Действие некоторых противоопухолевых препаратов на перекисное окисление липидов и окислительно – восстановительное равновесие	33
Закарян А.Е., Сукиасян А.Р. Зависимость ПОЛ и антиоксидантной ферментной системы экстрактов лекарственных растений от теплового воздействия	38
Аветисян И.В., Джанполадян Е.Г. Регулирующая роль фосфолипидов в защитном эффекте поздних лучевых поражений	43
Даниелян Л.Т. Иммуноактивация организма и передача ее потомству при применении бактерицидина-«Hongo» как иммуностимулятора	48
Даниелян Л.Т., Гогинян В.Б. Влияние бактерицидина-“Hongo” на иммунную систему эмбрионов и цыплят в ранней стадии развития постэмбрионального периода	56
Оганесян А.М., Карапетян А.Ф. Реактивные изменения селезенки крыс, домашних кур и лягушек при посттравматической регенерации печени	60
Козак В.М., Арутюнян-Козак Б.А., Экимян А.А., Григорян Г.Г., Орбелян Г.А. Трансформация информации о движущихся зрительных стимулах нейронами латерального коленного тела кошки	65
Козак В.М., Арутюнян-Козак Б.А., Экимян А.А., Казарян А.Л., Орбелян Г.А. Возможные механизмы центральной обработки зрительной информации	70
Григорян С.С., Геворкян Э.С., Мартиросян А.М., Саркисян С.Г. Роль вестибулярной афферентной импульсации в функциональной настройке различных ядер амигдалы	74
Акопян Н.С., Саркисян Н.В., Адамян Н.Ю., Карапетян М.А. Реакция бульбарных дыхательных нейронов на раздражение медиодорсального ядра таламуса в норме и при гипоксии	80
Саркисян А.Р., Мкртчян О.А., Мелконян А.А. Оценка параметров систем, генерирующих пассивные компоненты вызванных потенциалов. II. Идентификация параметров b-волны ЭРГ	85
Паронян А.Х. Экология и биоразнообразие фототрофных бактерий различных экосистем Армении	91
Паронян А.Х., Элиазян А.А. Витаминпотребные и витаминпродуцирующие свойства некоторых фототрофных бактерий	99

Паносян О.А., Тозалакян П.В., Гаспарян А.В., Попов Ю.Г. Новые экстремофильные формы бацилл из почв Армении	104
Мовсесян Г.Г., Чарчоглян А.А., Хуршудян А.П. Рост американских гибридных сортов тополя на солончаках Арагатской долины	110
Априкян С.В., Априкян В.С., Акопян М.А., Арутюнян А.Л. Витаминный состав и лечебные свойства земляной груши	115
Априкян С.В., Априкян В.С., Акопян М.А., Арутюнян А.Л. Земляная груша как лекарственное сырье для сахарного диабета и диетическая пища	120
Гогинян В.Б. Влияние бактерицидина-"Hongo" на яйценоскость кур-несушек кросса "Заря-17" в период ее спада	125

Краткие сообщения

Айрапетян А.С. Молекулярная диагностика периодической болезни у армян	129
Бунатян Ж.М. Действие экстракта дубровника (<i>Teucrium hircanicum</i>) на некоторые показатели свертывания крови	132
Мкртчян В.К., Татевосян Л.Г. Состояние гемостаза при экспериментальном стрессе	135
Мелконян Н.Н., Саркисян И.Г., Казарян К.В. Реакция капилляров миокарда крыс на разрушение голубого пятна	139
Амбарцумян Г.Р., Абовян Ю.Г., Казарян А.С. Влияние биопрепарата лактобактерин-6 на фагоцитную активность крови телят	141
Тамразян А.А. Исследование глутаминазы у дрожжей и инфузорий	146
Балоян С.А. Новые виды для флористических районов центральной и северной Армении	148
Акопян Ж.А. Биология <i>Salvia viridis</i> L. (<i>Lamiaceae</i>)	152
Гаспарян Г.А. Характер наследования окраски волосяного покрова у нутрий при прямом и реципрокном скрещивании	156
Аветисян К.В. Определение микроколичеств фунгицида монсерена в картофеле	161
Малхасян А.М. Специфические физиолого-биохимические особенности бактерий вида <i>Bacillus polymyxa</i>	163

Рефераты депонированных статей

Оганесян Р.Л. К гельминтофауне рыб прудовых хозяйств Арагатской равнины	165
Папоян А.Р., Оганесян С.П., Габриелян Г.А., Мовсесян А.С., Давтян М.А. Исследование активностей каталазы и оксидаз D-, L-аминокислот у <i>Aspergillus niger</i> R-3	166

Biolog. J. Armenia, 1-2 (54), 2002

CONTENTS

Original articles

Barsegian E.Kh., Arzruni N.A., Davtian M.A. Study of <i>Rana ridibunda</i> frogs liver arginase after inactivation by EDTA and following reactivation	3
Arzruni N.A., Barsegian E.Kh., Davtian M.A. Comparative study of <i>Rana ridibunda</i> frogs liver arginase before and after metamorfosis	9
Jrbashyan A.R. The absence of nucleosomes and complete removal of histones in poly (A) stretches of <i>Drosophila melanogaster</i> chromatin	14

<i>Hovhannisyany K.R.</i> The role of <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. in the mechanism of changing catalase activity under conditions of vibration	18
<i>Shakhnazasyany S.A., Manukyan D.V., Hovhannesyany H.S., Alexanyany Yu.T., Hakopyany E.N., Hakopyany G.R., Barnabishvili N.O.</i> Circulation of arboviruses and their carrier in Armenia	23
<i>Ghazaryany P.A., Pepanyany A.A., Saakyan L.S.</i> Effect of VAS-195 preparation on the adenylic system condition in tissues at the radiation reverse	28
<i>Zakaryany A.E., Gonyany S.A., Sarkisyan N.A.</i> Influence of some anticancer preparations on lipid peroxidation and redox potential	33
<i>Zakaryany A.E., Sukiasyan A.R.</i> Depending of lipid peroxidation and the antioxidant enzyme system of drug plant extracts on thermal influence	38
<i>Avetisyan I.V., Janpoladyany E.G.</i> Regulating role of phospholipids in the protective effect in the late radiation injuries	43
<i>Danielyany L.T.</i> Immune activation of organism and its transfer to the generation when using bactericidin-"Hongo" as an immune stimulator	48
<i>Danielyany L.T., Goginyany V.B.</i> Effect of bactericidin-"Hongo" on the immune system of embryos and chicken hatching in the early stage maturity of postembryogenesis	56
<i>Hovhannesyany A.M., Karapetyany A.F.</i> Reactive changes of rats, domestic hens and frogs spleen at posttraumatic regeneration of liver	60
<i>Kozak W.M., Harutiunian-Kozak B.A., Hekimian A.A., Grigorian G.G., Orbelian G.A.</i> Transformation of information of moving visual stimuli by neurons of cat's lateral geniculate nucleus	65
<i>Kozak W.M., Harutiunian-Kozak B.A., Hekimian A.A., Kazarian A.L., Orbelian G.A.</i> Possible mechanisms of visual information central processing	70
<i>Grigorian S.S., Gevorgian E.S., Martirosian A.M., Sarkissian S.G.</i> The role of the afferent vestibular impulsation on the functional tuning of the different amygdaloid nuclei	74
<i>Akopian N.S., Sarkisian N.V., Adamian N.Yu., Karapetian M.A.</i> Bulbar respiratory neurons reaction on the stimulation of mediodorsal nucleus of thalamus under the normal and hypoxic conditions	80
<i>Sarkisyan A.R., Mkrtchian H.H., Melkonian A.A.</i> Estimation of parameters of systems generating passive components of evoked potentials. II. Identification of ERG's b-wave parameters	85
<i>Paronyany A.Kh.</i> Ecology and biodiversity of phototrophic bacteria of various ecosystems of Armenia	91
<i>Paronyany A.Kh., Eliazyany A.A.</i> Vitamins requiring and vitamins producing properties of some phototrophic bacteria	99
<i>Panosyan H.H., Tozalakyan P.V., Gasparyany A.V., Popov Yu.G.</i> New extremophilic forms of bacilli from the soils of Armenia	104
<i>Movsisyan G.G., Charchoghlyany A.A., Khurshudyan H.P.</i> Growth of American hybrid varieties of poplars on saline soils of Ararat valley	110
<i>Aprikyany S.V., Aprikyany V.S., Acopian M.A., Harutunian A.L.</i> Vitamin compound therapeutic properties of <i>Helianthus tuberosus</i>	115
<i>Aprikyany S.V., Aprikyany V.S., Acopian M.A., Harutunian A.L.</i> <i>Helianthus tuberosus</i> as a medical raw material for the treatment of diabetes and as a dietetic food	120
<i>Goginyany V.B.</i> Effect of bactericidin-"Hongo" on the egg-laying hens of the "Zarya-17" cross during the falling down period	125

Short communications

<i>Ayrapetyany A.S.</i> Molecular diagnostics of Familial Mediterranean Fever in Armenian population	129
--	-----

<i>Buniatyan G.M.</i> Effect of <i>Teucrium hyrcanicum</i> extract on some parameters of blood coagulation	132
<i>Mkrtchian V.K., Tatevosian L.G.</i> Condition of hemostasis during the experimental stress	135
<i>Melkonian N.N., Sarkisian I.G., Kasarian K.V.</i> The reaction of heart muscles capillaries after locus coeruleus lesion	139
<i>Hambardzumyan G.R., Abovyan Yu.H., Kazaryan H.S.</i> The effect of biological preparation Lactobacterin-6 upon phagocyte activity of calves' blood	14
<i>Tamrazyan A.H.</i> Investigation of enzyme glutaminase in yeasts and parameciums	146
<i>Baloyan S.A.</i> New species of plants for floristic regions of central and north Armenia	149
<i>Akopian J.A.</i> Biology of <i>Salvia viridis</i> L. (<i>Lamiaceae</i>)	153
<i>Gasparyan G.A.</i> The character of the inheritance of the colouring of hairy integument in direct and reciprocal crossing	156
<i>Avetisyan K.V.</i> Determination of micro-quantities of monseren fungicide in potato	161
<i>Malkhasyan A.M.</i> Specific physiological and biochemical peculiarities of bacteria of <i>Bacillus polymyxa</i> species	163

Abstracts of deponated articles

<i>Hovhannissian R.L.</i> Helminthfauna of the fish pond farms of the Ararat valley	165
<i>Papoyan A.R., Hovhannisyan S.P., Gabrielyan G.A., Movsesyan A.S., Davtyan M.A.</i> Investigation of the activities of catalase and D-, L-amino acid oxidases in <i>Aspergillus niger</i> R-3	166