

ISSN 0366-5119

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՏՐԱԼՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
АРМЕНИИ

BIOLOGICAL JOURNAL
of ARMENIA

Выходит с 1948 года на армянском, русском и английском языках

«Նախասփանի կենսաբանական հանդեսը» իրադարակվում է Նախասփանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիայի կողմից և փափագում է հողվածներ բուսաբանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաքիմիայի, կենսաֆիզիկայի, կենսաբեխնոլոգիայի, 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.Մ. Ավագյան, Մ.Ա. Դավթյան, Ժ.Ի. Տակոբյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Ռ.Մ. Նարոությունյան, Կ.Գ. Ղարաբաղյան, Ս.Խ. Մայրապետյան, Ս.Ն. Մովսիսյան, Ն.Ն. Ապինյան (պատասխանատու քարտուղար)

Խմբագրական խորհուրդ՝ Է.Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Ա.Ս. Աղաբալյան, Յու.Թ. Ալեքսանյան, Է.Յ. Գարրիբեյան, Ա.Ա. Գալոյան, Ա.Լ. Թախտաջյան, Բ.Տ. Ղարիբջանյան, 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, М.А.Давтян, К.Г.Карагезян, С.Х.Майрапетян, С.О.Мовсесян, Н.А. Апинян (ответственный секретарь)

Редакционный совет: Э.К.Африкян (председатель), А.С.Агабалян, Ю.Т.Алексамян, Э.Ц.Габриелян, А.А.Галоян, Б.Т.Гарибджанян, Л.Л.Осинян, А.Г.Паносян, К.С.Погосян, А.Л.Тахтаджян

Օրիգինալ հոդվածներ • Оригинальные статьи • Original articles

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 577.153

**НОВЫЕ ОБРАТИМЫЕ ИНГИБИТОРЫ ХОЛИНЭСТЕРАЗ НА
ОСНОВЕ АМИНОЭТИЛОВЫХ ЭФИРОВ
 α,β -ДЕГИДРОАМИНОКИСЛОТ**

А.А. ГРИГОРЯН*, А.А. АМБАРЦУМЯН*, М.В. МКРТЧЯН, В.О. ТОПУЗЯН**,
Г.П. АЛЕБЯН***

*НИИ Биотехнологии, 375056, Ереван

**Институт тонкой органической химии им. А.Л. Миндзояна НАН РА,
375014, Ереван

Синтезированы новые обратимые ингибиторы холинэстераз - диметиламиноэтиловые и 2-гексаметиламиноэтиловые эфиры N-замещенных α,β -дегидроаминокислот и их соответствующие четвертичные аналоги, всего 20 соединений. Определены значения IC_{50} для эритроцитарного АХЭ и плазменного БуХЭ человека. Показано, что эфиры, гексаметиламиноэтиловые производные, практически во всех случаях являются более сильными ингибиторами. Все соединения являются от 30 до 700 раз более специфичными к БуХЭ ингибиторами. Константы ингибирования одного из наиболее сильных ингибиторов (йодметилат гексаметиламиноэтилового эфира N-(2-метоксибензоил)- α,β -дегидрофенилаланина) для АХЭ имеют значения $K_i=11,48\pm 0,96$ мкМ и для БуХЭ - $K_i=0,127\pm 0,046$ мкМ; $K_i'=0,240\pm 0,08$ мкМ.

Սինթեզված են քլինիստերազների դարձելի նոր արգելակիչներ՝ N-սեղակալված α,β -դեհիդրոամինոէթիլների դիմեթիլամինոէթիլ և 2-հեքսամեթիլմինոէթիլ էստերներ, ընդհանուր թվով 20 միացություններ: Մարդու արյան երիթրոցիտների Սևտ և պլազմայի Բուխտ համար որոշվել են դրանց IC_{50} արժեքները: Ցույց է տրվել, որ հեքսամեթիլմինոէթիլ ածանցյալներին պատկանող էստերները զորժնականում համարյա բոլոր դեպքերում հանդիսանում են առավել ուժեղ արգելակիչներ: Այս միացությունները ավելի բարձր ընտրողականություն (30-700 անգամ) են ցուցաբերում Բուխտ-ի, քան Սևտ-ի նկատմամբ: Ուսումնասիրված միացություններից ամենաուժեղ արգելակիչի համար (N-(2-մեթօքսիբենզոիլ)- α,β -դեհիդրոֆենիլալանինի հեքսամեթիլմինոէթիլ էստերի յոդմեթիլատ) որոշվել են արգելակման հաստատունները՝ $K_i=11,48\pm 0,96$ մկМ (Սևտ) և $K_i=0,127\pm 0,046$ մկМ; $K_i'=0,240\pm 0,08$ մկМ (Բուխտ):

A set of 20 new reversible inhibitors of cholinesterase - dimethylaminoethyl and 2-hexamethylaminoethyl esters of N-substituted α,β -dehydroamino acids and their corresponding quaternary analogs were synthesized. The inhibiting potency of the mentioned compounds was tested by measuring IC_{50} values for human red cell acetylcholinesterase and human plasma butyrylcholinesterase. It was shown that esters of 2-hexamethylaminoethyl alcohol were stronger inhibitors almost in any case. All compounds were more selective (30 - 700 times) inhibitors for BuChE. The inhibition constant values of one of the strongest compound (methyl iodide salt of hexamethylaminoethyl ester of N-(2-methoxybenzoyl)- α,β -dehydrophenylalanine) were evaluated for AChE ($K_i=11,48\pm 0,96$ mkM) and BuChE ($K_i=0,127\pm 0,046$ mkM; $K_i'=0,240\pm 0,08$ mkM), respectively.

*Ацетилхолинэстераза - бутирилхолинэстераза-аминоэфиры
 α,β -дегидроаминокислот - обратимые ингибиторы холинэстераз
- значения IC_{50}*

Хорошо известно, что многие лекарственные препараты конструированы исходя из структуры ацетилхолина — химического компонента передачи нервного импульса. Препараты, конструированные исходя из этой модели, в настоящее время широко применяются в медицинской практике для лечения таких заболеваний, как паркинсонизм, болезнь Альцгеймера, старческое слабоумие различного происхождения, миастения Гревиса, некоторые сердечные заболевания, глаукома, язвы желудочно-кишечного тракта, а также в качестве миорелаксантов при хирургических вмешательствах [2]. Эти соединения в большинстве своем являются или обратимыми ингибиторами, или очень плохими субстратами холинэстераз. Типичными примерами препаратов — обратимых ингибиторов, являются арпенал, кватерон, мебедрол, а субстратов — дитилин и мивакуриум.

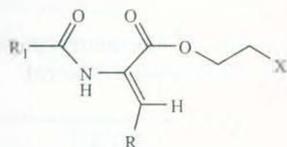
Поиск и разработка новых лекарственных средств в основном нацелены на создание препаратов, которые отличаются от своих предшественников избирательностью, эффективностью, минимальным проявлением побочных действий и т.д. Задача отбора перспективных веществ значительно облегчается, если проводится предварительная оценка их сродства к холинэстеразам. Как правило, высокие значения сродства к ацетилхолин эстеразе (АХЭ) и/или бутирилхолин эстеразе (БухЭ) являются показателями, которые позволяют ожидать высокую активность этих веществ в качестве лигандов холинэргической системы организма.

Ранее нами было показано, что вещества, синтезированные с включением в кислотный фрагмент ацетилхолина N-ацилированных аминокислот, являются субстратами БухЭ и обратимыми ингибиторами АХЭ [3]. В дальнейшем было выявлено, что замена фрагмента N-ациламино кислоты N-замещенной α,β -дегидроаминокислотой приводит к практически полной потере способности холинэстераз гидролизовать эти соединения [1]. Таким образом, был найден ранее не изученный класс соединений, на основании которых целесообразно конструировать новые обратимые ингибиторы холинэстераз. На наш взгляд, проведение исследований в направлении синтеза новых соединений аминоэфиров дегидроаминокислот может оказаться полезным также в поиске лекарственных средств для лечения болезни Альцгеймера и родственных заболеваний, особенно если учитывать современную точку зрения относительно непосредственной причастности не только АХЭ, но и БухЭ к данной патологии [5,10].

В настоящем сообщении приведены результаты сравнительного изучения взаимодействия диметиламиноэтиловых и 2-гексаметиламиноэтиловых эфиров N замещенных α,β -дегидроаминокислот и их четвертичных аналогов с эритроцитарной АХЭ и плазменной БухЭ человека.

Материал и методика. Синтез аминоэфиров N-замещенных α,β -дегидроаминокислот (структурные формулы приведены ниже) проведен согласно методу [4].

Биохимическая часть. В работе применялись АХЭ из эритроцитов [8] и БуХЭ высокой степени очистки из сыворотки крови человека, последняя была любезно предоставлена Локридж [9].



R и R₁ приведены в таблице 1.

Скорость холинэстеразного гидролиза ацетилтиохолина измеряли по модифицированному методу Элмана [7]. Реакционная среда в 2,5 мл конечного объема содержала реагенты в следующих концентрациях: фосфатный буфер 0,1М, pH 7,6, 5,5'-дितिобис-2-нитробензойная кислота (ДТНБ) 0,4 мМ, ацетилтиохолин 0.1 мМ, фермент в необходимом количестве и исследуемый ингибитор в различных концентрациях. Реакцию проводили в термостатируемой ячейке спектрофотометра "Specord UV-Vis" (ГДР) при температуре 25°. Расчет констант ингибирования (K_i и K_i') проводили по компьютерной программе Microsoft Excel на основе многомерного линейного регрессионного анализа по аналогии с подходом, примененном в [6]. *Молекулярное моделирование.* Для определения взаимосвязи структура-активность исследуемых соединений были рассмотрены некоторые параметры изолированных молекул эффикторов. Расчеты по минимизации энергий внутримолекулярных связей были проведены компьютерными программами MM2 и МОРАС, а визуализация конечных результатов произведена на основе программы Rупol.

Результаты и обсуждение. Для синтеза новых обратимых ингибиторов на основе α,β -дегидроаминокислот в качестве спиртовых фрагментов нами были выбраны два типа спиртов-диметиламиноэтанол и 2-гексаметиламиноэтанол и их кватернизированные аналоги. Первый из них, как известно, является третичной формой холина, а структура второго аминок спирта подобрана исходя из структуры галантамина. Галантамин - природный алкалоид, выделенный из клубней подснежника Воронова, является одним из сильнейших обратимых ингибиторов холинэстераз и применяется в медицинской практике при миастении, прогрессивной мышечной дистрофии, при остаточных явлениях после нарушения мозгового кровообращения и др [1]. Наш предыдущий опыт дал нам основание ожидать, что вещества, синтезированные с использованием фрагмента галантамина, должны иметь высокую активность в качестве обратимых ингибиторов холинэстераз.

Для всех синтезированных соединений определены значения IC_{50} (концентрация исследуемого ингибитора, при которой наблюдается 50%-ное торможение скорости холинэстеразного гидролиза 0,1 мМ АТХ) для эритроцитарной АХЭ и для плазменной БуХЭ человека (табл. 1).

Приведенные в табл. 1 результаты показывают, что все третичные аналоги холина являются значительно более слабыми ингибиторами для АХЭ, чем сами холиновые эфиры, а в случае БуХЭ такая разница отсутствует (кроме – серия № 4, ряд 1). Несколько иначе ведут себя 2-гексаметиламиноэтиловые эфиры - третичные аминок эфиры для АХЭ являются несколько более сильными ингибиторами, чем их четвертичные формы, а для БуХЭ картина аналогична наблюдаемой для соединений первого ряда. Во всех

рассматриваемых случаях при переходе от производных диметиламиноэтанола к производным 2-гексаметиламиноэтанола в основном наблюдается резкое увеличение ингибирующей силы соединения как по отношению к АХЭ, так и по отношению к БуХЭ. Все соединения являются более специфичными ингибиторами БуХЭ.

Таблица 1. Значения IC_{50} (мкМ) исследованных соединений для эритроцитарной АХЭ и плазменной БуХЭ человека (остальные условия приведены в тексте).

| № серии | R ₁ | R | Состояние атома азота | Ряд 1 | | | Ряд 2 | | |
|---------|--|----------------------------------|-----------------------|---------|----------|-------|---------|----------|------|
| | | | | АХЭ (А) | БуХЭ (В) | А/В | АХЭ (А) | БуХЭ (В) | А/В |
| 1. | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | Трет. | 1330 | 2,90 | 458,6 | 95,0 | 0,48 | 198 |
| | | | Четв. | 386,0 | 3,10 | 124,5 | 158 | 0,40 | 395 |
| 2. | 2-BrC ₆ H ₄ | C ₆ H ₅ | Трет. | 690,0 | 1,00 | 690,0 | 72,0 | 0,30 | 240 |
| | | | Четв. | 167,0 | 0,72 | 231,9 | 180 | 0,44 | 409 |
| 3. | 4-BrC ₆ H ₄ | C ₆ H ₅ | Трет. | 462,0 | 16,0 | 28,90 | 82,0 | 1,32 | 62,1 |
| | | | Четв. | 390,0 | 16,0 | 24,40 | 86,0 | 2,00 | 43,0 |
| 4. | 2-CH ₃ OC ₆ H ₄ | C ₆ H ₅ | Трет. | 250,0 | 0,70 | 357,1 | 4,50 | 0,10 | 45,0 |
| | | | Четв. | 29,00 | 0,16 | 181,3 | 34,0 | 0,40 | 85,0 |
| 5. | C ₄ H ₆ O' | C ₄ H ₆ O' | Трет. | 1840 | 12,0 | 153,3 | 106 | 0,52 | 204 |
| | | | Четв. | 185,0 | 9,20 | 20,11 | 340 | 0,85 | 400 |

Примечание: Приведены средние значения IC_{50} , среднеарифметическая погрешность – не более 15 %; * фурил

Вариация заместителей (R₁) во всех случаях приводит к ощутимым изменениям как значений IC_{50} , так и соотношений А/В. Более детальное исследование одного из сильных ингибиторов – серия № 4, ряд 2 четвертичная форма, показало, что он является конкурентным для АХЭ ($K_i=11,48\pm 0,96$ мкМ) и принадлежит к смешанному типу для БуХЭ ($K_i=0,127\pm 0,046$ мкМ; $K'_i=0,240\pm 0,08$ мкМ).

Таким образом, как показывают полученные результаты, синтез аминоэфиров α,β -дегидроаминокислот в качестве обратимых ингибиторов холинэстераз с использованием структурного фрагмента галантамина является плодотворным подходом.

Для выявления структурных особенностей диметиламиноэтиловых и 2-гексаметиламиноэтиловых производных α,β -дегидроаминокислот нами произведены расчеты, направленные на определение наиболее стабильных форм изолированных молекул изученных соединений. Результаты визуализации произведенных расчетов на примере четвертичных аминоэфиров из серии № 4 приведены на рис. 1. Как видно из приведенных изображений, при переходе от одного типа эфира к другому в пространственных структурах изученных веществ резких изменений не наблюдается.

Следовательно, только пространственные структуры изолированных молекул в обсуждаемом случае не могут служить основой для поиска

объяснений различных ингибирующих свойств данных веществ. По этой причине нам кажется целесообразным в дальнейшем компьютерное моделирование проводить в направлениях, учитывающих особенности каталитических поверхностей АХЭ и БуХЭ с привлечением докинг программ типа Autodock и Autogrid, а также программ и методов кванто-химических расчетов.

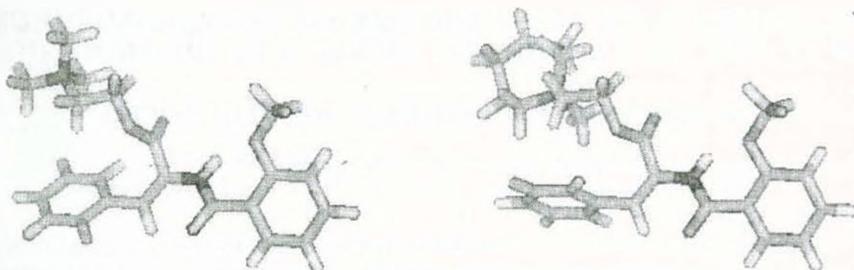


Рис. 1. Пространственное строение веществ из серии № 4: а - холиновый и б - четвертичная соль 2-гексагидроазепинэтилового эфира.

Поскольку в изученных рядах обоих типов эфиров наблюдаются непредсказуемые изменения свойств изученных производных к холинэстеразам, вероятно, дальнейшие поиски эффективных обратимых ингибиторов являются вполне перспективными.

Авторы выражают благодарность О. Локридж (Университет медицинского центра штата Небраска, США) за любезное предоставление высокоочищенной БуХЭ из плазмы человека, а также за полезные обсуждения, ценные советы и постоянную поддержку в ходе выполнения работы.

Данная работа проведена в рамках гранта Американского Фонда Гражданских Исследований и Развития (CRDF) № АВ2-2301-УЕ-02 (руководители проекта - О. Локридж, Г.П. Алебян).

ЛИТЕРАТУРА

1. Алебян Г.П., Топузьян В.О. Тез. докл. Химическая наука Армении на пороге XXI века, Ереван, 112, 2000.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Новая Волна, Москва, в 2 томах, 2001.
3. Топузьян В.О., Алебян Г.П., Мнджоян О.Л. Хим.-фарм. журн., 18(7), 798-802, 1984.
4. Топузьян В.О., Несунц А.С., Пароникян Р.Г. и др, Хим.-фарм. журн., 31(1), 21-24, 1997.
5. Ballard C.G., McKeith I.G. and O'Brien K. Neurology, 58, 43, 2002.
6. Cornish-Bowden A. Principles of enzyme kinetics. Butterworth & Co. 1976.
7. Ellman G.L., Coutney K.D., Andres V. Jr and Feather-Stone R.M. Biochem. Pharmacol., 7, 88-95, 1961.
8. Fairbanks G., Steck T.L. and Wallach D.F. Biochemistry, 10(13), 2606-2617, 1971.
9. La Du B.N., Bartels C.F., Noguera C.P. et al. Clin. Biochem., 23, 423-431, 1990.
10. Yu Q.S., Holloway H.W., Utsuki T. et al. J. Med. Chem., 42, 1855-1861, 1999.

Поступила 24.XII.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 612.015.1:538.3

РЕАЦИЛИРОВАНИЕ МЕМБРАННЫХ ФОСФАТИДИЛХОЛИНОВ ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ВНЕШНЕГО ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Г.Г. АРЦУНИ*, Т.Б. БАТИКЯН**, Ю.В. ТАДЕВОСЯН**

*НИЦ ЕрГМУ им. Гераци, 375025, Ереван

**Институт молекулярной биологии НАН РА, 375014, Ереван

Исследовали активность глицерилфосфорилхолин- и лизофосфатидилхолин-ацилтрансфераз в мембранах эритроцитов и митохондрий гепатоцитов крыс в норме и *in vivo* после 1-часового воздействия электростатических полей (ЭСП) напряженностью 200 кВ/м. Обнаружена активация этих ферментов в условиях воздействия ЭСП, а также зависимость этого процесса от типа исследуемых мембран и используемых экзогенных меченых субстратов.

Գլիցերիլֆոսֆորիլքոլին- և լիզոֆոսֆատիդիլքոլին ացիլտրանսֆերազների ակտիվության ուսումնասիրությունը առնետների էրիթրոցիտների և հեպատոցիտների միտոքոնդրիումների թաղանթներում նորմալում և *in vivo* մեկ ժամյա 200 կՎ/մ լարվածության էլեկտրաստատիկ դաշտերի (ԷՍԴ) ազդեցության ներքո: Չայտնաբերվել է նշված ֆերմենտների ակտիվացումը ԷՍԴ-ի ազդեցության պայմաններում, ինչպես նաև այդ պրոցեսի կախվածությունը հետազոտվող թաղանթների տեսակետից և օգտագործվող էկզոգեն նշավորված հիմնանյութերից:

The activities of glycerolphosphorylcholine- and lysophosphatidylcholine-acyltransferase of the membranes of rat erythrocytes and liver mitochondria were investigated in norm and after 1-hour *in vivo* influence of 200 kV/m electrostatic field (ESF). The activation of these enzymes under the influence of ESF, as well as the dependence of this process from the type of under investigation membranes and exogenous labelled substrates was observed.

Электростатическое поле - биомембраны - реацилирование - ацилтрансферазы

Ранее нами было показано [2-4], что воздействие внешних электростатических полей (ЭСП) приводит к модификациям липидного компонента эритроцитарных (ЭМ) и митохондриальных мембран (ММ), существенно влияя на их функциональное состояние. Липидная сбалансированность липопротеинового бислоя и его структурно-функциональное состояние обусловлены работой целого ряда мембраносвязанных липид-модифицирующих ферментных систем.

В работах [5-7] нами показано, что одночасовое воздействие внешних ЭСП напряженностью 200кВ/м приводит к изменениям активности ферментных систем деацилирования фосфолипидов (ФЛ) ЭМ и ММ крыс. Однако деацилирование ФЛ является лишь частью мембраносвязанной системы деацилирования-реацилирования ФЛ, обеспечивающей сбалансированность липидного компонента липопротеинового бислоя.

Целью данной работы являлось исследование активности ферментов системы реацилирования ФЛ ЭМ и ММ после действия ЭСП вышеуказанных параметров.

Материал и методика. Эксперименты проводили на двух группах белых беспородных крыс массой 120-150 г: первая группа – контрольная, вторая – крысы, подвергнутые одночасовому воздействию внешних ЭСП напряженностью 200 кВ/м при помощи установки конденсаторного типа [1]. Как в опытной, так и в контрольной группах исследовалось по 10 крыс.

Эритроциты, выделенные в 0,01M NaHCO₃ буфере (pH 7,4), подвергали гипотоническому шоку, а затем центрифугировали при 10 000 г в течение 30 мин для получения в осадке ЭМ.

Изолированные митохондрии получали методом, предложенным Масоловой с сотр. [8]. ММ приготавливали 10-кратным замораживанием/оттаиванием выделенных митохондрий с последующим центрифугированием при 10 000 г в течение 30 мин.

Белок определяли методом Лоури [14] с использованием реактивов Protein Assay Kit фирмы Sigma (США).

Активность ацилтрансферазы (АТ) в ЭМ и ММ определяли в трис-НСl буфере (pH 7,4), содержащем в качестве экзогенного субстрата по 0,5 мкКю КоА эфиры [1-¹⁴C]-олеиновой (ОК) и [1-¹⁴C]-пальмитиновой (ПК) кислот, 20 нмоль лизофосфатидилхолина (лизоФХ), как акцептора свободной жирной кислоты (ЖК), 1 мкМ MgCl₂ и суспензию мембран, соответствующую 200мкг белка.

После 30 мин инкубации в качающейся водяной бане при 37° реакцию останавливали приливанием 2 мл холодной смеси хлороформ-метанола (1:2). Экстракцию липидов осуществляли методом Блай и Дайера [11].

Липидные фракции разделяли методом двухэтапной одномерной ТСХ в следующих системах растворителей: хлороформ-метанол-уксусная кислота-вода (25:15:4:2, об/об) и петролейный эфир-диэтиловый эфир-муравьиная кислота (30:20:1, об/об) для разделения ФЛ и нейтральных липидов (НЛ) соответственно.

Радиоактивность проявленных в парах иода и идентифицированных хроматографически чистыми стандартами фирмы (Sigma, США) липидных фракций определяли в сцинтилляционной жидкости Брея на сцинтилляционном спектрометре Roche-Bioelectronique, модель SL-4221 (Франция). Статистическую обработку полученных данных проводили по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Ранее в экспериментах с использованием в качестве экзогенного субстрата 1-ацил-2-[1-¹⁴C]олеоил-ФХ нами было показано [5], что 1-часовое воздействие внешних ЭСП выше отмеченных параметров приводит к накоплению [¹⁴C]-лизоФХ и свободной [¹⁴C]-ОК по сравнению с контролем, что свидетельствует о повышении активности фосфолипаз А₁ и А₂ соответственно.

Кроме того, нами обнаружено многократное повышение лизофосфолипазной активности, являющееся компенсаторной реакцией утилизации избыточного лизоФХ, обладающего, как известно, цитолитическими и мембрану дестабилизирующими свойствами [16].

Противоположно направленным процессом утилизации лизоФХ является реакция его реацилирования. Причем, в зависимости от степени насыщенности жирная кислота может эстерифицироваться в положении С-1 или С-2 молекулы глицерилфосфорилхолина (ГФХ). В реакции, катализируемой ГФХ-ацилтрансферазой (ГФХ-АТ), образуется лизоФХ, эстерификация которого по оставшемуся гидроксилу в реакции, катализируемой лизоФХ-ацилтрансферазой, приводит к образованию диацильной формы ФХ.

Исходя из вышеизложенного, нами были проведены исследования эффектов 1-часового *in vivo* воздействия ЭСП на активность ГФХ- и лизоФХ-АТаз ЭМ и ММ с использованием КоА-эфиров насыщенной (ПК) и мононенасыщенной (ОК) жирных кислот, эстерифицируемых в С-1 и С-2 положениях глицеринового остова ФЛ соответственно.

При инкубации суспензии ЭМ с [1-¹⁴C]-олеоил-КоА обнаружено (рис.) незначительное (15%) повышение активности ГФХ-АТазы и понижение активности лизоФХ-АТазы ЭМ крыс, подвергнутых воздействию ЭСП по сравнению с нормой. В противоположность этим данным, инкубация ЭМ с [1-¹⁴C]-пальмитоил-КоА приводит к повышению как ГФХ-, так и лизоФХ-АТазной активности на 38% и 44% соответственно.

Как было отмечено выше, насыщенные жирные кислоты, в данном случае ПК, эстерифицируются исключительно в первом положении ФЛ. Исходя из этого, полученные данные позволяют предположить, что 1-часовое воздействие внешних ЭСП приводит к превалированию в ЭМ модификаций ФХ фракций, связанных с жирными кислотами в положении С-1 глицеринового остова.

Активация АТазных реакций, по всей видимости, является следствием интенсификации процессов катаболизма ФЛ ЭМ в условиях 1-часового воздействия ЭСП, выявленного нами ранее [4], и представляет собой альтернативный компенсаторный механизм стабилизации липидного компонента мембранного бислоя эритроцитов.

Ранее нами было показано [5], что в ММ печени крыс, подвергнутых воздействию ЭСП исследуемых параметров, незначительно изменяется активность ФЛаз А₁ и А₂ и практически не изменяется лизоФЛазная активность по сравнению с нормой.

Инкубация суспензии ММ с [1-¹⁴C]-пальмитоил-КоА, в отличие от ЭМ, не приводила к достоверным изменениям в содержании как [¹⁴C]-лизоФХ, так и [¹⁴C]-ФХ (рис. 1).

Однако при использовании в качестве экзогенного субстрата для реакции реацилирования [1-¹⁴C]-олеоил-КоА, по сравнению с нормой, нами обнаружено повышение (на 28%) активности ГФХ-АТазы.

Таким образом, воздействие ЭСП приводит к модификации мембраносвязанных процессов как деацилирования, так и реацилирования ФХ фракций. Несмотря на то что механизмы этих модификаций отличаются друг от друга в зависимости от типа мембран, они всегда носят компенсаторный характер и направлены на сохранение сбалансированности липопротеинового комплекса. Так, в работе [6] нами показано, что воздействие полей аналогичных параметров на фоне повышения общей суммы ФЛ в ЭМ и ММ и изменения абсолютного количества отдельных фракций ФЛ не приводит к существенным изменениям межфракционных соотношений отдельных типов ФЛ. Изменение мембраносвязанных процессов деацилирования и реацилирования ФХ фракций ЭМ и ММ, несомненно, приведет к изменению микровязкости липидного бислоя этих мембран, что может оказать существенное влияние на их структурное и функциональное состояние.

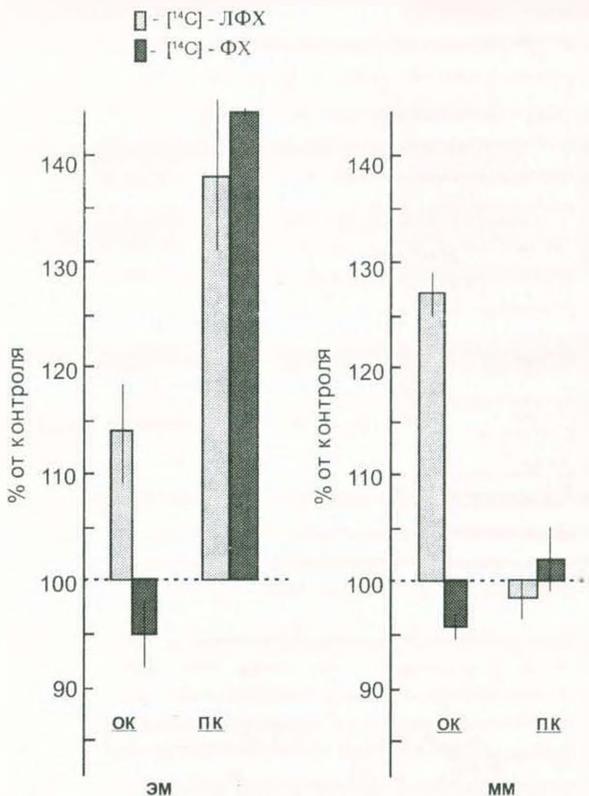


Рис. 1. Уровень меченых продуктов реакции, катализируемой ГФХ-АТой (ЛФХ) и ЛФХ-АТой (ФХ) ЭМ иММ крыс, подвергнутых одночасовому воздействию ЭСП (норма 100%).

Возможно, изменение активности ферментных систем цикла деацилирования-реацилирования ФЛ происходит вследствие непосредственного действия внешних ЭСП на структурную организацию этих ферментов. Подобное предположение основывается на собственных и литературных данных [9, 12, 13, 15] об изменении структурной организации биологических макромолекул, в частности белков, при воздействии ЭСП. Однако не исключено также, что обнаруженные нами сдвиги в активности изучаемых ферментов являются следствием не только непосредственного действия ЭСП на них, но и ее опосредованного действия через различные физико-химические и метаболические механизмы регуляции этих ферментных систем.

Изложенное дает основание полагать, что одной из возможных причин биологической активности ЭСП являются изменения активности мембраносвязанных липид-модифицирующих ферментов. Изменения в липидной компоненте мембран имеет существенное влияние на внутримембранные кооперативные механизмы, поддерживающие целостность мембран и, возможно, благодаря быстрым изменениям активности мембраносвязанных ферментных систем модификации липидов осуществляется ответная реакция мембранных структур на воздействие внешних ЭСП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арируни Г.Г. Мат-лы конф. молодых ученых, посвящ. XXVсъезду КПСС, Ереван, 32:33, 1975.
2. Арируни Г.Г., Тер-Маркосян А.С., Киракосян К.Г. Биолог. ж. Армении. 40 (5), 423-425, 1987.
3. Арируни Г.Г., Манукян Р.А., Баджиян С.А. Биолог. ж. Армении. 41 (1), 55-58, 1989.
4. Арируни Г.Г., Баджиян С.А., Манукян Р.А. Биолог. ж. Армении. 45 (1), 43-46, 1992.
5. Арируни Г.Г., Батикян Т.Б., Тадевосян Ю.В. Биохимия, 64 (11), 1514-1518, 1999.
6. Арируни Г.Г., Батикян Т.Б., Тадевосян Ю.В. Сб. научных трудов, посвящ. 70-летию ЕрГМУ, Ереван, 397-400, 2000.
7. Арируни Г.Г. Глобус науки, 1 (1), 33-37, 2001.
8. Масолова И.М., Горская А.И., Шольц К.Д., Котельникова А.Д. В кн. Методы современной биохимии, М, Наука. 45-47, 1975.
9. Оганесян О.В., Арируни Г.Г. Биофизика, 30 (6), 955-958, 1985.
10. Amiram U.K., Duschbanh C.C. Same effects of electric fields on red blood cells with remarks on electrocice red cell sizing. Brit.J.Hematol., 15 (6), 527-538, 1969.
11. Blagh E.G., Dyer W.I. Can. J. Biochem. Physiol., 37, 911-917, 1959.
12. Brown G.G. Electrostatic coupling between membrane proteins. FEBS Lett, 15, 260 (1), 1-5. 1990.
13. Kohler M., Friedrich J., Fidy J. Biochem. Biophys. Acta, 18, 1386(2), 255-288, 1998.
14. Lowry O.H., Rosebrough N.Y., Farr R.H., Randall P.Y. J. Biol. Chem., 193 (1), 265-275, 1951.
15. Rabinovitz J.R. J. Theoretical Biology, 99, 377-382, 1982.
16. Weltzein H.U. Biochim.Biophys.Acta., 559, 2, 259-267, 1979.

Поступила 21.III.2004

ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КРАСИТЕЛЕЙ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ НА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

А.А. АВЕТИСЯН*, М.Б. МАТЕВОСЯН**, В.А. ОГАНЕСЯН*, Е.Г. ЭЛБАКЯН*

*Ереванский физический институт, 375036

**Ереванский государственный университет, 375025

Исследовались фототоксичность фотосенсибилизаторов нового поколения - хлорина e_6 и фталоцианинов при разных температурах, а также явления при сочетании различных типов красителей с использованием линии *Drosophila melanogaster*. Показано, что при совместном применении света и фотодинамически активных красителей выживаемость дрозофил резко падала при повышении температуры, тогда как обычные красители не приводили к гибели насекомых при облучении и/или повышении температуры окружающей среды. Сочетание различных типов красителей в одних случаях приводило к увеличению фотодинамического воздействия, а в других - к частичному или практически полному исчезновению фотодинамического эффекта.

Աշխատանքը նվիրված է նոր սերնդի ֆոտոսենսիբիլիզատորների՝ ջլորին e_6 և ֆտալոցիանինների ֆոտոտոքսիկության ուսումնասիրմանը տարբեր ջերմաստիճաններում, ինչպես նաև այն երևույթների ուսումնասիրմանը, որոնք ի հայտ են գալիս տարբեր տիպի ներկանյութերի համատեղ կիրառման դեպքում, որպես փորձի օբյեկտ ընտրելով *Drosophila melanogaster* -ը: Ցույց է տրված, որ լույսի և ֆոտոդինամիկ տեսակետից ակտիվ ներկանյութերի համատեղ կիրառման ժամանակ դրոզոֆիլայի կենսունակությունը կտրուկ ընկնում է բարձր ջերմաստիճանների դեպքում, մինչդեռ սովորական ներկանյութերը չեն բերում միջատների ոչնչացմանը ճառագայթման և/կամ շրջակա միջավայրի ջերմաստիճանի բարձրացման դեպքում: Տարբեր տիպի ներկանյութերի համատեղ կիրառումը որոշ դեպքերում բերում էր ֆոտոդինամիկ ազդեցության ուժեղացմանը, իսկ այլ դեպքերում՝ ֆոտոդինամիկ էֆեկտի մասնակի կամ լրիվ վերացմանը:

The present work is dedicated to the investigation of new generation photosensitizers (chlorin e_6 and phthalocyanines) phototoxic activity by different temperatures, also the effects at combination of different dyes, using the model of *Drosophila melanogaster*. It has been shown that during the combination of light and photodynamically active dyes, the insects' survival was decreased while the temperature increased, whereas the simple dyes did not take to insects' destruction while illumination and/or environment temperature increasing. The combination of different dyes in some cases was affecting to the increasing of photodynamic effect, and in other cases to the particular or practically absolute disappearing of photodynamic effect.

Фотоиnсектициды - фотодинамика - хлорин e_n - фталоцианин

Наличие в пище определенных красителей, таких как акридиновый оранжевый (АО), приводит к гибели некоторых насекомых под солнечным светом. Это было показано еще в 1890 г. [9]. АО и другие красители с аналогичными свойствами были определены как фотосенсибилизаторы (ФС).

Была показана необходимость наличия кислорода для процесса фотосенсибилизации. Совместное действие трех факторов - света, ФС и кислорода было названо фотодинамическим процессом (ФДП). В настоящее время первичные физико-химические реакции при ФДП изучены довольно подробно и установлено, что в большинстве случаев первичным актом является генерация синглетного кислорода вследствие переноса энергии с возбужденного триплетного состояния красителя на неактивное триплетное состояние растворенного молекулярного кислорода. Синглетный кислород является чрезвычайно реакционным агентом, способным окислять любые биомолекулы, при этом в биосистемах отсутствуют биохимические защитные механизмы. Первые исследования по контролю популяций насекомых с использованием фотоактивных веществ (ксантенов) были проведены в работе Барбиери и др. [1], и было показано, что свет или ФС в отдельности не имеют токсичного эффекта. В дальнейшем исследования в этой области были расширены, с использованием целого ряда натуральных и синтетических фотодинамических инсектицидов, таких как ксантены, тиофены, акридины и др. Несмотря на различия в химических структурах ФС, основные закономерности проявления ФДП похожи: увеличение фототоксичности с увеличением дозы ФС, примерно одинаковые эффективные концентрации ФС для получения высокого уровня смертности насекомых, время проявления фотодинамического эффекта и т.д. [2-4, 7].

Фотодинамический эффект наблюдается во многих биологических системах. Фотосенсибилизированная инактивация дрожжей и бактерий используется для обеззараживания загрязненных микробами вод солнечным светом. Способность некоторых ФС накапливаться в значительных количествах, преимущественно в патологических тканях, таких как опухоли, атеромы или псориатические бляшки, стала предпосылкой для разработки нового фототерапевтического метода, который широко применяется для лечения и диагностики онкологических, инфекционных и других болезней [8].

Для увеличения лечебной эффективности фотодинамического метода в последнее время был синтезирован ряд новых красителей, обладающих большим сечением поглощения и квантовым выходом генерации синглетного кислорода.

Данная работа посвящена исследованию фототоксичности фотосенсибилизаторов нового поколения хлорин e_6 и фталоцианинов при разных температурах и различных явлениях при сочетании различных типов красителей с использованием линии *Drosophila melanogaster*.

Материал и методика. Опыты проведены на *Drosophila melanogaster* D-32 в лабораторных условиях. Культуры дрозофилы развивались в пробирках с сахарно-дрожжевой средой, которые хранили в термостате при температуре 22-25°. В качестве красителей использовали как фотодинамически активные сенсibilизаторы - хлорин e_6 (Институт молекулярной и атомной физики, г. Минск, Беларусь), Zn, Al и Mg фталоцианины (Fluka), родамин 6Ж, метиленовый синий, АО ("Реактив", Львов) (группа А), так и неактивные соединения- бриллиантовый зеленый, пиродин ("Реактив") и гемоглобин (группа Б). До начала опыта мух переводили в пустые пробирки (по 10-15

особей в пробирке) и через 1,5-2 ч вводили корм с добавлением одного или двух типов красителей. В процессе разработки методики было апробировано 2 способа введения мухам красителя - растворенного в густом сиропе или в сахарно-дрожжевой среде. Эксперименты проводили с концентрациями ФС в пределах 0,01-1 мМ. Примерно через сутки после введения корма проводили облучение.

В качестве фотостимулятора использовали солнечное излучение, узкодиапазонные галогенные лампы (540-570, 580-610, 650-700 нм), светодиоды (590, 630, 650, 670 нм) и П гармонику импульсного YAG:Nd лазера (532 нм) в зависимости от спектра поглощения красителя. Интенсивность облучения была не более 45 мВт/см² и экспозиция от 10 мин до 1.5 ч.

Результаты и обсуждение. *Исследование температурной зависимости ФДП.* На модели исследовали фотодинамическую активность ряда красителей в широком диапазоне температуры воздуха (15-35°) в экспериментальных пробирках. В контрольных пробирках (в темноте с красителем и облученные без красителя) выживаемость мух была 100% при всех применяемых дозах облучения и температурах.

Можно выделить 2 температурных режима облучения, при которых качественно различаются характер совместного воздействия света и красителей. При температурах до 25° с применением красителей группы Б выживаемость мух также была почти 100%, а при применении красителей группы А наблюдалась дозозависимая гибель (рис. 1). При высоких температурах (30-35°) при применении красителей группы Б мухи теряли подвижность.

При небольших экспозициях (до 10 мин) после прекращения облучения жизнеспособность мух полностью или частично восстанавливалась в зависимости от дозы облучения и концентрации красителя. При применении красителей группы А выживаемость дрозофил резко падала с повышением температуры. Гибель насекомых происходила в основном в течение первых суток после облучения (рис. 2), после чего численность мух практически не менялась, т.е. фотодинамические процессы завершаются к 24 ч после облучения. При высоких концентрациях красителей (~1мМ) гибель насекомых наблюдалась уже во время облучения, что свидетельствует о существовании механизмов, отличных от апоптоза. Из того обстоятельства, что мухи после прекращения облучения восстанавливались, следует, что красители группы Б не вызывали в облученном организме характерных для фотодинамического процесса биохимических реакций, приводящих через некоторое время к апоптозу или разрушению сенсibilизированных клеток. Увеличение фотодинамического эффекта при повышении температуры окружающей среды может иметь по крайней мере два различных механизма.

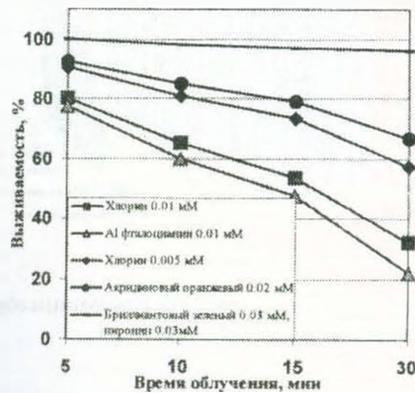


Рис.1. Выживаемость *Drosophila* при облучении солнечным светом 40 мВт/см².

Первый- высокие температуры ослабляют защитные функции всего организма, восстановление поврежденных клеточных компонентов происходит медленнее, и насекомые гибнут быстрее. Однако следует рассмотреть также другой механизм- при увеличении общей температуры или локальной температуры в местах накопления красителей происходит интенсификация ФДП. В каждом из этих двух случаев выбор красителя и оптимизация режимов применения фотохимического воздействия на биологические системы будут различными.

Эффективность фотодинамического воздействия при совместном применении двух красителей. Сочетание двух красителей в одних случаях приводило к увеличению фотодинамического воздействия (когда применялись широкополосное облучение и красители с взаимодополняющими спектрами поглощения, например, хлорин и фталоцианин), а в других случаях - к частичному (пиронин+ хлорин) или практически полному (бриллиантовый зеленый+хлорин) исчезновению фотодинамического эффекта (рис.2). Это скорее всего связано с тушением возбужденных состояний фотодинамического

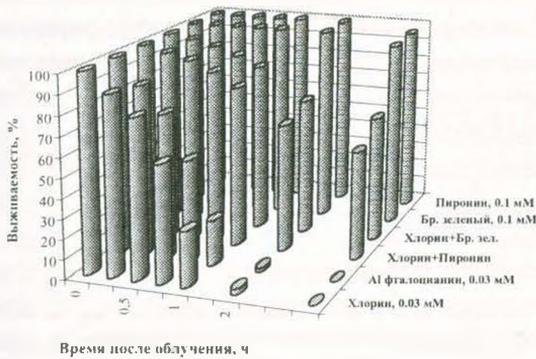


Рис. 2. Кинетика выживаемости *Drosophila* при облучении солнечным светом 40 мВт/см², 10 мин

красителя или синглетного кислорода неактивным красителем. Оценки показывают, что вследствие слабого поглощения (меньше 1%), оптической экранировкой излучения молекулами красителя можно пренебречь.

Таким образом, показано, что фотодинамические красители второго поколения могут быть применены для экологически чистого

контроля популяции насекомых. При этом в качестве источника фотоактивации ФДП может быть использовано солнечное излучение, интенсивность которого в летнее время достигает 70 мВт/см². Это позволяет обеспечить летальную дозу для насекомых примерно за 10 мин. Уменьшая концентрацию фотодинамически активного красителя или добавляя в корм тушитель ФДП, можно регулировать плотность насекомых в данной местности.

Фотоинсектициды представляют собой возможную альтернативу традиционным химическим инсектицидам, которым свойствен ряд недостатков, таких как токсичность для растений, животных и частично для людей, мутагенность, химическая стойкость, что приводит к загрязнению окружающей среды, и т.д. [5]. Фотодинамические соединения синтезируются или отбираются таким образом, чтобы темновая токсичность была бы на очень низком уровне и отсутствовал бы мутагенный эффект. К тому же

фотодинамические соединения под действием света разрушаются в течение 1-2 дней.

Выбранная нами экспериментальная модель также интересна с точки зрения исследования механизмов ФДП при разных температурах, так как дрозофилы могут долговременно существовать в широком диапазоне температур (+10 - +31°) [6], выявления первичных процессов при совместном применении красителей, а также изучения влияния ФДП на репродуктивные функции мух. Проведенные исследования могут помочь увеличить эффективность и безопасность фотодинамической терапии людей и расширить области применения ФДП в науке, медицине, сельском хозяйстве и пищевой промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Barbieri A.* Riv. Malariol, 7, 456-463, 1928.
2. *Ben Amor T. et al.* Photochem. Photobiol. 67, 206-211, 1998.
3. *Ben Amor T. and Jori G.* Insect. Biochem. Mol. Biol. 10, 915-925, 2000.
4. *Ben Amor T., Bortolotto L., Jori G.* Photochem. Photobiol. 71, 123-127, 2000.
5. *Ben Amor T and Jori G.* Photodynamics News. 6-8, 2001.
6. *Lints F.A., Lints C.V.* Nature New Biology., N.-Y., 229, 3, 86-88, 1971.
7. *Reibnitz C.A. J.* Photochem. Photobiol B: Biol., 18, 97-114, 1992.
8. *Anderson-Engels S., Johansson J., Svandberg S., Svandberg K.* Anal. Chem., 62, 19A - 27A, 1990.
9. *Spikes J.D.* Primary Photoprocesses in Biology and Medicine Plenum Press, Bensasson RV et al (Eds). New York, 209-227, 1985.

Поступила 06.X.2004



Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 581.1.032

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГАЛОФИТОВ АРАРАТСКОЙ РАВНИНЫ

Н.И. КОЧАРЯН, А.М. БАРСЕГЯН, А.Н. ЗИРОЯН, И.Г. МАТИНЯН

Институт ботаники НАН Армении, 375063, Ереван

Изучались физиологические характеристики основных эдификаторов местной флоры аридного и засоленного районов Араратской равнины. По показателям водного режима (содержание воды, транспирация, дефицит) важное значение в адаптации имеет жизненная форма: многолетники менее зависимы от условий увлажнения и засоления. Полученные данные выявляют адаптационные особенности растений различного типа фотосинтетического метаболизма (C_3 -, C_4 -НАД-МЭ и C_4 -НАДФ-МЭ формы).

Ուսումնասիրվել է Արարատյան հարթավայրի տեղական ֆլորայի արիդային և աղային հատվածների հիմնական եղիֆիկատորների ֆիզիոլոգիական բնութագրերը: Ըստ զրային ռեժիմի ցուցանիշները (ջրի պարունակություն, տրանսպիրացիա, ղեֆիցիտ) ադապտացիայում կարևոր նշանակություն ունի կենսածնը բազմամյա տեսակները ավելի քիչ են կախված խոնավության և աղային պայմաններից: Ստացված տվյալները արտահայտում են բույսերի տարբեր տիպի ֆոտոսինթետիկ մետաբոլիզմի (C_3 -, C_4 -NAD-me և NADF-me ձևեր) ադապտացիոն ընդունակությունները:

The physiological characteristics of the Ararat plain's arid and salt area basic edificators of the local flora have been studied. As regards the indices of the water regime (water contents, transpiration and deficiency), the vital forms are very important in adaptation process: the perennials are less dependent on water and salt conditions. The obtained data reveal the adaptation peculiarities of the plants' different types of photosynthetic metabolism (C_3 -, C_4 -NAD me and NADF me forms).

Галофиты - C_3 -, C_4 - растения - фотосинтетический метаболизм - водный режим - адаптация

Эколого-физиологические исследования растений в крайних условиях существования занимают важное место в общей проблеме приспособления растений к неблагоприятным факторам среды. Аридизация климата планеты способствовала естественному отбору растений на засушливых территориях в направлении жаро-, засухо-, холодо- и солеустойчивости видов. Этим требованиям отвечают галофиты, широко представленные на засоленных и аридных территориях.

Общей чертой всех галофитов является осуществление жизненных функций при значительно большем содержании солей по сравнению с мезофитами. Высокое осмотическое давление, создаваемое в тканях неорганическими ионами (в первую очередь Cl^- , Na^+ , K^+), приводит к высокой

водоудерживающей способности и позволяет экономно расходовать воду [7].

Целью наших исследований было изучение влияния засоления на физиологические особенности основных эдификаторов в условиях солончаков Араратской равнины.

Материал и методика. В качестве объектов использовали C_3 - и C_4 - растения сем. *Chenopodiaceae* из мест разной степени засоления. Фотосинтетический газообмен определяли с помощью инфракрасного газоанализатора, осмотическое давление – криоскопическим методом [10], водный режим по Иванову [3]. Определение ионов Na^+ и K^+ – на пламенном фотометре марки ПАЖ-2; Ca^{2+} , Fe^{3+} – на фотометре марки Сатурн; SO_4^{2-} – фототурбиметрически на ФЭК-56М; Cl^- – сжиганием по Шенигеру в колбе в кислородной среде с последующим определением галогена, поглощаемого щелочью.

Результаты и обсуждение. Существование растений в условиях высокой инсоляции, дефицита воды и засоленности почвогрунтов возможно благодаря ряду особенностей, позволяющих им адаптироваться к данным условиям. Эти особенности затрагивают как анатомо-морфологические, так и физиолого-биохимические признаки. Как известно, набор анатомических, биохимических и физиологических признаков позволил разделить виды на C_3 - и C_4 - типы фотосинтеза, где последние в наибольшей степени отвечают требованиям засухо- и солеустойчивости. Значительную долю среди галофитов составляют растения сем. *Chenopodiaceae*. Так как в этом семействе имеются и C_3 - и C_4 - растения, то изучение влияния засоления на их жизнедеятельность можно вести в сравнительном плане. При этом интересно отметить, что на сильно засоленных участках встречаются C_4 -растения только аспартатной (НАД-МЭ) группы. Это находится в соответствии с известными из литературы данными об ингибировании НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы в условиях засоления [9].

Подходя к процессу фотосинтеза как к индикатору состояния исследуемого растения в различных экологических условиях, можно лучше понять пути адаптации к ним как самого фотосинтеза, так и всего растения в целом. В ходе наших исследований обнаружено, что наивысшей интенсивности фотосинтеза НАДФ-МЭ группы соответствует высокое содержание калия в ассимиляционных органах (табл. 1). Наивысшие показатели интенсивности фотосинтеза – порядка 10 мг CO_2 /г сырой массы характерны для растений из мест с малым засолением, а величины осмотического давления клеточного сока у них относительно низки. Самые низкие величины фотосинтеза отмечены у многолетних C_3 -растений, накапливающих большое количество ионов. Снижение интенсивности фотосинтеза, наблюдающееся и у C_3 - и у C_4 -растений, связано в первую очередь с токсическим действием хлора (табл. 1).

Наряду с высокой инсоляцией и повышенной температурой, растения аридных территорий, как правило, испытывает водный дефицит. Недостаток воды в условиях солончаковой полупустыни является основным фактором, снижающим продуктивность растений. Процесс регуляции водного обмена

зависит как от анатомического строения растений, так и от системы водообеспечения и жизненных форм. Водоносная ткань эволюционно более древних родов *Suaeda*, *Bienertia* с рыхлой структурой тканей меньше защищена обкладкой и мезофиллом, чем более молодые роды и виды сем. *Chenopodiaceae*, поэтому для успешного произрастания они требуют хорошего водоснабжения, тяготеют к оазисным местообитаниям, отличаются высокой оводненностью тканей.

Эволюционно более продвинутые однолетники родов *Bassia*, *Salsola* (*S. nitraria* Pall., *S. crassa* Bieb., *S. iberica* Bieb.) также отличаются повышенным содержанием воды в органах ассимиляции (до 80 %), благодаря защищенности структуры водоносных тканей (сальолоидная структура), что поддерживает их водный баланс в различных условиях водообеспеченности.

Наименьшей оводненностью водоносных тканей характеризуются C_3 -суккулентные однолетники, приуроченные к местам высокого засоления (*Salsola crassa*, *Suaeda altissima* L., *S. confuse* Hjin, *Petrosimonia brachiata* (Pall.) Bunge). При этом многолетники, относящиеся к C_3 -растениям (*Kalidium capsicum* L., *Halostachis caspica* Bieb), по оводненности ассимиляционных органов (71-76%) мало отличаются от C_4 -многолетника — *Salsola dendroides* Pall.

Оказалось, что по степени оводненности органов ассимиляции в исследуемых растениях имеются большие различия с общим диапазоном от 67 до 90%.

Максимальная оводненность отмечена у однолетников независимо от типа фотосинтетического метаболизма, имеющих поверхностно расположенную корневую систему и распространенных на увлажненных солончаках (*Bassia hissipifolia* Pall. — 88%, *Bienertia cycloptera* Bunge — 89%, *Salicornia herbacea* L. — 91%).

В качестве регуляторных механизмов водообмена выступают транспирация и осмотическое давление, т. е. способность растений сокращать потери воды в неблагоприятной обстановке и, как следствие этого, повышенное осмотическое давление клеточного сока, позволяющее в критических ситуациях увеличивать поглощение воды из достаточно сухой почвы. Самыми экономными по расходу воды оказываются C_4 НАД-МЭ однолетники. Исключение — два вида рода *Suaeda* (*S. altissima* L., *S. confusa* Hjin), что связано с их приуроченностью к местам меньшего засоления. C_3 -растения по величине транспирации близки к C_4 -растениям (табл. 2), что связано с высоким уровнем накопления солей. Среди C_3 -галофитов исключение составляет *Salicornia herbacea*, у которой высокая солеустойчивость (возможно, и потребность к повышенному засолению) сочетается с требовательностью к увлажненным местообитаниям.

Растения НАДФ-МЭ формы декарбоксилирования (*Bassia*, *Salsola iberica* Sennen et Pau, *Seidlitzia florida* Bieb) более требовательны к водоснабжению, чем НАД-МЭ, и отличаются повышенной интенсивностью транспирации, что коррелирует с высоким содержанием воды в

ассимиляционных органах.

Высокое осмотическое давление, создаваемое в тканях галофитов неорганическими ионами (в первую очередь Cl^- , Na^+ , K^+), приводит к высокой водоудерживающей способности и позволяет экономно расходовать воду [7]. Наивысшие значения осмотического давления характерны для C_3 -многолетников и НАД·МЭ группы C_4 -растений (табл. 1), распространенных в местах с наибольшим засолением. Основную роль в создании осмотического давления у этих растений играют ионы Na^+ и Cl^- , которые накапливаются в наибольшем количестве. Для НАДФ·МЭ растений типично большее содержание иона K (табл. 1). Поскольку две структурно-функциональные группы C_4 -растений, согласно нашим данным [11], четко различаются по содержанию ионов Na^+ и K^+ , мы считаем возможным рассматривать соотношение Na^+/K^+ (табл. 1) в качестве дополнительного показателя для отнесения C_4 -растений к той или иной структурно-функциональной группе.

Состояние водообеспеченности и степень отрегулированности водного баланса растений оцениваются по потенциалу сухости (отношение реального дефицита к критическому, ПС). Наименьшие величины ПС у C_3 -многолетников – *Halostachis caspica* (0,71) и *Halocnemum strobilaceae*, т.е. эти виды испытывают меньшие затруднения в водоснабжении, чем виды с высокими величинами этого показателя (табл. 2). У однолетних C_3 -растений (*Bienertia cycloptera*, *Salicornia herbacea*) величина ПС велика (0,9), что является показателем затрудненного течения процессов, возможно, на грани летального. Наоборот, у большинства C_4 -суккулентных видов это отношение значительно ниже, что свидетельствует об их высокой приспособленности к настоящим условиям обитания. Что касается многолетних форм C_3 и C_4 -суккулентных растений, то по этому показателю у них не отмечено существенных различий (табл. 2).

Таким образом, мы можем отметить, что по рассмотренным показателям водного режима (содержание воды, транспирация и дефицит) важное значение имеет жизненная форма: многолетники менее зависимы от условий увлажнения и засоления.

Как известно, растения, произрастающие на аридных территориях, при засолении накапливают большое количество ионов. Степень накопления солей зависит как от видовых особенностей растений, так и от количества солей в почве. В сем. *Chenopodiaceae*, объекте наших исследований, встречаются главным образом щелочные галофиты.

Строганов [4,5] при сульфатно-хлоридном типе засоления почв отмечал у растений преобладание катиона Na^+ и аниона Cl^- , а при хлоридно-сульфатном – преобладание Mg^{2+} и SO_4^{2-} . В нашем случае у всех растений отмечено превалирование катиона Na^+ и аниона Cl^- (табл. 1), что согласуется с сульфатно-хлоридным типом засоления почв в Ерасхауне.

Нормальное развитие растений зависит от оптимального наличия и соотношения элементов в обмене веществ. При изучении ионных отношений

Таблица 1. Содержание ионов в ассимилирующих органах и интенсивность фотосинтеза галофитов полупустыни Араратской равнины

| Растения | Концентрация солей в почве, % | Содержание ионов и их соотношения, мг экв/100г сухой массы | | | | | | | | Осмотическое давление, кПа | Интенсивность фотосинтеза истинная, мгСО ₂ /г сырой массы |
|--------------------------------|-------------------------------|--|-----------------|------------------|-----------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|--|
| | | K ⁺ | Na ⁺ | Ca ²⁺ | Cl ⁻ | SO ₄ ²⁻ | Na ⁺ /K ⁺ | K ⁺ /Cl ⁻ | Cl ⁻ /Ca ²⁺ | | |
| C ₄ -НАДФ МЭ группа | | | | | | | | | | | |
| <i>Salsola iberica</i> | 0,3 | 0,2 | 0,02 | 0,02 | 0,08 | 0,003 | 0,1 | 2,5 | 4,0 | 30-60 | 10 |
| <i>Bassia hyssopifolia</i> | 0,3 | 0,16 | 0,04 | 1,12 | 0,13 | 0,005 | 2,6 | 1,2 | 1,1 | 23-70 | 10 |
| C ₄ -НАД МЭ группа | | | | | | | | | | | |
| <i>Atriplex tatarica</i> | 0,7 | 0,08 | 0,28 | 0,08 | 0,11 | 0,004 | 3,7 | 0,7 | 1,37 | 27-90 | 12 |
| <i>Suaeda altissima</i> | 0,7 | 0,05 | 0,41 | 0,05 | 0,11 | 0,005 | 8,5 | 0,45 | 2,2 | 38-90 | 8 |
| <i>S. confuse</i> | 1,0 | 0,05 | 0,46 | 0,02 | 0,29 | 0,008 | 10 | 0,17 | 1,45 | 40-00 | - |
| <i>Salsola nitraria</i> | 1,0 | 0,05 | 0,33 | 0,12 | 0,07 | 0,004 | 6,5 | 0,29 | 1,41 | 36-50 | 7 |
| <i>Petrosimonia brachiata</i> | 2,0 | 0,05 | 0,39 | 0,10 | 0,27 | 0,006 | 8,1 | 0,18 | 2,7 | 56-90 | 5 |
| <i>Salsola dendroides</i> | 2,0 | 0,06 | 0,63 | 0,07 | 0,19 | 0,002 | 10,1 | 0,3 | 2,71 | 37-70 | 1,5 |
| <i>Climacoptera crassa</i> | 3,5 | 0,05 | 0,41 | 0,09 | 0,29 | 0,004 | 10,1 | 0,17 | 3,2 | 66-50 | 2,0 |
| C ₃ -виды | | | | | | | | | | | |
| <i>Kalidium capsicum</i> | 3,5 | 0,03 | 0,63 | 0,02 | 0,35 | 0,002 | 20,1 | 0,1 | 17,5 | 56-90 | 2,5 |
| <i>Halostachis caspica</i> | 3,5 | 0,08 | 0,97 | 0,03 | 0,27 | 0,008 | 12,7 | 0,3 | 9,0 | 51-00 | 1,5 |
| <i>Halocnemum strobilaceum</i> | 3,5 | 0,03 | 0,7 | 0,05 | 0,41 | 0,004 | 23,3 | 0,07 | 8,2 | 54-50 | 1,7 |

Таблица 2. Показатели водного режима галофитов Араратской равнины

| Вид | Жизненная форма | H ₂ O, % сыр. массы | Интенсивность транспирации, мг/(г.ч) | РД | КД | РД/КД |
|--------------------------------|-----------------|-----------------------------------|---|-------|-------|-------|
| C ₄ -НАДФМЭ группа | | | | | | |
| <i>Bassia hyssopifolia</i> | однолетн. | 88 | 149 | 18,18 | 23,18 | 0,78 |
| <i>Salsola iberica</i> | - " - | 82 | 163 | 23,48 | 33,45 | 0,85 |
| <i>Seidlitzia florida</i> | - " - | 86 | 151 | 20 | 25 | 0,8 |
| C ₄ -НАДМЭ группа | | | | | | |
| <i>Suaeda altissima</i> | однолетн. | 73,78 | 199 | 20,47 | 26,52 | 0,77 |
| <i>Salsola crassa</i> | - " - | 67 | 80 | 17,8 | 18,55 | 0,76 |
| <i>S. nitraria</i> | - " - | 73 | 141 | 24,55 | 33,63 | 0,73 |
| <i>S. dendroides</i> | многолетн. | 80 | 60,11 | 19,4 | 24,6 | 0,78 |
| <i>Suaeda confuse</i> | однолетн. | 76 | 180 | 13,46 | 16,8 | 0,8 |
| <i>Atriplex tatarica</i> | - " - | 81 | 126 | 16,18 | 19,5 | 0,83 |
| <i>Petrosimonia brachiata</i> | - " - | 76 | 117 | 17,35 | 20,45 | 0,85 |
| C ₃ -виды | | | | | | |
| <i>Kalidium capsicum</i> | многолетн. | 76 | 168 | 22,57 | 27,98 | 0,8 |
| <i>Halocnemum strobilaceum</i> | - " - | 80 | 106,9 | 2,79 | 5,6 | 0,5 |
| <i>Halostachis caspica</i> | - " - | 71,3 | 108,44 | 0,68 | 0,95 | 0,715 |
| <i>Salicornia herbacea</i> | однолетн. | 91 | 136,3 | 9,25 | 14,48 | 0,93 |
| <i>Bienertia cycloptera</i> | однолетн. | 89,6 | 85,65 | 5,37 | 5,76 | 0,9 |

Примечание: РД - реальный дефицит, КД - критический дефицит

у галофитов важно содержание основных регуляторов осмотического потенциала – натрия, калия, кальция и хлора. Среди изученных видов содержание Na^+ и Cl^- у C_3 -галофитов выше, чем у C_4 -растений. Особенно отчетливо наблюдается здесь увеличение содержания ионов натрия (табл. 1).

Сопоставление двух многолетников *Salsola dendroides* (C_4 -НАД-МЭ гр.) и *Halocnemum strobilaceum* (C_3) позволяет отметить увеличение осмотического давления последнего за счет хлора (табл. 1). Количественное содержание ионов Cl^- у C_4 -растений несколько меньше, чем у C_3 . Из ионов наиболее токсичен избыток хлора. Галофиты регулируют концентрацию ионов Cl^- и Na^+ в цитоплазме за счет выведения их в вакуоль [8]. Рассматривая взаимосвязь иона хлора с катионом кальция, отмечаем высокий (до 17,5) коэффициент Cl^-/Ca^+ соотношения у C_3 -галофитов по сравнению с C_4 -растениями (до 0,58). Причем, C_3 -растения тяготеют к местам меньшего засоления. По-видимому, на поглощение ионов хлора оказывают действие сопутствующие ему катионы: K^+ , Na^+ , Ca^{2+} . Усиление гидратированности белков мембран при сорбции на них катионов вызывает понижение барьерной функции мембран для ионов Cl^- из-за уменьшения структуры мембраны, что способствует большему сравнительно с другими содержанию хлора. Имеются работы, позволяющие сделать это предположение [1,6].

По содержанию аниона SO_4^{2-} особых отличий как между C_3 и C_4 -растениями, так и между НАД-МЭ и НАДФ-МЭ формами последних нами не отмечено (табл. 1). Во всех случаях количество ионов SO_4^{2-} ниже, чем ионов хлора.

Сравнение отношения K^+/Cl^- у растений НАДФ-МЭ группы с растениями НАД-МЭ группы и C_3 -растениями (табл. 1) наглядно демонстрирует высокие значения коэффициента у первых (выше 1). Среди растений НАД-МЭ типа наименьшее значение коэффициента K^+/Cl^- отмечено у *Suaeda confusa* – 0,158, а наибольшее у среднеустойчивых видов – *Salsola nitriaria* и *Atriplex tatarica* L.(0,7). У C_3 -галофитов это отношение колеблется в широком диапазоне: от 0,07 до 0,67.

Содержание ионов K^+ у C_3 -галофитов близко к таковому с растений НАД-МЭ типа и гораздо ниже, чем у НАДФ-МЭ группы, что при значительном количестве Na^+ увеличивает коэффициент натрий-калиевого соотношения у C_3 растений.

Количество натрия у НАД-МЭ видов в несколько раз выше, чем у НАДФ-МЭ. Соотношение Na^+/K^+ наглядно демонстрирует преобладающее значение иона натрия в создании высокого осмотического давления.

Полученные данные констатируют наиболее высокое Na^+/K^+ соотношение у C_3 -растений, затем у НАД-МЭ группы и низкое – у НАДФ-МЭ C_4 -растений.

Этот факт можно рассматривать как характерный признак двух форм C_3 -типа.

Сопоставление наших данных с литературными [11] по одним и тем

же видам независимо от места произрастания позволяет сделать следующие выводы:

1. Величина отношения K^+/Cl^- у C_4 -растений НАДФ·МЭ типа значительно выше, чем у НАД·МЭ.

2. Коэффициент Na^+/K^+ у C_3 -галофитов значительно выше, чем у C_4 -растений.

3. У видов НАДФ·МЭ форм Na^+/K^+ соотношение значительно ниже, чем у видов НАД·МЭ группы.

Таким образом, сравнительные исследования C_3 - и C_4 -галофитов Араратской равнины дают возможность подойти к оценке роли их структурно-функциональных особенностей в адаптации к засолению.

Среди видов сем. *Chenopodiaceae* этого района большинство составляют C_4 -растения, представленные в основном однолетниками. Определение принадлежности C_4 -растений к той или иной группе на основании данных по ультраструктуре [2], подтвержденные нашими данными о физиологических показателях, выявило, что большая часть видов относится к НАД·МЭ группе.

Показатели водного режима выявили преимущества C_4 -растений по сравнению с C_3 -растениями, выражающиеся в более экономном расходовании воды, и многолетних форм, менее зависимых от условий увлажнения и засоления.

Наивысшие значения осмотического давления характерны для C_3 -многолетников и НАД·МЭ группы C_4 -растений, распространенных в местах с наибольшим засолением. Основную роль в создании высокого осмотического давления у этих растений играют ионы Na^+ и Cl^- . Для НАДФ·МЭ растений типично преобладание иона K^+ .

Сравнительный анализ количественного соотношения ионов Na^+ и K^+ ; K^+ и Cl^- у растений двух основных структурно-функциональных типов выявил высокую стабильность соотношений Na^+/K^+ и K^+/Cl^- .

Исходя из этого, соотношение Na^+/K^+ и K^+/Cl^- у C_4 -растений можно рассматривать как тест для установления их принадлежности к НАД·МЭ и НАДФ·МЭ группам.

Высокий коэффициент хлор-кальциевого соотношения C_3 -галофитов можно рассматривать как отличный от C_4 -растений признак.

Таким образом, соотношение ионов элементов зависит от солевого статуса растений и может рассматриваться как один из признаков типа фотосинтетического метаболизма.

Разное соотношение ионов в ассимилирующих органах растений оказывает влияние и на интенсивность фотосинтеза. Снижение интенсивности фотосинтеза у C_3 , и у C_4 -растений связано в первую очередь с токсическим действием ионов Cl^- .

На примере исследуемых растений прослеживается большая приспособленность более молодых в эволюционном отношении C_4 -растений по сравнению с C_3 и преимущества НАД·МЭ как наиболее засухо- и

солеустойчивых форм.

Заканчивая обсуждение особенностей галофитов, отметим, что преимущества C_4 -синдрома в этих условиях проявляются в сочетании с однолетней жизненной формой. C_3 -растения могут противостоять сильному засолению преимущественно в виде многолетних форм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко Лар. А. Сб.: Биолог. основы регуляции роста и развития растений. М., Наука, 1985.
2. Гамалей Ю.В., Глаголева Т.А. Бот. журн., 72, 9, 1175-1186, 1987.
3. Иванов Л.А. и др. Бот. журн., 35, 2, 171-185, 1950.
4. Строганов Б.П. Структура и функция клеток растений при засолении. М., Наука, 1972.
5. Строганов Б.П. Метаболизм растений в условиях засоления (33 Тимирязевское чтение, Пермь, ун-т) М., Наука, 1973.
6. Brandt Ph., Preeman A. Science, 155, 3762, 582, 1967.
7. Flowers T.Y., Yeo A.R. J. Plant Physiol. 13, 1, 75-91, 1986.
8. Jennings D.H. Biol. Rev., 51, 4, 453-486, 1976.
9. Karecar M.D., Yoshi G.V. Botanica Marina. 14, 2, 216, 1973.
10. Walter H. Die Hydratur der Pflanzen und ihre physiologisch-oekologische Bedeutung. Jena. 174 S, 1931.
11. Winter K. Oecologia, 25, 1, 125-143, 1976.

Поступила 15.XI.2004

Биол. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 58.03:581.1:535.31

ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР И УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СТРУКТУРУ И ФУНКЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Л.С. ГАБРИЕЛЯН, Дж.М. ДЖАВРՇԻԱՆ

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 375025

Исследовали действие высоких температур и ультрафиолетового излучения на кривые индукции флуоресценции хлорофилла *a* микроводорослей и рассчитанные по ним параметры. Изменение этих параметров указывает на подавление активности фотосинтетического аппарата (ФСА). Причем ФСА хлореллы более подвержен действию стресс-факторов, чем ФСА спирулины. Изменения ФСА на функциональном уровне сопровождаются существенными изменениями пигментного комплекса водорослей. У хлореллы наиболее чувствительными пигментами являются хлорофилл *b* и каротиноиды. В ФСА спирулины основной мишенью стрессового воздействия является фикоцианин.

Ուսումնասիրվել է բարձր ջերմաստիճանների և ուլտրամանուշակագույն ճառագայթման ազդեցությունը միկրոօրգանիզմների քլորոֆիլ *a*-ի ֆլուորեսցենցիայի ինդուկցիոն կորերի և դրանց հիման վրա հաշվարկված պարամետրերի վրա: Այդ պարամետրերի փոփոխությունը ցույց է տալիս ֆոտոսինթետիկ ապարատի (ՖՍԱ) ակտիվության նվազումը: Ընդ որում, քլորելայի ՖՍԱ-ն ավելի ենթակա է ստրես-գործոնների ազդեցությանը, քան սպիրուլինայինը: ՖՍԱ-ի ֆունկցիոնալ փոփոխությունները ուղեկցվում են օրգանիզմների պիգմենտային համալիրի զգալի փոփոխություններով: Քլորոֆիլ *b*-ն և կարոտինոիդները քլորելայի առավել զգայուն պիգմենտներն են: Սպիրուլինայի ՖՍԱ-ում ստրեսային ազդեցության թիրախ է հանդիսանում ֆիկոցիանինը:

We have studied the effects of high temperatures and ultraviolet radiation on the curves of chlorophyll *a* fluorescence induction in microalgae and the parameters designed on them. The changes of these parameters indicate a suppression of photosynthetic apparatus (PSA) activity. PSA of *Chlorella* is more subject to stress-factors influence, than PSA of *Spirulina*. The changes of PSA at a functional level are accompanied by essential changes of algae pigments complex. Chlorophyll *b* and carotenoids are the more sensitive pigments of *Chlorella*. Phycocyanin of *Spirulina* is the main target of stressful influence.

Микроводоросли – индукция флуоресценции – пигменты – высокие температуры – УФ излучение

За последнее время опубликован ряд работ по влиянию стресс-факторов на первичные процессы фотосинтеза [1-4, 11-16]. Воздействие как высоких температур, так и ультрафиолетового (УФ) излучения приводит к значительным изменениям в структуре и функции фотосинтетического аппарата (ФСА) фотосинтезирующих организмов [1-4, 11-16]. При этом фотосистема 2 (ФС2) является одним из чувствительных компонентов ФСА

[1, 3, 11, 15]. Фогосистема 1 (ФС1) более устойчива к действию стрессовых факторов, чем ФС2 [3, 4, 15].

Кроме того, у цианобактерий высокие температуры и УФ излучение вызывают изменения в пигмент-белковом взаимодействии и нарушения переноса энергии в пределах ФБС [12, 15, 16]. Показано, что ФБС являются основной мишенью для термо- и УФ-индуцированного повреждения ФСА цианобактерий [12, 16].

Ранее нами было показано неблагоприятное влияние высоких температур на ФСА цианобактерии *Spirulina platensis* и зеленой водоросли *Chlorella pyrenoidosa* [6-9].

В настоящее время большой интерес представляет изучение комбинированного действия высоких температур и УФ излучения на первичные процессы фотосинтеза. Данных о взаимном влиянии высоких температур и УФ излучения на фотосинтезирующие организмы мало, и они противоречивы. Есть сведения о том, что после теплового стресса повышалась устойчивость к УФ радиации [2], или, наоборот, УФ облучение растений повышало их устойчивость к тепловому шоку [14].

Материал и методика Объектами исследования служили одноклеточная зеленая водоросль *Chlorella pyrenoidosa* и цианобактерия *Spirulina platensis*. Хлореллу выращивали на стандартной питательной среде Тамия, а спирулину – на среде Заррука при комнатной температуре ($25 \pm 2^\circ$) и естественном освещении (500-800 лк). Для исследования последовательного действия температуры и УФ излучения водоросли, предварительно прогретые при определенной температуре (экспозиция – 15 мин), облучали УФ лучами в течение 15 мин. Для тепловой обработки водоросли помещали в термостат УТ-1 с водой различной температуры (25-50°). Для облучения их использовали ртутно-кварцевый облучатель с лампой ПРК-2, доза УФ излучения $3,5 \cdot 10^7$ Дж·м⁻². Регистрацию медленной индукции флуоресценции проводили на флуориметре-фосфороскопе, разработанном Джавришяном [10]. Коэффициент нефотохимического тушения определяли по $qN = (F_p - F_p')/F_p$, где F_p' – интенсивность флуоресценции полностью закрытых реакционных центров (РЦ), подвергнутых действию факторов объекта.

Количественный анализ фотосинтетических пигментов хлореллы проводили спектрофотометрически на СФ-10 в ацетоновой вытяжке. Концентрации хлорофиллов а и в рассчитывали по уравнениям Вернона [5]. При определении концентрации каротиноидов в суммарной вытяжке пигментов использовалась формула Ветштейна [5].

Пигменты спирулины определяли в суспензии водоросли по спектрам поглощения на СФ-10. Содержание хлорофилла и фикоцианина на единицу оптической плотности суспензии рассчитывали по формулам Джонса и Майерса, учитывающим перекрытие спектров поглощения этих пигментов [13]. Содержание каротиноидов в спирулине оценивали по отношению оптических плотностей в их максимумах поглощения в области 490-500 нм и в максимуме поглощения хлорофилла при 680 нм. Полученные данные подвергали статистической обработке. Биологическая повторность опытов трехкратная.

Результаты и обсуждение. Было исследовано влияние различных температур (25-50°) и УФ излучения на кинетику медленной индукции флуоресценции (МИФ) хлорофилла микроводорослей и рассчитанные по ним флуоресцентные параметры. Флуоресцентные параметры, а также время нарастания и спада индукционных кривых используются как показатели изменений состояния ФСА и прежде всего реакций в ФС2 при действии различных факторов [1, 3, 4, 7-9, 11]. При этом наиболее часто используются соотношения F_p/F_T , F_M/F_T , где F_p , F_M , F_T – интенсивность флуоресценции в точках P, M, T кривой индукции флуоресценции [4]. Соотношение F_p/F_T

связано со скоростью электронного транспорта, а F_M/F_T отражает эффективность фотосинтеза [4].

При действии УФ на суспензию хлореллы при 25° наблюдается резкое падение интенсивности флуоресценции по всей индукционной кривой (рис. 1а, кривая 2). Максимум P уменьшается приблизительно на 32 %, что свидетельствует о нарушении функционирования реакционного центра (РЦ) ФС2. Минимум S уменьшается на 34%, время появления второго максимума M замедляется до 6.24 сек, а интенсивность этого пика уменьшается на 31% по сравнению с контролем. Стационарный уровень T изменяется незначительно (уменьшается на 11%), что свидетельствует о замедлении тушения флуоресценции на участке $M-T$.

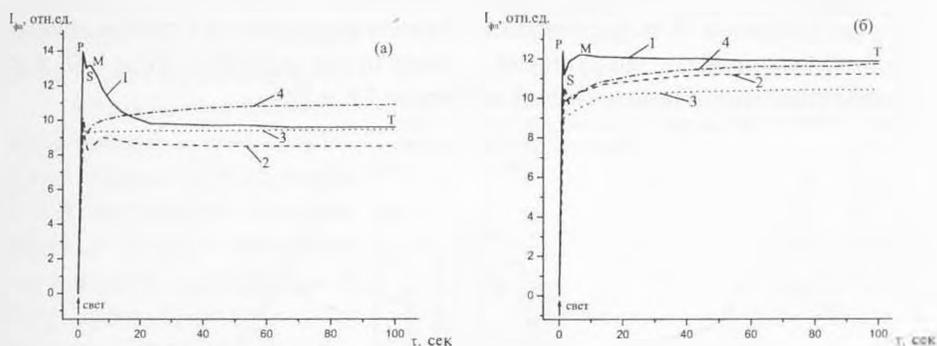


Рис. 1. Кривые индукции флуоресценции хлореллы (а) и спирулины (б) при последовательном действии температуры и УФ излучения: 1 – контроль (25°); 2 – контроль, подвергнутый действию УФ излучения; 3, 4 – объекты, подвергнутые последовательному действию температур 45°, 50° и УФ излучения.

При действии УФ излучения на прогретую при 45° хлореллу наблюдается суммирование воздействий и происходит падение интенсивности флуоресценции в точках P и S на 29 и 31% и замедление времени достижения максимумов P и M (кривая 3).

Действие УФ излучения на прогретую при 50° хлореллу приводит к исчезновению пика M и замедлению тушения флуоресценции на $M-T$ участке (кривая 4), вследствие роста стационарного уровня T приблизительно на 13% по сравнению с контрольным образцом, и на 16% по сравнению с хлореллой, подвергнутой действию 45° и УФ. Стационарный уровень характеризует долю хлорофилла, не передающего энергию в фотосинтетические процессы [4]. Возрастание F_T обычно обусловлено нарушением механизма переноса энергии от светособирающих пигментов в РЦ [1].

У спирулины действие УФ излучения приводит к резкому падению интенсивности флуоресценции на всем $PSMT$ участке при 25° (рис. 1б, кривая 2). Действие УФ приводит к исчезновению второго максимума M и замедлению тушения флуоресценции на участке $M-T$. Максимум P уменьшается приблизительно на 15%, минимум S – на 13%. Время появления второго максимума M замедляется до 14 сек, а интенсивность этого пика уменьшается на 11% по сравнению с контролем, стационарный уровень T

изменяется незначительно, что свидетельствует о замедлении тушения флуоресценции на участке $M-T$.

При действии УФ излучения у спирулины, как и у хлореллы, при 45° наблюдается суммирование воздействий (кривая 3). Значительно снижается интенсивность флуоресценции в точках P и S на 20 и 19% соответственно. Исчезает пик M , стационарный уровень T уменьшается на 12%, также замедляется процесс тушения флуоресценции на участке $M-T$.

Воздействие УФ на прогретую при 50° спирулину также приводит к некоторому росту интенсивности флуоресценции (по сравнению с действием УФ на прогретые при 25 и 45° образцы). Последовательное действие температуры (50°) и УФ приводит к росту интенсивности флуоресценции первого максимума P , исчезновению пика M и замедлению процесса тушения флуоресценции на $M-T$ участке (кривая 4), вследствие роста стационарного уровня T приблизительно на 5% по сравнению с спирулиной, подвергнутой действию 25° и УФ, и на 12% по сравнению с подвергнутой действию 45° и УФ.

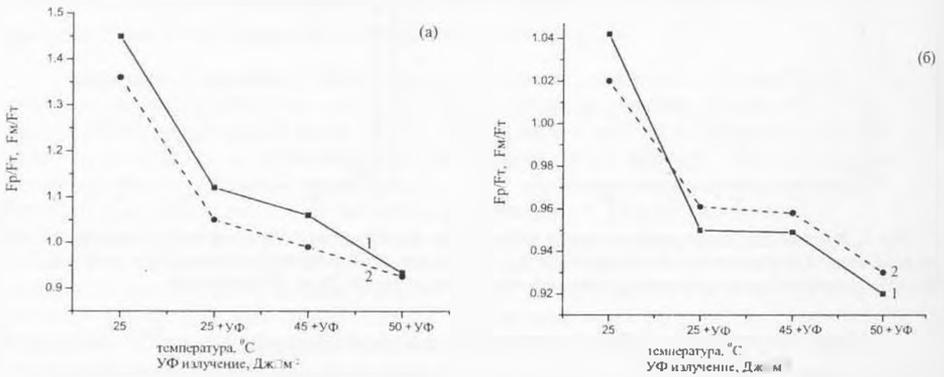


Рис. 2. Зависимость отношений параметров F_P/F_T (1) и F_M/F_T (2) от последовательного действия температуры и УФ излучения у хлореллы (а) и спирулины (б).

На рис. 2а приведены зависимости отношений F_P/F_T и F_M/F_T хлореллы от последовательного действия температуры и УФ. F_P/F_T уменьшается приблизительно на 23, 27 и 36%, а соотношение F_M/F_T — на 23, 27 и 32% (при действии УФ и 25° , 45° , 50° соответственно) по сравнению с контролем. Зависимость отношений F_P/F_T и F_M/F_T спирулины от последовательного действия температуры и УФ приведены на рис. 2б. Соотношения интенсивности F_P/F_T и F_M/F_T уменьшается параллельно действию температур и УФ излучения. F_P/F_T уменьшается приблизительно на 9, 9 и 12%, соотношение F_M/F_T — на 6, 6 и 9% соответственно. Большой скорости электронного транспорта соответствует высокая скорость PT -тушения флуоресценции, а величина тушения коррелирует со скоростью ассимиляции CO_2 [1, 4]. Таким образом, при последовательном действии температуры и УФ излучения происходит снижение скорости электронного транспорта.

Изменения коэффициента нефотохимического тушения qN у хлореллы и у спирулины приведены на рис. 3. При совместном действии УФ излучения и температуры (25° , 45° и 50°) у хлореллы наблюдается рост qN на 32, 29 и

27%, а у спирулины — на 15, 20 и 13%. Увеличение qN можно объяснить уменьшением диссипации световой энергии в светособиравшем комплексе (ССК).

Для объяснения нарушения работы фотосинтетической цепи электронного транспорта нами было исследовано влияние вышеуказанных факторов на состояние пигмент-белкового комплекса микроводорослей.

Изменения в пигментном комплексе хлореллы (рис. 4) под влиянием температуры и УФ происходят главным образом за счет снижения содержания хлорофилла *b* (*Хлб*), количество же хлорофилла *a* (*Хла*) снижается в меньшей степени. Так, при действии температуры (25°, 45° и 50°) и УФ излучения концентрация *Хла* уменьшается на 8, 12 и 17%, а *Хлб* — на 20, 21 и 28% по сравнению с контролем. О преобладающем разрушении *Хлб* свидетельствует и соотношение *Хла/Хлб*, которое увеличилось на 15, 12 и 17% по сравнению с контролем. Это в свою очередь свидетельствует об относительном уменьшении ССК (*Хлб* в основном входит в состав ССК, функционально сопряженного с ФС2), что в свою очередь ухудшает условия светосбора в ФС2. Каротиноиды защищают хлорофилл от фотоокислительной деструкции, в связи

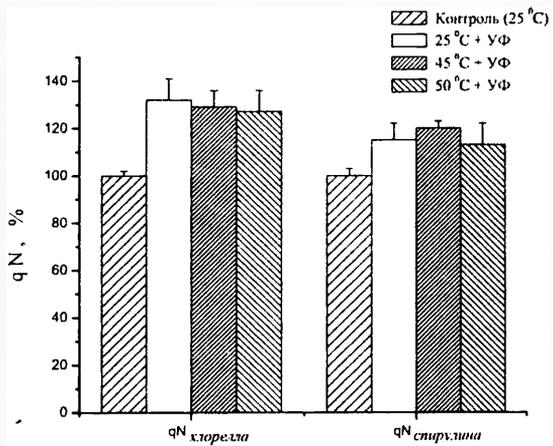


Рис. 3. Зависимость нефотохимического тушения qN хлореллы и спирулины от последовательного действия температуры и УФ излучения.

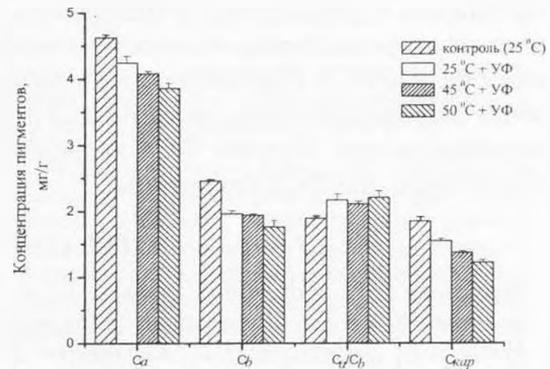


Рис. 4. Зависимость концентрации пигментов хлореллы от последовательного действия температуры и УФ излучения.

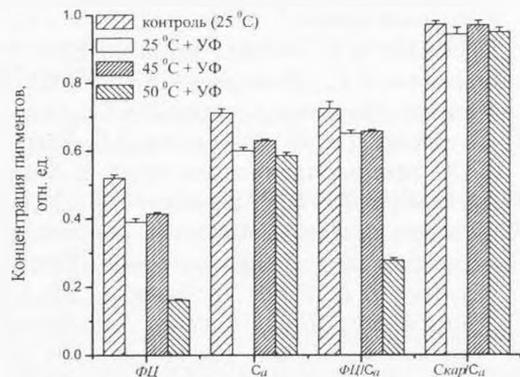


Рис. 5. Зависимость концентрации пигментов спирулины от последовательного действия температуры и УФ излучения.

с чем изменения их концентрации более выражены: количество уменьшается на 16, 27 и 35% по сравнению с контролем.

Изменения в пигментной системе спирулины при действии температур и УФ излучения приведены на рис. 5. Содержание каротиноидов на протяжении опыта оставалось практически неизменным. При действии температуры (25°, 45°, 50°) и УФ излучения содержание фикоцианина (ФЦ) изменялось приблизительно на 25, 20 и 70%, в то время как количество Хл *a* – на 16, 12 и 18% соответственно. Это свидетельствует о том, что наиболее чувствительным к стрессовому воздействию оказался ФЦ. Так как ФЦ является основным светособирающим пигментом спирулины, то снижение его содержания нарушает процесс переноса энергии как в пределах ФБС, так и к Хл *a* фотосистем. Соотношение ФЦ/Хл *a* также уменьшалось приблизительно на 60% (при совместном действии температуры 50° и УФ) по сравнению с контролем.

Таким образом, совместное действие повышенных температур и УФ излучения вызывало закономерное снижение интенсивности фотосинтеза, которое сопровождалось указанными изменениями параметров МИФ. Причем, основной эффект совместного действия температур и УФ излучения заключается в увеличении безызлучательной диссипации поглощенной световой энергии, а также в снижении скорости электронного транспорта между ФС2 и ФС1. Перечисленные изменения ФСА на функциональном уровне сопровождаются существенными изменениями пигментного состава микроводорослей. Причем ФСА хлореллы более подвержен стрессовому воздействию, чем ФСА спирулины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борданова О.С. и др. Биол. науки, 11, с. 27-33, 1988.
2. Борисова Т.А. и др. Физиология растений, 48, 4, 589-595, 2001.
3. Бухов Н.Г., Джибладзе Т.Г., Карапетян Н.В. Физиология растений, 34, 3, 435-444, 1987.
4. Веселовский В.А., Веселова Т.В. Люминесценция растений. М.: "Наука", 200 с, 1990.
5. Гавриленко В.Ф. и др. Большой практикум по физиологии растений. М.: "Высшая школа", 392 с, 1975.
6. Габриелян Л.С. Ученые записки ЕГУ, 3, 91-94, 2004.
7. Габриелян Л.С., Джавршян Дж.М. Мат-лы 7-й Пушкинской конф. молодых ученых: "Биология - наука XXI века", Пушкино, 56-57, 2003.
8. Джавршян Дж.М., Габриелян Л.С. Мат-лы III респ. молод. научной конф.: "XXI век: экологическая наука в Армении", Ереван, 80-85, 2002.
9. Джавршян Дж.М., Габриелян Л.С. Ученые записки ЕГУ, 1, 86-93, 2004.
10. Джавршян Дж.М. Автореф. док.дисс., Минск, 1991.
11. Креславский В.Д, Хрустин М.С. Биофизика, 48, 5, 865-872, 2003.
12. Лебедев Н.Н. и др. Биофизика, 35, 1, 62-68, 1990.
13. Сулейманова Ш.С., Минеева Л.А. Вестник МГУ, сер. биол., 1, 42-47, 1981.
14. Caldwell C.R. Plant Physiology, 104 (2), 395-399, 1994.
15. Rajagopal S. et al. J. Photochem. Photobiol. B: Biol, 54, 61-66, 2000.
16. Sah J.F. et al. Biochem. Mol. Biol. Int, 44 (2), 245-257, 1998.

Поступила 02.XII.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 581.13:581.14

О ЗАВИСИМОСТИ ПРОДУКТИВНОСТИ ДРЕВЕСНЫХ ИНТРОДУЦЕНТОВ ОТ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ГОРМОНАЛЬНОГО БАЛАНСА В РАЗЛИЧНЫХ ЛЕСОРАСТИТЕЛЬНЫХ ЗОНАХ АРМЕНИИ

В.А. ДАВТЯН, Р.Г. АРУТЮНЯН, А.В. АРУСТАМЯН

Институт ботаники НАН Армении, 375063, Ереван

Показано, что почвенно-климатические условия мезофильно-лесной зоны Армении (Ванадзор) по сравнению с полупустынной (Ереван) способствовали повышению содержания азота, его белковой фракции и активности ауксинов в листьях древесных интродуцентов- софоры японской, клена сахарного и лиственницы сибирской. Одновременно содержание растворимых сахаров, крахмала (за исключением лиственницы сибирской) и активность ингибиторов роста снижались. Эти изменения коррелируют с ростом и продуктивностью деревьев по выходу древесины, которые намного выше в мезофильно-лесной зоне.

Սեզոնի-անտառային գոտու (Վանաձոր) հողա-կլիմայական պայմանները նպաստել են ինտրոդուկցված ծառատեսակների՝ սոֆորա ճապոնական, թխկի շաքարային և խեժափիճի սիբիրյան, տերևներում ընդհանուր, սպիտակուցային ազոտի, ամինաթթուների պարունակության և ածման խթանիչների ակտիվության բարձրացմանը: Չուգահեռաբար նվազել է լուծվող շաքարների և օսլայի պարունակությունը (բացի խեժափիճուց) և ածման արգելակիչների ակտիվությունը: Նշված փոփոխությունները ուղեկցվել են ծառերի ածման ցուցանիշների և արդյունավետության (բնափայտի ելքի) բարձրացմամբ:

It was shown that soil-climatic conditions of the mesophyll-forest zone of Armenia (Vanadzor) as compared with the semi-desert promoted the increase of the nitrogen content, its protein fraction and the auxin activity in the introduced tree's leaves of *Sophora japonica*, *Acer saccharum* and *Larix sibirica*. At the same time the contents of the soluble carbohydrates and the starch (with the exception of *Larix sibirica*) and activity inhibitors decreased. These changes were accompanied by trees growth and productivity (wood receiving) which were more increased in the mesophyll-forest zone.

Интродуценты - условия произрастания - обмен веществ - гормоны роста - продуктивность

Изменения в жизнедеятельности древесных интродуцентов происходят в соответствии с новыми условиями жизни. Эти изменения охватывают как обменные [4], так и гормональные [7] сферы, приводящие к сдвигам в интенсивности роста и продуктивности деревьев.

Армения характеризуется исключительным многообразием почвенно-климатических условий, где из самых различных флористических регионов мира интродуцировано множество древесных пород, отличающихся интенсивностью ростовых процессов [5]. Физиологические исследования

различного поведения этих интродуцентов являются важной задачей для выяснения связи показателей роста и продуктивности с интенсивностью их жизнедеятельности в данных условиях существования.

Исходя из этого, в последние 4 года нами исследовалась зависимость роста и продуктивности от углеводно-азотного обмена и гормонального баланса у ряда хозяйственно ценных древесных растений, интродуцированных в различных почвенно-климатических условиях Армении.

Материал и методика. Объектом исследований служили 40-45-летние деревья софоры японской (*Sophora japonica* L.), клена сахарного (*Acer saccharum* Marsh.) и лиственницы сибирской (*Larix sibirica* L. db), интродуцированных в полупустынной (Ботанический сад НАН Армении, Ереван, 1250 м над ур. моря) и мезофильно-лесной (Ванадзорский бот. сад, 1450 м над ур. моря) лесорастительных зонах Армении.

Почвенно-климатические условия последних подробно описаны в работе [5], согласно которой климат полупустынной зоны резко континентальный с жарким сухим летом и холодной зимой. Среднегодовая температура воздуха 10,6°, годовое количество осадков достигает 350 мм. Почвы бурые, каменистые, маломощные, карбонатные с плохим водно-воздушным режимом.

Климатические условия мезофильно-лесной зоны более умеренные и влажные во все сезоны года. Среднегодовая температура воздуха 8,2°, количество осадков за год доходит до 640 мм. Почвы коричнево-лесные, мелкозернистые, мощные, богаты гумусом.

В период бурного роста вегетационного сезона в листьях подопытных объектов определяли содержание углеводов по Хагедорн-Иенсену, различные форм азота - по Къельдалю [3], активность ауксинов и ингибиторов роста по Кефели и Турецкой [6]. В опыт включались 15-17 деревьев, повторность анализов 4-кратная.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что почвенно-климатические условия вызывают определенные количественные изменения углеводов в листьях интродуцентов (табл. 1).

Таблица 1. Содержание углеводов в листьях древесных интродуцентов в условиях Еревана и Ванадзора, % от сух. массы ($M \pm m$)

| Объекты | Растворимые сахара | Крахмал | Сумма |
|------------------------------|--------------------|-----------|------------|
| Ереван | | | |
| <i>Sophora japonica</i> L. | 11.00±0.43 | 3.40±0.13 | 14.40±0.14 |
| <i>Acer saccharum</i> Marsh. | 5.49±0.26 | 2.42±0.21 | 7.91±0.33 |
| <i>Larix sibirica</i> L. db | 6.37±0.31 | 1.64±0.12 | 8.01±0.32 |
| Ванадзор | | | |
| <i>Sophora japonica</i> L. | 6.50±0.36 | 2.60±0.20 | 9.10±0.41 |
| <i>Acer saccharum</i> Marsh. | 5.38±0.13 | 2.00±0.07 | 7.38±0.13 |
| <i>Larix sibirica</i> L. db | 7.50±0.25 | 1.86±0.16 | 9.36±0.29 |

Из данных табл. 1 видно, что у софоры и клена содержание сахаров и крахмала выше в полупустынной зоне, что можно объяснить защитной ролью этих соединений и их участием в регуляции водного режима деревьев [1]. У лиственницы же сибирской увеличивалось содержание углеводов в мезофильно-лесной зоне. Возможно, в последней углеводный обмен в ассимилирующих органах смещается в сторону накопления растворимой фракции, о чем свидетельствует высокое соотношение растворимых сахаров к крахмалу по сравнению с другими видами.

Приспособление интродуцентов к условиям исследуемых зон сопровождалось количественными изменениями азотсодержащих веществ (табл. 2). Оказалось, что содержание общего и белкового азота у софоры, клена и лиственницы соответственно на 28.4 и 30.8; 19.0 и 39.7; 31.7 и 46.4% выше в мезофильно-лесной зоне, по сравнению с таковыми в полупустынной зоне. Это обстоятельство, несомненно, связано с богатством почвы гумусом и атмосферными факторами, благоприятствующими интенсивному метаболическому превращению азота в листьях ванадзорских интродуцентов.

Таблица 2. Содержание различных форм азота и свободных аминокислот в листьях древесных интродуцентов, % от сух. массы ($M \pm m$)

| Объекты | Азот | | | Аминокислоты, мг/% |
|------------------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------------|
| | Общий | Белковый | Небелковый | |
| Ереван | | | | |
| <i>Sophora japonica</i> L. | 25.91 \pm 1.09 | 22.82 \pm 0.54 | 3.09 \pm 0.11 | 540.2 \pm 28.6 |
| <i>Acer saccharum</i> Marsh. | 24.39 \pm 1.17 | 21.69 \pm 0.48 | 2.70 \pm 0.12 | 407.3 \pm 21.2 |
| <i>Larix sibirica</i> L. db | 22.17 \pm 1.11 | 17.87 \pm 0.41 | 4.30 \pm 0.18 | 782.4 \pm 37.7 |
| Ванадзор | | | | |
| <i>Sophora japonica</i> L. | 28.02 \pm 0.93 | 24.82 \pm 0.59 | 3.20 \pm 0.13 | 369,2 \pm 15.9 |
| <i>Acer saccharum</i> Marsh. | 31.31 \pm 1.24 | 28.37 \pm 1.19 | 2.94 \pm 0.13 | 332.3 \pm 16.4 |
| <i>Larix sibirica</i> L. db | 26.38 \pm 0.91 | 23.17 \pm 0.86 | 3.21 \pm 0.16 | 542.1 \pm 23.8 |

Что касается небелковой формы, то закономерных изменений не констатировано. Можно отметить только, что содержание аминокислот, входящих в эту фракцию азота, превалирует в листьях деревьев полупустынной зоны (в зависимости от вида – 18.0–31.6%). Это свидетельствует об активном синтезе белковых соединений путем интенсивного включения свободных аминокислот в их молекулу в условиях мезофильно-лесной зоны.

Приспособленность растений к новым условиям жизни, помимо обменных процессов, определяется также изменениями в гормональной сфере. При определении активности ауксинов и ингибиторов роста выяснилось, что качественный состав последних в листьях одних и тех же видов в различных почвенно-климатических условиях одинаков (рис.).

Из рис. видно, что число ауксиновых соединений в листьях софоры и лиственницы в мезофильно-лесной зоне по сравнению с полупустынной увеличивается, а ингибиторов – сокращается. В отношении клена сахарного констатирована обратная картина. Однако более существенное значение имело изменение активности этих веществ: в листьях софоры суммарная активность ауксинов у ванадзорских индивидов была выше примерно в 9, а ингибиторов – ниже более чем в 2 раза. У клена сахарного эти цифры соответственно составляли 2 и 1.5 раза.

Выявлено также, что сравнительно высокую ауксиновую активность имели соединения с Rf 0.33–0.45 и 0.63, соответствующие индолил-уксусной кислоте, ингибиторную же – с Rf 0.6–0.7 и 0.9–0.97, входящие в состав

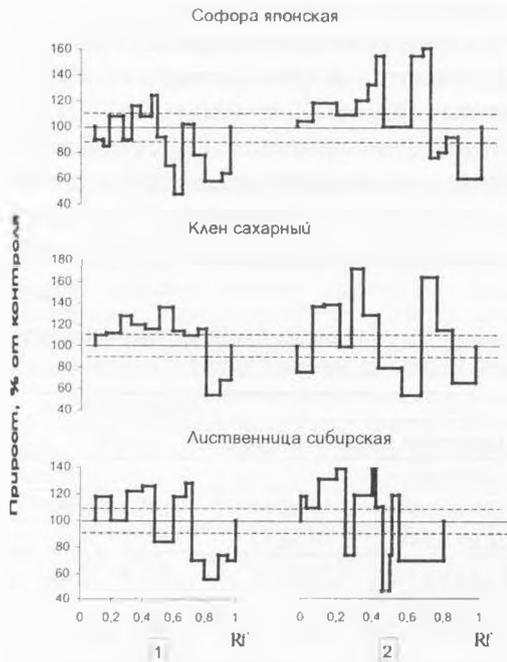


Рис. Активность ауксинов и ингибиторов роста в листьях интродуцентов в полупустынной (1) и мезофильно-лесной (2) зонах Армении.

β -ингибиторного комплекса [6].

Описанные изменения активности ауксинов и ингибиторов роста вызывали сдвиги в их соотношении, которое является одним из внутренних факторов, определяющих интенсивность ростовых процессов [9]. В этой связи анализ данных выявил низкое значение этого показателя у софоры, клена и лиственницы (0.15; 1.17 и 0.6) в полупустынной и существенное его возрастание (соответственно 2.3; 2.7 и 1.5) в мезофильно-лесной зоне.

Полученные данные позволяют прийти к выводу, что изменения в трофической и гормональной сферах интродуцентов происходят в соответствии с условиями

окружающей среды. Интегральным показателем этих изменений явились рост и продуктивность подопытных объектов (табл. 3)

Таблица 3. Дендрометрические показатели и продуктивность древесных интродуцентов ($M \pm m$)

| Объекты | Высота, м | Диаметр ствола на выс. 1.3 м, см | Текущий рост, см | Продуктивность, м ³ /дерево |
|------------------------------|-----------------|----------------------------------|------------------|--|
| Ереван | | | | |
| <i>Sophora japonica</i> L. | 11.5 \pm 0.46 | 30.5 \pm 1.31 | 11.2 \pm 0.53 | 0.42 |
| <i>Acer saccharum</i> Marsh. | 13.6 \pm 1.12 | 19.5 \pm 1.40 | 10.1 \pm 0.78 | 0.32 |
| <i>Larix sibirica</i> L. db | 9.4 \pm 0.06 | 14.0 \pm 0.58 | 6.8 \pm 0.40 | 0.16 |
| Ванадзор | | | | |
| <i>Sophora japonica</i> L. | 17.8 \pm 0.87 | 41.3 \pm 2.05 | 22.6 \pm 1.14 | 0.88 |
| <i>Acer saccharum</i> Marsh. | 14.8 \pm 1.98 | 46.2 \pm 4.40 | 19.9 \pm 1.43 | 0.82 |
| <i>Larix sibirica</i> L. db | 18.4 \pm 0.71 | 30.6 \pm 1.91 | 10.9 \pm 0.22 | 0.88 |

Из данных табл. 3 видно, что высокими показателями текущего роста, высоты и диаметра ствола отличались деревья, произрастающие в мезофильно-лесной зоне. Так, например, текущий рост софоры японской здесь превалирует над таковым в ереванских насаждениях в 2, высота деревьев- в 1.55, а диаметр ствола- в 1.35 раза. Аналогичные различия получены и для клена и лиственницы. Эти данные свидетельствуют о том, что

интенсивность ростовых процессов интродуцентов положительно коррелировала как с ходом углеводно-азотного обмена, так и активностью ауксинов и ингибиторов и их соотношением. В этом плане показано [8, 10], что ауксины стимулируют синтез РНК и белка в растениях, тем самым участвуя в их ростовых процессах.

Конечным результатом неодинакового роста полопытных деревьев в различных почвенно-климатических условиях Армении являлась продуктивность по выходу древесины. В зависимости от вида этот показатель в 2-4 раза был выше у ванадзорских индивидов.

Известно, что биопродуктивность древесных зависит от высоты ствола [2]. Наши данные согласуются с этим положением и одновременно показывают, что выход древесины, помимо высоты, определяется еще и диаметром ствола, однако при этом отсутствует прямая пропорциональность между ними.

На основании проведенных исследований можно заключить, что способность определенного уровня роста и формирования древесины интродуценты приобретают в ходе длительного произрастания в данных условиях жизни и приспособления к ним.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ахматов К.А.* Адаптация древесных растений к засухе. Фрунзе, "Илим", 196, 1976.
2. *Ащеулов В.И.* Тез. докл. конф. "Проблема лесоведения и лесной экологии", 1, М., 193-194, 1990.
3. *Белозерский А.Н., Проскураков Н.И.* Практическое руководство по биохимии растений. М., "Советская наука", 388, 1951.
4. *Казарян В.В.* Автореф. докт. дисс., Ереван, 43, 1992.
5. *Казарян В.О., Арутюнян Л.В., Хуршудян П.А., Григорян А.А., Барсегян А.М.* Научные основы облесения и озеленения Армянской ССР. Ереван, Изд. АН Арм ССР, 347, 1974.
6. *Кефели В.И., Турецкая Р.Х.* В кн. "Методы определения регуляторов роста и гербицидов", Л., "Наука", 20-44, 1966.
7. *Лихолат Т.В.* Регуляторы роста древесных растений. М., "Лесная промышленность", 238, 1983.
8. *Сабинин Д.А.* Физиология развития растений. М., Изд. АН СССР, 194, 1963.
9. *Федорова А.И.* Фитогормоны и рост дерева (на примере лиственницы). Новосибирск, "Наука", СО, 248, 1982.
10. *Masuda Yochio, Tanimoto Eiichi, Wada Shunji* *Physiol. plantarum*, 20, 3, 713-719, 1967.

Поступила 29.X.2004

ЭКОЛОГИЯ РЫЖЕЙ ЦАПЛИ *ARDEA PURPUREA* L., 1766 В УСЛОВИЯХ АРМАШСКОГО РЫБОВОДНОГО ХОЗЯЙСТВА АРАРАТСКОЙ РАВНИНЫ

К.А. МЕЛИКЯН

Институт зоологии НАН РА, 375044, Ереван

Изучена сезонная динамика численности, особенности питания взрослых птиц и птенцов, сроки образования пар, гнездостроения и спаривания рыжей цапли *Ardea purpurea*. В колониях этой птицы установлено расположение гнезд и других птиц. Выявлены сроки насиживания, откладки яиц и вылупления птенцов, масса новорожденных и подрастающих птенцов. Дано описание поведения птенцов в период их развития, а также поведения взрослых птиц. Вычислен процент естественного отхода яиц и птенцов. В результате биометрических измерений обоснованы данные по промерам гнезд и яиц, а также средние данные массы кладки и ее процентное соотношение к массе взрослой самки.

Ուսումնասիրվել է շիկակարմիր տառեղի թվաքանակի սեզոնային դինամիկան, հասուն անհատների և ձագերի սնման առանձնահատկությունները, բազմացման շրջանում գույգեր կազմելու, բույն պատրաստելու և զուգավորման ժամկետները, բնադրվող զաղութում շիկավուն տառեղի և այլ թռչունների բների կենսակառուցվածքը և նրանց փոխադարձ դասավորվածությունը: Նկարագրվել են ձվադրման, թխսակալման և ձագերի ծնվելու ժամկետները, ինչպես նաև նորածին և հասուն ձագերի զանգվածը, ձագերի հասունացման շրջանում, ձագերի և նրանց ծնողների խնամքը և ցուցաբերված վարքագիծը: Գաշվարկվել է ձագերի և ձվերի բնական կորուստի տոկոսը: Չափազորումների արդյունքում որոշվել է և հաստատվել է բների և ձվերի կենսաչափազրական տվյալները:

The season movement of numbers, feeding specifics of the adult birds, chicks and fledglings, the times of pair formation, nest building and copulation, the times of incubation, laying of eggs and hatching of chicks and also weight of the chicks and fledglings have been observed. With the other birds in the colony purple heron had been established located near nests together. The behavior of the chicks in the developing period and also behavior of adult birds have been described. The dates of eggs, nests and also the dates of middle-weight of clutch and clutch as % of females weight were based on the biometrics measurements.

Рыбоводные пруды - рыжая цапля - экология.

В Армении рыжая цапля *Ardea purpurea* L. по численности обычная, перелетная, частично зимующая птица [8,11,12]. Изучение экологии этого вида представляет научный интерес, особенно в условиях искусственного рыборазведения. Наиболее актуальным является исследование сезонной динамики численности, питания и особенностей ее гнездования.

Материал и методика. Работа проводилась в 1989-92гг. на территории Армашского рыбоводного хозяйства, состоящего из 21 нагульных и 8 выростных прудов, с общей площадью водного зеркала 1515 га. Материалом для настоящей работы послужил учет

численности, гнезд, яиц, данные по этологии, содержанию желудков взрослых птиц и их птенцов. В исследованных колониях рыжей цапли установлено пространственное расположение их гнезд. Одновременно выявлено гнездование еще 14 видов птиц, из которых впервые по трем достоверным вариантам схематично представлено расположение гнезд 12 видов. В течение каждого месяца исследований учет численности проводился двукратно методом линейного трансекта [5, 10]. Маршрут проходил между двумя рядами нагульных прудов. Длина полосы учета составляла 8 км, ширина – 700 м. За период исследований проанализировано содержимое 8 желудков взрослых птиц и 13 птенцов. Из них у взрослых птиц выявлено 7 кормовых объектов, у птенцов – 11. Обнаружено 23, промерено 19 гнезд и 71 яйцо. Параметры биометрических промеров яиц обработаны статистически [4, 9]. Продолжительность репродуктивного периода вычислена по датам регистрации кладок и степени их насыщенности.

Результаты и обсуждение. На территории рыбоводных прудов Армашского хозяйства в 1989г. были отмечены 42 птицы, в 1990г. 73 птицы, а в 1991г. 110. Из приведенных данных видно, что за период наших исследований численность этой птицы увеличилась более чем в 2,5 раза, что объясняется благоприятными кормовыми условиями. Наибольшее количество птиц отмечается летом в период их размножения. Пик численности приходится на июнь-июль (табл. 1).

Таблица 1. Динамика численности *A. purpurea* на территории Армашского рыбоводного хозяйства

| 1989 г. | | | | | | | | | | | |
|---------|----|----|------|-----|------|-------|---|----|------|---|----|
| Весна | | | Лето | | | Осень | | | Зима | | |
| III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | I | II |
| - | 2 | 10 | 10 | 14 | 4 | 2 | - | - | - | - | - |
| 1990 г. | | | | | | | | | | | |
| Весна | | | Лето | | | Осень | | | Зима | | |
| III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | I | II |
| - | 2 | 8 | 17 | 30 | 10 | 4 | 2 | - | - | - | - |
| 1991 г. | | | | | | | | | | | |
| Весна | | | Лето | | | Осень | | | Зима | | |
| III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | I | II |
| - | 20 | 24 | 26 | 22 | 11 | 5 | 2 | - | - | - | - |

Из таблицы видно, что в период весенних миграций пик численности этой птицы приходится на май. В период осенних миграций численность их значительно уменьшается в сентябре, а в октябре наблюдаются одиночные особи.

Результаты анализов содержимого желудков взрослых птиц, а также кормовых проб птенцов приводятся в табл. 2.

Согласно данным таблицы, основу питания рыжей цапли составляют рыбы, земноводные, пресмыкающиеся, мелкие млекопитающие, водные, наземные насекомые, а также водно-болотная растительность, что позволяет считать птицу полифагом.

В общем объеме съеденного корма по массе доминировали рыбы (64,7%), из них промысловые виды – 71,1% в питании птенцов и 63,8% – в питании взрослых птиц. В плавнях Кубани в условиях искусственного рыборазведения в пище рыжей цапли по массе рыбы составляли 52% [7]. В

мокрых и болотистых биотопах Испании основу питания рыжей цапли составляли рыбы, из которых на долю карпа приходилось по количеству экземпляров 73 % пойманной рыбы [16].

Брачные пары формируются со второй половины апреля вплоть до последних чисел мая. В 1991 г. брачные пары были отмечены 17 апреля.

Таблица 2. Анализ содержимого желудков взрослых птиц и кормовых проб птенцов *A. purpurea*

| N ПП | Название кормовых объектов | Количество корма | | Содержимое желудка | | | Общая масса кормов |
|---------|---|------------------|------|--------------------|-------|--------|--------------------|
| | | шт. | % | абс. | % | г | % от общей массы |
| | Взрослые птицы (n = 8) | | | | | | |
| 1 | Карп <i>Cyprinus carpio</i> | 10 | 32,2 | 3 | 37,5 | 104,85 | 25,9 |
| 2 | Серебряный карась <i>Carassius auratus gibelio</i> | 6 | 19,3 | 3 | 37,5 | 51,87 | 12,8 |
| 3 | Остатки рыб | 7 | 29,6 | 4 | 44,4 | 7,7 | 1,9 |
| 4 | Водяной уж <i>Natrix tessellata</i> | 1 | 3,2 | 1 | 11,1 | 30,0 | 7,4 |
| 5 | Водяная полевка <i>Arvicola terrestris</i> | 1 | 3,2 | 1 | 11,1 | 72,9 | 18,0 |
| 6 | Лесная мышь <i>Apodemus sylvaticus</i> | 1 | 3,2 | 1 | 11,1 | 15,35 | 3,8 |
| 7 | Обыкновенная полевка <i>Microtus arvalis</i> | 5 | 16,1 | 1 | 11,1 | 122,5 | 30,2 |
| | Всего | 31 | 100 | - | ----- | 405,1 | 100 |
| | Птенцы (n = 13) | | | | | | |
| 1 | Карп <i>Cyprinus carpio</i> | 3 | 4,5 | 3 | 23,1 | 188,0 | 43,4 |
| 2 | Толстолобик <i>Hypophthalmichthys molitris</i> | 1 | 1,5 | 1 | 7,7 | 81,0 | 18,7 |
| 3 | Серебряный карась <i>Carassius auratus gibelio</i> | 23 | 34,3 | 8 | 61,5 | 102,2 | 23,5 |
| 4 | Остатки рыб | 6 | 8,9 | 2 | 15,4 | 7,2 | 1,7 |
| 5 | Озерная лягушка <i>Rana ridibunda</i> | 1 | 1,5 | 1 | 7,7 | 15,0 | 3,5 |
| 6 | То же, головастики | 3 | 4,5 | 2 | 15,4 | 21,0 | 4,8 |
| 7 | Медведка <i>Grillotalpa grillotalpa</i> . Imago | 4 | 6,0 | 3 | 23,1 | 8,1 | 1,9 |
| 8 | Двукрылые. <i>Muscidae</i> . <i>Ceratopogonidae</i> , imago | 2 | 3,0 | 2 | 15,4 | 0,1 | 0,02 |
| 9 | Остатки насекомых (<i>Coleoptera</i> , <i>Hemiptera</i> , <i>Anisoptera</i> , larv.) | 10 | 14,9 | 4 | 30,8 | 5,0 | 1,1 |
| 10 | Фрагменты тростника <i>Phragmites</i> sp. | 12 | 17,9 | 2 | 15,4 | 5,5 | 1,3 |
| 11 | Остатки макрофитов (<i>Chara</i> sp. и <i>Ranunculus</i> , sp.) | 2 | 3,0 | 1 | 7,7 | 0,3 | 0,0 |
| | Всего | 67 | 100 | --- | --- | 433,4 | 100 |

Таблица. 3. Данные по гнездованию *A. purpurea*

| N пп | Даты находок и проверок | Содержимое гнезда | | Расчетные даты откладки яиц | |
|---------|--|--|---|-----------------------------|--------------------|
| | | Яйца | Птенцы | Первого | Последнего |
| 1 | 21/V 90 26/V 90 | 2 свежих Отложено третье | - - | 19/V 90 | 24/V 90 |
| 2 | 23/V 90 14/VI 90 | 5 слабо насиженных Остатки скорлупы | - - | 10/V 90 | 20/V 90 |
| 3 | 23/V 90 14/VI 90 26/VI 90 | 4 насиженных 2 сильно насиженных - | - 2 (4-8-дневных) 2 (13-17-дневных) | 11/V 90 | 17/V 90 |
| 4 | 23/V 90 14/VI 90 21/VI 90 23/VI 90 3/VII 90 | 4 свежих 4 сильно насиженных - - - | - 1 недавно вылупившийся 2 (8-дневных и 1 недавно вылупившийся) 1 (10-дневный) 1 (30-дневный) погиб | 17/V 90 | 25/V 90 |
| 5 | 23/V 90 27/V 90 28/V 90 14/VI 90 23/VI 90 8/VII 90 13/VII 90 | Пусто Отложено первое Отложено второе 5 сильно насиженных Наклонута первое - - | - - - - - 1 (15-дневный) Погиб | 27/V 90 | 3/VI 90 |
| 6 | 27/V 90 23/VI 90 | 3 свежих Все продырявлены | - - | 23/V 90 | 27/V 90 |
| 7 | 27/V 90 14/VI 90 17/VI 90 | 5 насиженных 1 наклонутое и 1 вытопанное - | - 3 (4-8-дневных) 4 (2-11-дневных) | 11/V 90 | 19/V 90 |
| 8 | 28/V 90 14/VI 90 23/VI 90 | 5 насиженных 4 сильно насиженных - | - 1 недавно вылупившийся 1 (10-дневный) | | |
| 9 | 23/VI 90 | 1 насиженное | 1 (9-10-дневный) | 17/V 90 | " |
| 10 | 27/VI 90 6/VII 90 | 5 слабо насиженных Все продырявлены | - - | 17/V 90 | 25/VI 90 |
| 11 | 30/VI 90 | - | 3 (16-20-дневных) | 14/V 90 | " |
| 12 | 1/V 91 | Отложено первое | - | 1/V 91 | " |
| 13 | 1/V 91 | Пусто | - | " | " |
| 14 | 13/V 91 15/V 91 18/V 91 25/V 91 | 2 свежих Отложено третье 5 свежих Все продырявлены | - - - - | 11/V 91 13/V 91 | 18/V 91 22/V 91 |
| 15 | 18/V 91 19/V 91 22/V 91 4/VI 91 | 3 свежих Отложено четвертое Отложено пятое Все продырявлены | - - - - | | |
| 16 | 20/V 91 24/VII 91 | 5 слабо насиженных - | - 4 (40-50-дневных) | 9/V 91 | 17/V 91 |
| 17 | 20/V 91 24/VII 91 | 5 слабо насиженных - | - 4 (40-50-дневных) | 9/V 91 | 17/V 91 |
| 18 | 5/VI 91 | 1 заваленное с разви- тым эмбрионом | 5 (8-16-дневных) | | |
| 19 | 5/VI 91 | 5 слабо насиженных | - | 25/V 91 | 2/VI 91 |
| 20 | 5/VI 91 | 4 слабо насиженных | - | 25/V 91 | 31/V 91 |
| 21 | 5/VI 91 | - | 2 (8-10-дневных) | 29/IV 91 | " |
| 22 | 5/VI 91 | - | 3 (10-14-дневных) | 25/IV 91 | " |
| 23 | 7/VII 91 | - | 3 (14-18-дневных) | 23/V 91 | " |

Птицы, несущие в клюве строительный материал для гнезда, зарегистрированы 22.04.91 и 1.05.91.

Часть популяции обычно приступает к спариванию и гнездованию в III декаде апреля и в первых числах мая. Для наиболее рано гнездящихся птиц гнездостроение и спаривание могут иметь место во II декаде апреля (табл. 3).

Гонады самца, добытого 10/V 89, имели следующие размеры; правый семенник 22,0x12,0; левый — 17,0x11,0 мм, что свидетельствует о наиболее массовом спаривании взрослых птиц в течение мая.

Обнаруженные нами гнезда были расположены исключительно в зарослях тростника. Расстояние гнезд от берегов пруда составляет 150-250 м. Наиболее предпочтительными являются густо заросшие участки тростниковой крепи, которые возвышаются над поверхностью воды до 5-7 м. Во всех трех колониях рыжей цапли, обнаруженных в разные сроки, насчитывалось от 6 до 14 гнезд. Плотность гнездящихся пар рыжей цапли в колонии зависит как от размера занимаемой площади, так и от подходящих мест для гнездования. На один га площади пруда приходится в среднем 0,17 гнездящихся пар. На участках со сравнительно высокой плотностью общая продолжительность колонии составляла 10,5 м. Расстояние между гнездами колебалось от 2,5 до 10,5 м, в среднем 5,6-7,0 м. На участках с разреженным заселением от 6,0 до 50,5 м, в среднем 25 м. Колонии находились примерно на расстоянии от 1,5 до 3,0 км.

В колониях по соседству с рыжей цаплей гнездились 14 видов птиц. К ним относятся: малая поганка, большая поганка, малая выпь, серый гусь, краснанный нырок, краноголовая чернеть, белоглазая чернеть, савка, камышница, лысуха, усатая синица, дроздовидная камышовка, тростниковая камышовка.

Гнездование рыжей цапли и других видов птиц представлено на рис. 1.

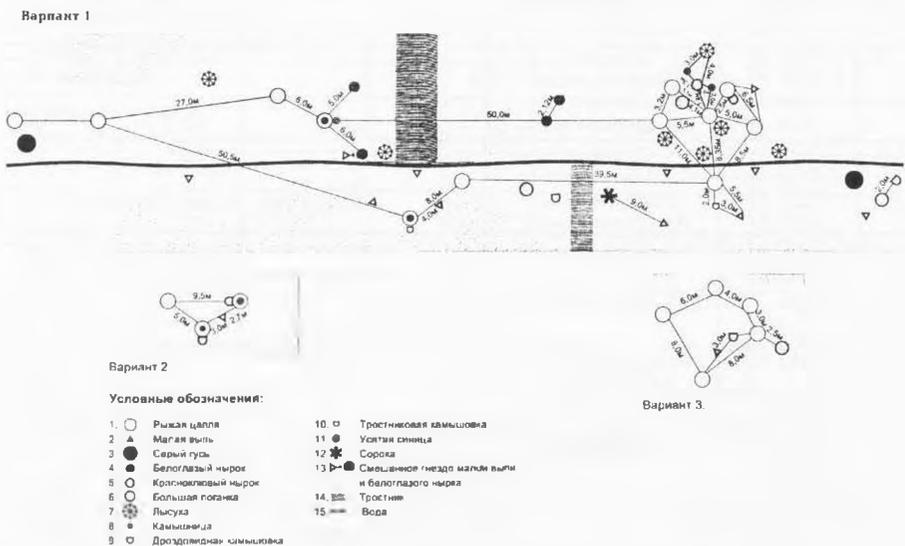


Рис. 1. Схема расположения гнезд птиц, гнездящихся совместно в колониях *A. purpurea*.

По нашим наблюдениям, рыжие цапли обычно занимают прошлогодние гнезда, обновляя их свежим гнездостроительным материалом в течение всего гнездового периода. К постройке нового гнезда птицы приступают обычно при потере старого. Молодые пары, впервые приступающие к гнездованию, строят новое гнездо. Гнезда строятся на высоте от 50 до 127,7 см над водой на разломах, реже- на скошенных стеблях тростника (табл. 4).

Таблица 4. Характеристика гнезд *A. purpurea*

| N пп | Диаметр, мм | Глубина лотка, мм | Общая высота, мм | Высота гнезд над водой, мм |
|---------|----------------|----------------------|---------------------|-------------------------------|
| 1 | 550 x 390 | 120 | 260 | 850 |
| 2 | 540 x 440 | 70 | 270 | 990 |
| 3 | 570 x 370 | 90 | 340 | 730 |
| 4 | 460 x 450 | 90 | 330 | 870 |
| 5 | 420 x 400 | 100 | 280 | 920 |
| 6 | 530 x 500 | 100 | 245 | 980 |
| 7 | 520 x 500 | 75 | 245 | 660 |
| 8 | 520 x 500 | 80 | 220 | 780 |
| 9 | 590 x 535 | 85 | 265 | 935 |
| 10 | 490 x 350 | 75 | 225 | 935 |
| 11 | 600 x 540 | 80 | 300 | 930 |
| 12 | 550 x 460 | 60 | 260 | 1277 |
| 13 | 650 x 600 | 180 | 140 | 850 |
| 14 | 500 x 360 | 55 | 800 | 750 |
| 15 | 500 x 450 | 85 | 1000 | 1000 |
| 16 | 530 x 430 | 70 | 140 | - - - |
| 17 | 470 x 520 | 150 | 270 | 850 |
| 18 | 640 x 470 | 105 | 320 | 500 |
| 19 | 550 x 550 | 100 | 400 | 600 |
| M | 536 x 464 | 93 | 332 | 859 |

Основание и борта гнезда состоят из сухих стеблей и листьев. Зеленые части растений используются в небольшом количестве. Гнездо напоминает перевернутый конус. Лоток недавно построенного гнезда имеет вогнутую поверхность. По мере насиживания кладки и в результате вытаптывания взрослыми птицами и птенцами лоток уплощается. Вокруг гнезда на высоте 0,5-1,0 м на заламах тростника взрослые птицы вытаптывают от 2 до 4 небольших площадок, где отдыхают и кормятся птенцы.

Началом кладки следует считать III декаду апреля, конец его приурочен к первым числам июня. Наиболее ранние кладки, вероятно, могут иметь место во II декаде апреля, а наиболее поздние — во II декаде июня. За два года наблюдений наибольшее количество яиц было отложено в период с 10 по 25 мая (табл. 3).

Гнездо, найденное 27/VI 90г., свидетельствует о возможном повторном гнездовании птицы, причиной которого может служить потеря первой кладки

на наиболее ранней стадии ее насиживания.

Согласно литературным данным [3, 13-15], количество яиц в полной кладке колеблется в пределах 2-5. По свидетельству Ломадзе [6], полная кладка рыжей цапли содержит от 1 до 6, чаще - 4 яиц. Из осмотренных нами 15 гнезд количество яиц в полных кладках варьировало от 3 до 6, в среднем - 4,7.

Масса и размеры яиц, характеризующие разные кладки, приводятся в табл. 5.

Таблица 5. Масса и размеры яиц *A. purpurea* в разных кладках и отношение массы кладки к массе взрослой птицы.

| N гп | Число яиц в кладке | Масса яиц, г | | Длина яиц, мм | | Ширина яиц, мм | | Масса кладки, г | Отно- шение массы кладки к массе взрослой птицы, % |
|---------|--------------------------|-----------------|------|------------------|------|-------------------|------|-----------------------|--|
| | | Lim | M | Lim | M | Lim | M | | |
| 1 | 3 | 45,0-49,0 | 47,2 | 50,5-70,0 | 60,3 | 30,8-50,0 | 40,3 | 141,6 | 16,5 |
| 2 | 5 | 32,0-42,0 | 38,1 | 40,9-50,0 | 48,3 | 30,5-40,5 | 32,1 | 190,5 | 22,1 |
| 3 | 4 | 45,0-50,0 | 47,5 | 50,2-50,5 | 50,1 | 30,7-40,4 | 35,1 | 190,0 | 22,1 |
| 4 | 5 | 43,0-49,0 | 45,3 | 50,0-50,4 | 50,2 | 40,0-40,2 | 40,1 | 226,6 | 26,3 |
| 5 | 5 | 43,0-46,4 | 44,3 | 50,1-50,5 | 50,3 | 30,8-40,0 | 36,4 | 221,7 | 25,3 |
| 6 | 3 | 43,0-45,0 | 44,3 | 50,4-60,0 | 53,4 | 40,0-40,4 | 40,0 | 133,0 | 15,5 |
| 7 | 5 | 46,0-53,0 | 49,5 | 50,5-50,5 | 50,5 | 40,0-40,3 | 40,2 | 247,4 | 28,8 |
| 8 | 5 | 39,0-42,0 | 40,6 | 50,5-50,5 | 50,5 | 40,0-40,3 | 40,2 | 203,0 | 23,6 |
| 9 | 5 | 40,0-43,3 | 41,6 | 40,0-59,0 | 55,2 | 40,0-42,0 | 41,0 | 207,9 | 24,2 |
| 10 | 5 | 42,0-44,5 | 43,3 | 54,0-55,0 | 54,5 | 40,0-40,0 | 40,0 | 216,7 | 25,2 |
| 11 | 5 | 48,1-53,0 | 50,8 | 54,0-58,0 | 56,6 | 40,0-44,0 | 42,4 | 254,1 | 29,5 |
| 12 | 5 | 45,0-49,0 | 47,2 | 52,0-54,0 | 53,2 | 41,0-43,0 | 42,4 | 236,0 | 27,4 |
| 13 | 5 | 48,0-54,5 | 51,5 | 57,0-60,0 | 58,2 | 31,0-43,0 | 40,0 | 257,5 | 29,9 |
| 14 | 5 | 45,0-48,1 | 46,7 | 53,0-56,0 | 55,0 | 40,0-52,0 | 41,4 | 233,4 | 27,1 |
| 15 | 6 | 39,1-45,5 | 42,2 | 51,3-55,0 | 53,5 | 38,4-41,7 | 40,5 | 253,4 | 29,5 |

Отмечены значительные колебания в линейных и весовых показателях в разных кладках. Разница длины яиц составляет от 0,4 до 19,5 мм, масса - от 2,0 до 10,0 г. Масса кладок в 15 гнездах в зависимости от числа яиц колебалась в пределах от 133,0 до 257,5 г. При этом, масса кладок из 3-4 яиц составила 133,0-190,0 г, из 5-6 яиц - 190,0-257,5 г. Средняя масса одной кладки равнялась 214,2 г (n=15). По результатам взвешивания 2 особей средняя масса взрослой самки составила 860,0 г. Таким образом, масса кладки в зависимости от числа яиц составляет от 15,5 % до 29,9 %, в среднем - 24,6 % от массы взрослой птицы.

Размеры яиц (мм): (n=71) 40,9-70,0 (M=53,17+0,46) x 30,5-50,9 (M=39,56+0,46); масса (г): (n=71) 32,0-54,5 (M=45,25+0,5).

К насиживанию кладки рыжая цапля приступает после откладки первого или второго яйца. Интервал между откладками яиц составляет от

1-2, в редких случаях 3 дня. Первое яйцо откладывается на четвертый - пятый день после постройки гнезда. Откладка пяти или шести яиц, по-видимому, занимает 8-10, максимум 12 дней. Насиживание кладки, в которой участвуют как самец, так и самка, длится 27-28 дней. В одном из гнезд первое яйцо было отложено 27/V 90. В том же гнезде наклев первого яйца отмечен 23/VI 90. В другом гнезде 13/V 91 было отмечено два свежих яйца, третье яйцо в этом же гнезде было отложено 15/V 91, откладка пятого яйца зарегистрирована 18/V 91.

Вылупление птенцов обычно начинается с III декады мая и заканчивается к первым числам июля. Наиболее раннее вылупление птенцов, по-видимому, может иметь место в конце II декады мая, а наиболее позднее - в III декаде июля при наличии повторной кладки взамен потерянной. Массовое вылупление имеет место в I и II декаде июля (табл.3).

Масса недавно вылупившегося птенца ($n=2$) 36,0-44,0 г в среднем 40,0 г; 4-дневного ($n=1$) 75,0 г; 7-8-дневного ($n=16$) 108-177 г, в среднем 149,8 г; 10-12-дневного ($n=8$) 200,0-270,0 г, в среднем 232,02 г; 20-дневного ($n=5$) 400,0-500,0 г, в среднем 440,0 г.

Птенцы рыжей цапли, оставшиеся без присмотра, под воздействием палящих лучей солнца погибают в течение 15-25 мин. Первые признаки защитной реакции проявляют птенцы недельного возраста. В опасной ситуации птенцы впадают в состояние оцепенения, прячутся под листьями тростника, примыкающего непосредственно к бортам гнезда. Наиболее агрессивное поведение они проявляют в возрасте 8-10 дней. Защитной реакцией в целом следует считать комбинацию ряда движений, переходящих от имитации, по-видимому, змеи к угрожающим позам с распушиванием общего оперения тела. Встревоженный птенец издает звуки, напоминающие "кар-коор" [12]. Вытягивая шею и голову вертикально вверх, птенец вздувает подбородок, несколько вибрируя им, демонстрирует белое пятно оперения подбородка, распространяющееся вниз по длине шеи и с двух сторон выделяющееся на фоне ее буровато-серой окраски. Затем издаваемый птенцом звук "кар-коор" переходит на долгий, многократно повторяющийся "кув-кув". Эту стадию защитного поведения птенца, мы относим к стадии предупреждения, за которой следует более агрессивное поведение, угрозы. Завершающим этапом является нападение птенца и удары клювом по объекту беспокойства. Встревоженные птенцы отпрыгивают пищу, в некоторых случаях взбираются на окологнездовую платформу.

Недавно вылупившиеся птенцы издают звуки, напоминающие почти непрерывно повторяющееся "це-тсе-тсе-це" и одновременно держатся среди "старших" птенцов, у которых установлена относительно стабильная температура тела.

Начиная со второй недели жизни, птенцы периодически оставляют гнездо, отдаляясь от последнего примерно на расстояние 0,5-1 м. Подрастающих птенцов часто можно заметить на расстоянии 3-4 м от гнезда, ловко лазящих по стеблям тростника. В возрасте 15-20 дней они

могут удаляться от гнезда на расстояние 6-8 м, причем некоторые из них вскоре погибают от голода, застряв среди стеблей тростника.

При появлении человека у гнезда взрослые птицы издают тревожные звуки, описывая круги в воздухе, летят над гнездом на высоте от 10 до 20 м, постепенно снижаясь, опустив ноги и раскрывая рулевые перья, затем внезапно набирают высоту, пытаются вспугнуть наблюдателя. Редко приближаясь к гнезду на высоте 3-4 м, пытаются сесть на гнездо, либо спугнуть наблюдателя. Сев около гнезда на расстояние 2-3 м от человека, вновь взлетают.

Отмечен случай преследования рыжей цапли камышового луня, появившегося возле гнезда. Хозяин гнезда, прогнав хищника, описывая круги, летит навстречу луню. Однако обе птицы ловко избегают прямого столкновения.

Как показали наши наблюдения, постэмбриональное развитие птенцов рыжей цапли продолжается 45-50 дней. После выхода из гнезда часто держатся на околосредовых платформах. Первый взлет птенцов характеризуется неуверенным полетом. На 4-5 день после первой попытки взлета птенцы окончательно покидают гнездовой участок.

Массовый вылет птенцов наблюдается в период с III декады июля до II половины августа. Таким образом, репродуктивный период рыжей цапли в условиях стационара занимает в целом 4 месяца (со II половины апреля до II половины августа).

Гнездовых конкурентов в условиях Армашского стационара не имеется. Гибель кладок и птенцов в основном происходит в результате хищничества птиц, в частности, сорок, серых ворон и камышовых луней, за счет неоплодотворенных яиц и эмбриональной смертности птенцов.

В период с 1990 по 1991 гг. под наблюдением находилось 13 гнезд, содержащих 63 яйца. Из них вылупилось 23 (36,5%) птенца. В результате хищничества птиц уничтожено 23 (36,5%) яйца, неоплодотворенными оказались 9 (14,3%), на стадии эмбриона погибло 6 (9,5 % яиц) птенцов. В двух гнездах по одному яйцу (3,2 %) было задавлено взрослыми птицами по неизвестным причинам. Три птенца (4,8 %) погибли на разных стадиях постэмбрионального развития. Общий отход яиц и птенцов составил 68,3 %. В среднем за сезон гнездования, на одну кладку пришлось по 1,5 птенцов, успешно вылетевших из гнезда.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Винокуров А.А.* В сб.: Рыбоядные птицы и их значение в рыбном хозяйстве. М., Наука, 151-155, 1965.
2. *Даль С.К.* В кн.: Позвоночные животные, Ереван, Изд. АН Арм ССР, Т.1, 413, Ереван, 1954.
3. *Деметьев Г.П. и др.* В кн.: Птицы Советского Союза, том II. М., Советская наука. 480, М., 1951.

4. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. М., Высш. шк.. 1990.
5. *Лантев М.К.* Тр. Средне-Азиатского Бс. ун-та, серия VIII , Зоол., вып. II, 352, Ташкент, 1930.
6. *Ломадзе Н. Х.* Автореф. канд. дисс. Ростов-на-Дону. 32 с., 1973.
7. *Ляйстер А.Ф., Соснин Г.В.* В кн.: Материалы по орнитофауне Армянской ССР (*Ornis Armenica*). АН СССР. Арм. Филиал биолог. Ин-та. Ереван, 402, 1942.
8. *Меликян К.А.* Автореф. канд. дисс. Ереван, 22 с., 1996.
9. *Плохинский Н.А.* В кн.: Математические методы в биологии. М., Изд. МГУ. М., с. 265, 1978.
10. *Теплов В.П.* Методы учета численности и географического распространения наземных позвоночных. М., Изд. АН СССР. 1952.
11. *Adamian M.S. Daniel Klem,* A Field Guide to Birds of Armenia. American Univ. of Armenia, an affiliate of the Univ. of California, 1997, 223 p .
12. *Adamian M.S., D. Klem. Jr.* Handbook of the Birds of Armenia. American Univ. of Armenia, an affiliate of the Univ. of California, 1999, 656.
13. *Carlson Christine, Carlson Kevin* "Wildlife" 975, 17, N 6, 256-258.
14. *Helser Friedrich* "Vogelschutz" 1982. N 1, 4-5.
15. *Moser M.E.* "Ardea". 1986. 74, N1. 91-100.
16. *Rodrigues de las Santos M. Canavate J. P.* (Espagne) "Oisean et rev. fr. Ornithol." 1985. 55, N3. 195-203.

Поступила 03.XI.2004

ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА ПРИ СМЕНЕ КОРМОВОЙ ПОРОДЫ

В.С. МИРЗОЯН

Научный центр земледелия и защиты растений МСХ РА, 378310, Эчмиадзин

Наблюдается снижение темпа развития и погашение очага непарного шелкопряда при вынужденной миграции гусениц на другие кормовые породы. При этом нарушается обмен веществ вредителя, что в свою очередь отрицательно влияет на его общее физиологическое состояние и снижает плодовитость имаго.

Աստվծասիրությունները ցույց են տվել, որ կերաբույսի փոփոխության դեպքում խանգարվում է տարազույգ մետաբուսագործի նյութափոխանակությունը ճարպերի, ածխաջրերի և սպիտակուցային նյութերի կենսասինթեզը, որը բացասաբար է անդրադառնում վնասատուի ֆիզիոլոգիական վիճակի վրա, որն էլ հանգեցնում է թվաքանակի անկմանը:

Investigations have shown that the metabolism (exchange of proteins, lipids, carbohydrates) alters in a case of transportation of gypsy moth caterpillars to another fodder plant, which affect negatively on the physiological state of the adult stages and lead to the pest number collapse.

Непарный шелкопряд - обмен веществ - физиологическое состояние - смена кормового растения

Среди вредителей листвы - филлофагов непарный шелкопряд (*Lymantria dispar* L.) занимает главнейшее место. В отдельных районах часто отмечаются вспышки его массового размножения, что отрицательно сказывается на состоянии продуктивности леса, декоративных насаждений и садов. Успешное проведение активных мероприятий по уничтожению этого вредителя возможно только при заблаговременном прогнозе появления, распространения и развития фитофага.

Одной из ситуаций, весьма распространенной в природе, является переход насекомых с одного кормового растения на другое. По данным некоторых авторов [3, 6], смена кормовых пород непарным шелкопрядом может быть временной, когда она обусловлена недостатком корма, регулярной, когда насекомое последовательно и закономерно питается двумя или несколькими породами, и постоянной, когда из-за отсутствия прежней кормовой породы, преобладания новой или под влиянием каких-то других экологических условий насекомое приспосабливается к новой пище.

Известно также, что все жизненные процессы, протекающие в организме насекомых, обусловлены наличием в нем специфических белков и

резервных питательных веществ, которые накапливаются в процессе питания гусениц. Эти вещества обуславливают переход одной фазы насекомых в другую, их устойчивость к неблагоприятным условиям среды, воздействию пестицидов, выживаемость, плодовитость и т. д.

Естественно, что изучение обмена веществ в различных фазах развития насекомых-вредителей позволяет более глубоко и всесторонне изучать причины их поведения, тем самым создавая основу для научно обоснованных прогнозов их численности и необходимости проведения мероприятий по борьбе с ними.

Материал и методика Объектом исследований служили гусеницы, куколки и бабочки непарного шелкопряда при питании листьями разных кормовых пород. Гусеницы были собраны с дуба восточного и облепихи в разных участках лесных массивов Разданского, Апаранского и Наирийского лесхозов.

В лабораторных условиях проводили опыты по переводу гусениц с первичных кормовых пород на другие по схеме: дуб восточный→яблоня лесная; дуб восточный→груша лесная; дуб восточный→слива лесная, что характерно для вредителя в природных условиях в период массового размножения. Для эксперимента была также представлена схема миграции: облепиха→дуб летний; облепиха→тополь, которая в природных условиях нами не наблюдалась (или практически не существует), однако представляет научный интерес. Контролем служили гусеницы, питающиеся листьями первичных пород - дубом или облепихой.

Перед началом опыта из каждой серии выбирали по 100 гусениц III или IV возрастов, примерно одинаковой массы и рассаживали по 10 штук в стеклянные банки, емкостью 1 л. Гусеницы содержались в специальных камерах, где микроклимат был близок к естественному (20-22°, 70% влажности). Во всех опытах обеспечивали одинаковую плотность и бесперебойное снабжение свежим кормом (дуб летний, тополь пирамидальный, облепиха, слива, яблоня, груша).

Для биохимических анализов были использованы гусеницы IV и V возрастов, сразу же после их линьки. Эти гусеницы в течение одного возраста питались листьями одной из вышеуказанных пород.

Исследования биометрических показателей непарного шелкопряда проводили согласно существующим методам. При установлении биомассы в отдельных фазах развития вредителя применяли метод индивидуального (гусеницы, куколки, имаго) и группового взвешиваний (яйца). Плодовитость бабочек определяли подсчетом отложенных яиц и яиц, находящихся в яйцеводах.

Для количественного определения общих липидов использовали метод Фолча, описанный Прохоровой и Тупиковой [9]. Жирные кислоты после предварительного метилирования анализировали с помощью хроматографа Хром - 4. Содержание глюкозы и гликогена определяли по методу Кэмпбелла, в модификации Хансена и Вийка [13]. Фракционирование белков проводили по методу Плешкова [10], а их общее содержание - по методу Лоури [14].

Результаты и обсуждение. Проведенные нами исследования по выкармливанию гусениц непарного шелкопряда на различных кормовых растениях позволили установить, что показатели физиологического состояния вредителя находятся в тесной зависимости от видовой принадлежности листьев и от того порядка, в которых одни скормливаемые растения заменяются другими.

Наибольшая выживаемость наблюдается у гусениц, продолжающих питаться листьями дуба (70%). При смене кормового растения по схеме дуб восточный→яблоня выживаемость гусениц составляет 65%, дуб восточный→груша - 15%; дуб восточный→слива - 15%; облепиха→дуб летний - 40%; облепиха→тополь - 30%.

Масса куколок и бабочек зависит от кормовых пород. Результаты анализов в основном свидетельствуют о тенденции к уменьшению биомассы куколок и бабочек по сравнению с контролем. Так, если масса бабочек при воспитании гусениц на облепихе (контроль) в среднем составляет у самок 324,6 мг, самцов - 57,7 мг, то при кормлении листьями дуба летнего она соответственно снижается на 13,6% и 7,1%, а при питании листьями тополя - на 31,8% и 8,1%. Аналогичная картина наблюдается и у бабочек дубовой популяции. Интересно отметить, что кормовое растение влияет на массу самок в большей степени, чем самцов. Это объясняется тем, что гусеницы, из которых окукливаются самки, развиваются на соответствующих кормовых растениях дольше, чем те, из которых окукливаются самцы (рис. 1).

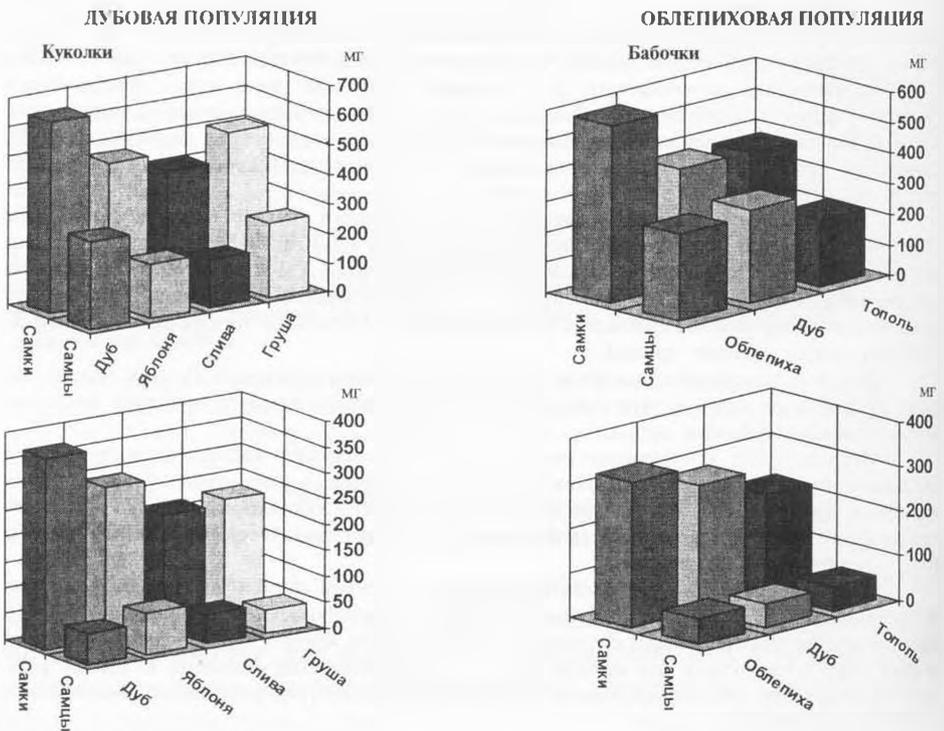


Рис. 1. Средняя масса бабочек (самки и самцы) дубовой и облепиховой популяции непарного шелкопряда при питании гусениц листьями разных кормовых растений, мг.

Половой индекс является важным параметром, определяющим численность популяции. В наших исследованиях много самок получено в вариантах дубовой популяции (контроль - 44,1%; дуб восточный→груша - 48,3%; дуб восточный→слива - 38,4%; дуб восточный→яблоня - 47,7%). Наименьшее количество самок получено у куколок облепиховой популяции (контроль - 37,4%; облепиха→дуб летний - 24,3%; облепиха→тополь - 33,4%).

Важным показателем состояния популяции является плодовитость имаго. Однако мнения различных исследователей о причинах изменчивости плодовитости насекомых противоречивы. Иогансен [4] повышение плодовитости объясняет реакцией организма на изменения условий в

неблагоприятную сторону. Большинство же энтомологов считают, что плодовитость насекомых повышается при улучшении условий существования [11, 12]. По Ильинскому [5], рост плодовитости непарного шелкопряда обуславливает начало вспышки массового размножения вредителя.

Результаты наших исследований показали, что смена кормового растения существенно влияет на плодовитость имаго (табл. 1). Она уменьшается при любой смене кормовой породы. Так, если количество отложенных яиц самками при питании листьями дуба (контроль) составляет 227,4 шт, то при питании на яблоне количество отложенных яиц снижается на 14,8%, сливе - 45%, груше - 17,3%.

Таблица 1. Яйцепродукция непарного шелкопряда при смене кормового растения

| Кормовое растение | Количество отложенных яиц, шт | | | Общая масса кладки, мг | Масса одного яйца, мг |
|------------------------------|-------------------------------|--------------|---------|------------------------|-----------------------|
| | минимальное | максимальное | среднее | | |
| <i>Дубовая популяция</i> | | | | | |
| Дуб (контроль) | 86 | 357 | 227,4 | 242,3 | 0,73 |
| Яблоня | 56 | 390 | 193,7 | 143,3 | 0,73 |
| Слива | 38 | 213 | 125,0 | 92,5 | 0,72 |
| Груша | 105 | 257 | 188,1 | 131,6 | 0,69 |
| <i>Облепиховая популяция</i> | | | | | |
| Облепиха (контроль) | 35 | 500 | 233,9 | 163,7 | 0,70 |
| Дуб | 153 | 187 | 160,6 | 118,8 | 0,73 |
| Тополь | 56 | 378 | 173,5 | 128,4 | 0,74 |

Обмен веществ непарного шелкопряда при смене кормового растения изучали у гусениц последних возрастов, так как именно в этот период в организме наблюдается накопление резервных питательных веществ, которые, с одной стороны, способствуют нормальному переходу гусениц в следующий возраст, а с другой - поддерживают жизнеспособность куколок, бабочек и яиц, т.е. фаз развития вредителя, осуществляемых без потребления пищи. При исследовании обмена веществ непарного шелкопряда были выявлены следующие особенности (рис. 1, табл. 2):

Дуб → яблоня. По сравнению с контролем (дуб летний) у гусениц при переходе на питание листьями яблони в IV возрасте накапливаются больше углеводных (глюкоза и гликоген) и белковых веществ (рис. 2). В V возрасте биосинтез отмеченных соединений в организме замедляется.

У гусениц, питавшихся листьями яблони, отмечается также накопление общих липидов (1,1 раз), однако более насыщенных, чем в контроле (табл. 2). В жирно-кислотном составе резко снижена доля важнейших кислот: олеиновой (на 1,4-3,4 %) и линолевой (на 23,1-23,7 %), однако обращает на себя внимание наличие линоленовой кислоты в количестве 2,8% в IV возрасте гусениц, которая в V возрасте обнаруживается лишь в следовых количествах.

Таблица 2. Липиды и жирно-кислотный состав гусениц непарного шелкопряда при смене кормового растения

| Кормовое растение | Возраст гусениц | Липиды, % к живой массе P=0.05, n=4 | Жирные кислоты, % | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------|--|-------------------|-------------|---------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| | | | Миристиновая | Пальминовая | Пальмитиновая | Стеари-толеино- | Олеиновая | Линолевая | Линолевая | Арахидиновая |
| Дубовая популяция | | | | | | | | | | |
| Дуб летний (контроль) | IV | 2,80±0,14 | 0,47 | 30,2 | 0,50 | 26,5 | 7,8 | 34,0 | 0,0 | 0,0 |
| | V | 3,38±0,16 | 0,45 | 29,3 | следы | 29,9 | 6,9 | 33,5 | 0,0 | 0,0 |
| Яблоня | IV | 2,00±0,04 | 0,25 | 33,7 | 0,30 | 47,9 | 4,4 | 10,3 | 2,8 | 0,0 |
| | V | 3,80±0,18 | 0,26 | 36,3 | следы | 47,4 | 5,5 | 10,4 | следы | 0,0 |
| Груша | IV | 3,00±0,06 | 0,46 | 31,8 | 0,83 | 43,6 | 11,8 | 8,6 | 2,4 | 0,0 |
| | V | 3,19±0,41 | 0,44 | 37,8 | следы | 42,2 | 7,1 | 12,5 | следы | 0,0 |
| Слива | IV | 2,60±0,10 | 0,93 | 16,5 | 2,6 | 35,9 | 20,1 | 5,2 | 0,0 | 0,0 |
| | V | 3,03±0,21 | 0,39 | 33,5 | 0,44 | 37,6 | 7,8 | 15,5 | 3,5 | 0,0 |
| Облепиховая популяция | | | | | | | | | | |
| Облепиха (контроль) | IV | 4,90±0,12 | следы | 23,0 | 0,0 | 0,0 | 16,9 | 19,5 | 13,6 | 26,9 |
| | V | 5,61±0,41 | 0,12 | 18,3 | следы | 0,3 | 14,0 | 30,6 | 5,4 | 30,5 |
| Дуб летний | IV | 3,00±0,18 | 0,33 | 21,4 | 3,0 | 6,6 | 11,7 | 10,0 | 46,7 | 0,0 |
| | V | 4,45±0,58 | 0,70 | 13,1 | следы | 4,3 | 5,9 | 3,3 | 72,5 | 0,0 |
| Тополь | IV | 2,50±0,20 | 0,10 | 21,4 | 9,4 | 13,9 | 23,9 | следы | 30,9 | 0,0 |
| | V | 3,19±0,31 | 0,69 | 16,9 | следы | 5,6 | 5,6 | 17,6 | 48,6 | 0,0 |

Дубовая популяция



Облепиховая популяция

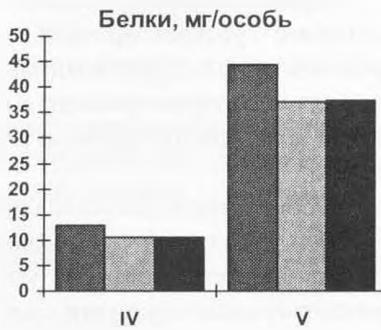
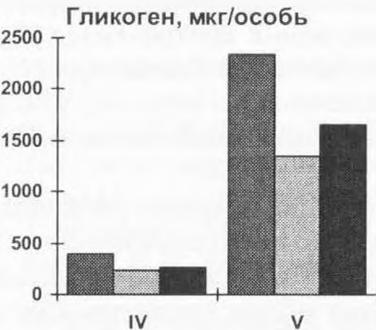
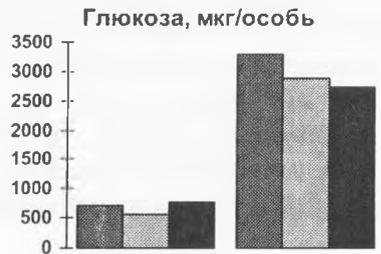
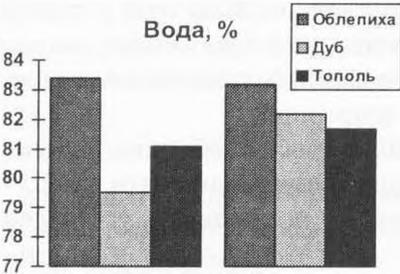


Рис. 2. Изменение содержания воды, углеводов и белков у гусениц IV и V возрастов непарного шелкопряда при смене кормового растения.

Дуб→слива. Гусеницы, питавшиеся листьями сливы, уступают контрольным по основным биохимическим показателям, однако с возрастом эта разница сглаживается, что, по всей вероятности, обусловлено большей адаптированностью пищеварительной системы старших возрастов вредителя к кормовым растениям.

Существенных расхождений в количестве воды и накопленного жира между двумя вариантами не отмечается, не наблюдаются количественные и

качественные сдвиги в жирно-кислотном составе.

Дуб→груша. По содержанию воды между гусеницами, питавшимися листьями груши и дуба летнего (контроль), практически нет расхождений. В четвертом возрасте содержание глюкозы по сравнению с контролем меньше, в расчете на одну особь на 57,7%, гликогена - 39,2%. Ингибирующее действие смены кормового растения сохраняется в V возрасте.

Скорость биосинтеза белковых веществ в организме гусениц также уступает таковой в контроле.

При воспитании на груше гусеницы существенно отличаются количеством и качеством жира. При этом в жирно-кислотном составе преобладают насыщенные жирные кислоты: пальмитиновая, стеариновая. По сравнению с контролем, у гусениц резко снижено содержание линолевой кислоты (на 20,8-25,4%).

Облепиха→дуб летний. При переводе гусениц с облепихи на дуб летний содержание воды по сравнению с контролем (облепиха) снижается на 3,5% в IV и 1% в V возрастах. При питании листьями дуба отмечается также низкое, по сравнению с контролем, содержание углеводов и белков.

Снижается также общее количество липидов. При этом у гусениц, питавшихся листьями дуба, полностью исчезает арахидовая кислота, уменьшается доля линолевой и резко увеличивается количество линоленовой кислоты (в 3,4 раза - в IV; 13,4 раза - в V возрастах).

Облепиха→тополь Гусеницы, перешедшие с листьев облепихи на тополь, значительно уступают контролю (облепиха) по содержанию воды (на 2,3% - в IV, 1,5% - в V) и основным биохимическим показателям: углеводов и белков.

При питании листьями тополя накопление липидных запасов в организме гусениц происходит медленнее, чем в контроле. По всей вероятности, это обусловлено интенсификацией окислительных процессов в организме, которая приводит к полному исчезновению из жирно-кислотного состава арахидовой кислоты и резкому снижению количества линолевой кислоты.

Обобщая результаты анализов перевода гусениц непарного шелкопряда с одной породы на другие, можно заключить, что в основном имеет место ингибирование биосинтеза углеводов и белков в организме вредителя. Происходит также некоторое снижение липидных запасов, что сопровождается существенными количественными и качественными изменениями жирно-кислотного состава.

При смене кормового растения по схеме дуб→яблоня, наоборот, отмечается некоторая стимуляция углеводного и белкового обменов вредителя. Отмечается также накопление общих липидов, однако липиды у них более насыщены, чем в контроле. Следует отметить, что ненасыщенные жирные кислоты (в частности олеиновая, линолевая и линоленовая) имеют особое значение для насекомых. По мнению некоторых авторов, они устраняют появление деформированных крыльев у имаго [15], а также являются пластическим и энергетическим материалом для формирования яиц [8].

Ингибирование обмена веществ непарного шелкопряда и ухудшение физиологического состояния популяции можно объяснить тем, что принудительный перевод гусениц с одного корма на другой приводит к перестройке пищеварительной и детоксикационной систем фитофага. На это уходит значительная часть усвоенной энергии, которая могла бы пойти на прирост биомассы и накопление резервных питательных веществ. Поэтому неудивительно, что в подобных опытах у Коникова [7] и Баранчикова [1, 2] гусеницы непарного шелкопряда предпочитают оставаться на корме, который гарантирует дальнейший прирост и развитие, и отказываются от перехода на новый, возможно, даже более благоприятный корм.

Следует также отметить, что влияние смены кормового растения на физиолого-биохимическое состояние гусениц с возрастом ослабевает. Обусловлено это, по всей вероятности, тем, что в старших возрастах пищеварительная система вредителя адаптирована к качеству корма больше, чем в младших возрастах.

Таким образом, снижение темпа развития и погашение очага непарного шелкопряда можно ожидать при вынужденной миграции гусениц на другие кормовые породы. При этом нарушается обмен веществ вредителя, что, в свою очередь отрицательно влияет на его общее физиологическое состояние и снижает плодовитость имаго.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранчиков Ю.Н. Вестник зоол., 1, 83-84, 1980а.
2. Баранчиков Ю.П. Роль дендрофильных насекомых в таежных экосистемах. 8-9, Красноярск, 1980 б.
3. Воронцов А.И. Биологические основы защиты леса, 324, М., 1963.
4. Иоганзен Б.Г. Тр. Томского университета. 148, 133, 1960.
5. Ильинский А.И. Непарный шелкопряд и меры борьбы с ним. 63, М.-Л., 1959.
6. Ильинский А.И., Тропин И.В. Надзор, учет и прогноз массовых размножений хвое- и листогрызущих насекомых в лесах СССР. 525, М., 1965.
7. Коников А.С. Регуляторы численности лесных насекомых. 86, Новосибирск, 1978.
8. Киреева Н.М. Экология и физиология непарного шелкопряда. 126, Киев, 1983.
9. Методы биохимических исследований. 271, Л., 1982.
10. Пleshков Б.П. Практикум по биохимии растений 150, М., 1976.
11. Радкевич В.А. Экология листогрызущих насекомых. 238, Минск, 1980.
12. Рожков А.С., Васильева Т.Г. Непарный шелкопряд в Средней и Восточной Сибири. 4-19, Новосибирск, 1982.
13. Хансен Т.Е., Вийк М.О. Зоол. журн. 8, 3, 380-387, 1979.
14. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randal R.J. J.Biol.Chem., 193,1,265,1951.
15. Rock G.C. Insect Physiol., 31, 1, 9-43, 1985.

Поступила 28.III.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 595.771.(47)

ГАЛЛИЦЫ (*DIPTERA, CECIDOMYIIDAE*) В ЛАНДШАФТЕ АРМЕНИИ: ВИДОВОЙ СОСТАВ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ХОЗЯЙСТВЕННОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Л.С. МИРУМЯН

Институт зоологии НАН Армении, 375014, Ереван

Представлены новые сведения о галлицах Армении. Обобщены наши и литературные данные о биоразнообразии галлиц, которых к настоящему времени на территории Армении обнаружено 92 вида. Описаны биологические особенности, распространение и филогенетические взаимоотношения галлиц Армении. Обсуждается проблема их хозяйственно-экономического значения.

Ներկայացված են նոր տեղեկություններ Հայաստանի գալամլակների մասին: Ընդհանրացված են ներկայումս Հայաստանում հայտնաբերված գալամլակների 92 տեսակների կենսաբազմազանության վերաբերյալ մեր և գրականության մեջ եղած տվյալները: Նկարագրված են Հայաստանի գալամլակների կենսաբանական առանձնահատկությունները, տարածվածությունը և ֆիլոգենետիկ կապերը: Զննարկվում են դրանց տնտեսական նշանակության խնդիրները:

New evidence on gall midges in Armenia is presented. Literature and our data on the biodiversity of gall midges are summarized. The number of species at the territory of Armenia is as much as 92. The biological properties, distribution and phylogenetic relations of Armenian gall midges are described. The economical importance of gall midges is discussed.

Галлицы - биология - распространение - хозяйственное значение

Галлы представляют собой аномальные разрастания тканей растений, вызванные различными организмами (насекомыми, клешами, грибами, бактериями и вирусами). Механическое повреждение тканей либо секреты слюнных желез вредителей (насекомых или клещей) активируют синтез гормонов роста растений, что ведет к локальной гипертрофии или гиперплазии растительных тканей с образованием галлов. Их формирование приходится главным образом на позднюю весну, период ускоренного роста новых листьев, корней и цветков, так как молодые растительные ткани более чувствительны к галлообразующим организмам, чем зрелые. Будучи однажды инициированными, галлы продолжают развиваться даже после гибели вредителя [12]. Галлы оказывают на растения неблагоприятное воздействие, повреждая их и угнетая рост, чем в значительной степени и объясняется интерес исследователей к биологии галлообразующих организмов и проблемам борьбы с этими вредителями [10].

Семейство галлиц (*Cecidomyiidae*) – наиболее крупная по численности группа насекомых в отряде двукрылых (*Diptera*). Галлицы-фитофаги входят

в состав подсемейства *Cecidomyiinae* и представлены в четырех трибах: *Lasiopterini*, *Oligotrophini*, *Asphondyliini* и *Cecidomyiini*.

Галлицы исследуются во многих регионах мира, особенно интенсивно в субтропических регионах США [8] и в Европе [9, 13]. В то же время галлицы Кавказа, и в частности Закавказья, изучены слабо.

В связи с этим целью настоящей работы стало изложение немногочисленных известных ранее и наших новых сведений о растительноядных галлицах Армении, формирующих галлы в процессе питания или откладки яиц [1, 5, 6].

Биоразнообразие галлиц Армении. Число работ, посвященных исследованию галлиц в фауне Армении, очень невелико. В основном это исследования, рассматривающие галлиц-фитофагов в числе прочих насекомых-вредителей. Согласно сведениям, приведенным в обобщающих сводках [1, 5], до начала 90-х годов в Армении было учтено 24 вида галлиц.

В нашем специальном исследовании фауны галлиц [6] число видов, встречающихся в Армении, было доведено до 92. Нами впервые был составлен каталог галлиц-фитофагов Армении, включающий все трибы подсемейства *Cecidomyiinae*: *Lasiopterini* (6 родов и 8 видов), *Oligotrophini* (19 родов и 59 видов), *Asphondyliini* (3 рода и 8 видов) и *Cecidomyiini* (6 родов и 17 видов), итого 4 трибы и 35 родов. Были обнаружены два новых для науки рода (*Arafavilla*, тип *A. terteriani* и *Bremiolina*, тип *B. gemmicola*), два новых вида (*Sophoromyia armenica* и *Haloidiplosis araratica*), впервые в мировой науке был описан вид *Dasineura clematidina* Kieff., ранее известный только по галлам. В каталог были внесены 69 видов, новых для фауны Армении, 65 видов, новых для фауны Закавказья, и 62 вида, новых для Передней Азии. Нами была также подготовлена определительная таблица галлиц-фитофагов Армении и сопредельных регионов, охватывающая 37 родов, и составлены описания для определения галлиц Армении до вида [6].

В последующие годы нами были обнаружены новые виды из родов *Dasineura* и *Contarinia*.

Биологические особенности галлиц Армении. Галлицы-фитофаги Армении развиваются на 75 видах растений, причем наибольшее число видов ассоциировано с кормовыми растениями из семейств *Fabaceae* (15 видов), *Chenopodiaceae* (12 видов) и *Asteraceae* (8 видов).

33 вида галлиц являются монофагами, 37 видов — узкими олигофагами и только 5 способны к относительно широкой олигофагии.

Жизненные циклы галлиц в континентальном климате Армении в существенной степени определяются влажностью среды обитания. Виды, населяющие мезофильные станции, характеризуются поливольтинностью и окукливанием личинок в почве. В засушливых зонах преобладают моновольтинные виды, весь онтогенез которых, включая фазу куколки, протекает внутри галлов.

По срокам лета имаго галлиц Армении можно разделить на две фенологические группы. В первой, названной нами ранне-весенней, развитие от зимующей стадии до вылета зрелых форм приходится на апрель-середину июня. Во второй группе, обозначенной как летняя, появление имагинальных стадий приходится на летние месяцы и начало осени. К первой

филогенетической группе относятся виды *Bremiolina gemmicola*, *Dasineura asperulae*, *Halodiplosis araratica* и некоторые другие, приуроченные к ксерофитным стациям и имеющие одно поколение в течение сезона. В состав же второй группы входит подавляющее большинство галлиц. Эти фитофаги встречаются во всех природно-ландшафтных поясах, они связаны как с мезофильной, так и с ксерофильной растительностью и в большинстве случаев имеют несколько поколений в году (виды *Dasineura fraxini*, *D.mali*, *D.viciae*, *Jaapiella subpatula*, *Sophoromyia armenica*, *Wachtliella rosarum*, *Contarina medicaginis* и другие).

Распространение и филогенетические связи галлиц Армении. Наибольшее число видов галлиц-фитофагов в Армении приходится на зоны сложноцветной полупустыни (19) и солянковой пустыни (15) в Араратском и Армавирском марзах. Интразональные растительные группировки (в Араратском, Армавирском и Котайкском марзах) заселены 10 видами.

Анализ филогенетических связей галлиц-фитофагов Армении позволил выделить большую группу видов транспалеарктического и голарктического распространения, к которой в основном относятся представители родов *Dasineura* и *Contarina*. Остальные виды их распределены по ареалам 10 типов, из которых основными являются ирано-туранский (23% от всех видов), европейско-средиземноморский (11%), европейско-кавказский (11%) и европейско-казахстанский (6%). 4 вида выделены в группу условных эндемиков Закавказья. Из наиболее богатой видами трибы галлиц *Cecidomyiini* в Закавказье, и в частности в Армении, обнаружены только единичные представители родов *Contarinia*, *Hapodiplosis* и *Zeuxidiplosis*. Нами выявлено, что проникновение европейских и среднеазиатских видов в новый регион сопровождается освоением новых, необычных для них кормовых растений. Так, вид *Ozirhincus millefolii*, в Европе, обнаруженный на тысячелистнике *Achillea millefolium*, *A.nobilis*, нами зарегистрирован на *A.biebersteinii*; вид *Stefaniella hilversidae* был зарегистрирован в Узбекистане на лебеде *Atriplex salina*, в Армении же он повреждает растение из другого рода – марь *Chenopodium album*; вид *Janetiella thymi* в Европе обычен на тимьяне *Thymus chamaedrus* и *T.pullgioides*, а в наших сборах он встречался на *T.kotsyanus* и *T.rariflorus*.

Хозяйственное значение галлиц-фитофагов. Из всех органов растений галлицы в основном повреждают листья и цветки. При этом насекомые наносят особый вред точкам роста, то есть верхушкам молодых побегов, где происходит активное формирование новых тканей. Повреждение вегетативных органов растений задерживает их рост и развитие, препятствует накоплению зеленой массы, что, в конечном счете, снижает продуктивность фитоценозов.

Двукрылым галлообразователям-вредителям европейской части СССР посвящена монография [3], в которой в качестве кормовых растений для галлиц зарегистрированы зерновые злаки, кормовые травы, лекарственные растения и ценные древесно-кустарниковые породы. Хозяйственное значение галлиц-фитофагов было детально рассмотрено также в монографии [10]. В работах исследователей из США и стран Европы и Латинской Америки [7, 15] изучено хозяйственное значение галлиц-фитофагов, проанализирован хозяйственный ущерб, наносимый ими диким и культурным растениям, в

том числе деревьям, злаковым и кормовым травам. Несмотря на расхождения в количественной оценке вредоносности этих насекомых, большинство авторов сходятся во мнении о необходимости борьбы с галлицами-фитофагами как опасными вредителями.

В Армении галлицы повреждают растения всех жизненных форм. Основная часть этих фитофагов (63 вида) развивается на травянистой растительности и только 29 видов повреждают деревья и кустарники.

Среди галлиц Армении обнаружены такие общеизвестные вредители растений, как *Dasineura mali*, *Mayetiolla destructor*, *Asphondylia pruniperda*, *Contarinia medicaginis* и некоторые другие, способные нанести экономически значимый ущерб сельскохозяйственным культурам и плодовым плантациям.

Большая часть из 75 видов растений, зарегистрированных в Армении в качестве кормовых для галлиц, имеет хозяйственную ценность. Как растения-хозяева галлиц в Армении зарегистрированы зерновые злаки – 2 вида, кормовые бобовые травы – 15 видов, лекарственные растения – 13 видов, ценные древесно-кустарниковые растения – 20 видов, разнотравье (включая сорные растения) – 35 видов. На зерновых злаках паразитируют два вида галлиц, на кормовых бобовых травах – 13 видов, лекарственных растениях – 13 видов, ценных древесно-кустарниковых растениях – 20 видов. Точная оценка вреда, наносимого галлицами в условиях Армении, требует проведения дополнительных исследований.

Химическая борьба с галлицами-фитофагами представляет собой довольно сложную проблему, так как личинки насекомых, изолированные от окружающей среды тканями галлов, оказываются нечувствительными к пестицидам. В этом отношении исключительное значение имеет точное время проведения химической борьбы. Согласно рекомендациям Департамента энтомологии Университета Миннесоты (см. Wawrzynski and Hahn, FO-6704-60, 1997), эффективным является опрыскивание растений малатионом ранней весной, при раскрытии листовых пластинок на половину-три четверти.

В последнее время в связи с возрастанием загрязнения биосферы пестицидами ведутся активные поиски альтернативных методов борьбы с вредными насекомыми. Одним из таких методов является контроль численности галлиц с помощью паразитов [11].

Большинство видов галлиц Армении заражены паразитами-перепончатокрылыми из семейств *Eulophidae*, *Pteromalidae*, *Scelionidae* и *Torymidae*. В некоторых сборах мы наблюдали 100%-ную зараженность личинок галлиц одновременно 2-3 паразитами из разных семейств. Восприимчивость галлиц Армении к паразитам говорит о перспективности использования последних для контроля их численности.

В то же время галлицы-фитофаги в силу присущей им высокой пищевой избирательности могут быть использованы как ценные специализированные гербифаги для борьбы со злостными сорняками. Известно применение галлиц для контроля распространения интродуцированного в СССР сорняка амброзии [2]. Исключительно эффективным оказалось применение европейской галлицы *Zeuxidiplosis giardi* для вытеснения из австралийских фитоценозов случайно завезенного сорняка

зверобоя продырявленного *Hypericum perforatum* L. В литературе описаны и другие случаи применения галлиц для борьбы с сорняками [14].

В Армении сельскохозяйственные угодья сильно засорены вредной растительностью. В этих условиях галлицы, тормозящие рост и размножение сорняков, несомненно, могут рассматриваться как представители полезной фауны. Так, галлица *Jaapiella subpatula Bremi* встречается как массовый вид практически во всех местах произрастания молочая *Euphorbia iberica*, засоряющего в Армении большие площади пастбищ. Вьюнок ползучий *Convolvulus arvensis*, злостный сорняк виноградников и овоще-бахчевых посадок в Араратской равнине, чувствителен к галлице *Jaapiella* sp., повреждающей бутоны растения. Галлица *Dasineura sisyimbrii* повреждает соцветия широко распространенного в Араратской равнине сорняка гулявника *Sisymbrium loeselii*. Из сказанного очевидно, что галлицы следует рассматривать как перспективное средство биологической борьбы с сорняками, безопасное для окружающей среды. При этом следует учитывать, что применение этих высокоспециализированных гербифагов особенно эффективно в комплексе с другими фитофагами и в сочетании с агротехническими мероприятиями, применяемыми для уменьшения засоренности сельскохозяйственных угодий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Г.А. Бюлл.Бот.сада Арм.ССР, 29, 143-149, 1989.
2. Ковалев О.В. Вopr.общ.энтoмoл. Тр.ВЭС, 63, 9-11, 1981.
3. Коломоец Т.П., Мамаев Б.М., Зерова М.Д., Нарчук Э.П., Ермоленко В.М., Дьякончук Л.А. Насекомые-галлообразователи культурных и дикорастущих растений европейской части СССР, Киев, 1989.
4. Мамаева Х.П., Мамаев Б.М. Насекомые и клещи — вредители сельскохозяйственных культур, 4, 68-98, 1981.
5. Мирзоян С.А. Дендрофильные насекомые лесов и парков Армении, Айастан, Ереван, 1977.
6. Мирумян Л.С. Автореф. канд. дис., Ашхабад, 1992.
7. Ambrus B. Fauna Hortobady Nat.Park, Budapest, 1., 371-383, 1981.
8. Gagne R.G. The Gall Midges of the Neotropical Region, Comstock Publ.Associates, Ithaka, N.Y., 1994.
9. Meyer H. Mitt.Zool.Inst.und Museum, Univ.Kiel, Suppl.5, 1-124, 1984..
10. Nijvelt W. Gall Midges of Economic Importance, N.Y., 1969.
11. Pike K.S., Hattchett J.H., Antonell A.L. J Kans.Entomol.Soc., 56, 261-266, 1983.
12. Shorthouse J.D., Ronfritch O. Biology of Insect-Induced Galls. Eds., Oxford Univ.Pressio
13. Skuhrava M. Catalogue of Palearctic Diptera, Budapest, 1986.
14. Solinas M., Pecora P. Entomologica, 19., 167-208, 1984.
15. Story J.M. Can.Entomol., 117, 1061-1062, 1985.

Поступила 05.IV.2002

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 591.1.05

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ ФОРЕЛИ *PARASALMO MIKISS*

А.А. ЗАХАРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

Исследовали регуляцию активности ферментов биосинтеза пролина из орнитина (орнитинтрансминазы и пирролин-5-карбоксилатредуктазы) в различных органах форели. Ферменты биосинтеза пролина растворимы, и были обнаружены в основном в надосадочной фракции гомогената. Выявлено, что активность этих ферментов наиболее высока в печени. Во всех органах рыбы биосинтез пролина наиболее эффективен, когда субстратом являются орнитин и α -кетоглутарат. Однако в сердце, жабрах и икринках орнитин и оксалоацетат проявляют такую же эффективность, как и орнитин с α -кетоглутаратом. НАДН является более эффективным кофактором для пирролин-5-карбоксилатредуктазы по сравнению с НАДФН. Ионы Mn^{2+} повышают, а ионы Fe^{3+} , наоборот, подавляют активность ферментов во всех органах рыбы.

Ուսումնասիրվել է օրնիտինից պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների (օրնիտին-տրանսամինազայի և պիրոլին-5-կարբօքսիլատռեդուկտազայի) ակտիվութեան կարգավորումը ծիածանախայտի տարբեր օրգաններում: Պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտները լուծելի են և հիմնականում հայտնաբերվել են հոմոգենատի վերնստվածքային ֆրակցիայում: Բացահայտվել է, որ ֆերմենտների ակտիվությունը առավել բարձր է լյարդում: Չկան բոլոր օրգաններում պրոլինի կենսասինթեզն առավել էֆեկտիվ է այն դեպքում, երբ որպես սուբստրատ հանդիսանում են օրնիտինն ու α -կետոգլյուտարատը: Սակայն սրտում, խոնկներում և ձկնկիթում օրնիտինն ու օքսալաացետատը ցուցաբերում են նույն էֆեկտիվությունն ինչպես օրնիտինն ու α -կետոգլյուտարատը: Համեմատած $NADH$ -ի հետ, $NADPH$ -ը հանդիսանում է ավելի էֆեկտիվ կոֆակտոր պիրոլին-5-կարբօքսիլատռեդուկտազայի համար: Mn^{2+} իոնները խթանում են, իսկ Fe^{3+} իոնները ընդհակառակը ընկնում են ֆերմենտների ակտիվությունը ձկան բոլոր օրգաններում:

The regulation of the activity of the enzymes (ornitine transaminase and pyrroline-5-carboxylate reductase) during the proline synthesis from the ornitine in the different organs of the trout has been studied. The enzymes of the proline synthesis are soluble and are mainly found in the sedimentary fraction of the homogenate. It is discovered that the activity of the enzymes is much higher in the liver. In all the organs of the fish, the proline synthesis is much more effective in the cases when the ornitine and α -ketoglutarate appear to be substrate. But in the heart, in the gills and in the roes the ornitine and oxaloacetate show the same effectiveness as the ornitine and α -ketoglutarate do. Compared with the NADPH, the NADH is a more effective cofactor for the pyrroline-5-carboxylate reductase. The ions of Mn^{2+} stimulate, but the ions of Fe^{3+} , just the opposite, prevent the activity of the enzymes in all the organs of the fish.

Орнитинтрансминаза - пирролин-5-карбоксилатредуктаза - регулирование активности - форель

Биосинтез пролина из орнитина осуществляется с помощью двух ферментов: орнитинтрансаминазы (ОТ) и пирролин-5-карбоксилатредуктазы (П5КР).

Во многих тканях [4] при биосинтезе пролина наблюдается строгая корреляция между активностью ОТ и П5КР. Орнитинтрансаминазная активность обнаружена у многих растений [5]. Примечательно, что в семенах тыквы ОТ ингибируется пролином [5]. ОТ имеет сложную регуляцию. Например, в печени крыс фермент подвергается репрессии при голодании по аргинину [6]. У клостридий во время синтеза пролина из орнитина происходит дезаминирование орнитина [3].

П5КР катализирует последнюю стадию синтеза пролина. Этот фермент как кофактор использует НАДН или НАДФН, иногда оба вместе. Для П5КР, очищенной из клостридий, кофактором служит НАДН [3]. П5КР подавляется пиримидиновыми нуклеотидами, а иногда пролином.

Настоящая работа посвящена изучению некоторых регуляторных возможностей ОТ и П5КР в различных органах форели.

Материал и методика. Объектом исследований служили самки рыбы форель (*Parasalmo mikiss*) массой 0.7-1кг. Исследования проводили в летние месяцы (июнь). Повторность исследований пятикратная. Активность ферментов биосинтеза пролина определяли по количеству синтезированного пролина. Количество пролина определяли химическим методом Блуменкрантца [2].

Результаты и обсуждение. Нами изучалась внутриклеточная локализация ферментов биосинтеза пролина в некоторых органах форели (табл.1).

Таблица 1. Внутриклеточная локализация ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели, 1мкМоль/г свежей ткани, $n=5$

| Органы | Фракции | Активность ОТ и П5КР, $M \pm m$ |
|--------|-----------|---------------------------------|
| Почки | гомогенат | 1.12 ± 0.08 |
| | надосадок | 0.28 ± 0.03 |
| | осадок | 0.73 ± 0.05 |
| Печень | гомогенат | 5.32 ± 0.38 |
| | надосадок | 2.17 ± 0.15 |
| | осадок | 3.07 ± 0.21 |
| Сердце | гомогенат | 2.29 ± 0.17 |
| | надосадок | 1.69 ± 0.1 |
| | осадок | 1.51 ± 0.09 |

Из данных таблицы видно, что ферменты биосинтеза пролина были обнаружены и в надосадочной фракции гомогената, т. е. являются растворимыми.

Была изучена также активность орнитинтрансаминазы и пирролин-5-карбоксилат редуктазы в различных органах форели (табл.2).

Таблица 2. Активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели, 1 мкМоль/г свежей ткани, n=5

| Органы | Активность ОТ и П5КР, М±m |
|---------|---------------------------|
| Почки | 1.01±0.07 |
| Печень | 5.21±0.37 |
| Сердце | 2.78±0.2 |
| Жабры | 1.69±0.17 |
| Икринки | 6.4±0.44 |

Выявлено, что активность ферментов биосинтеза пролина из орнитина наиболее высока в печени и икринках и наиболее низка в почках. В печени активность ферментов примерно в 5 раз превышает таковую в почках.

Далее исследовали влияние различных субстратов на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели (табл.3).

Таблица 3. Влияние различных кетакислот на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели, 1 мкМоль/г свежей ткани, n=5

| Органы | Субстраты | Активность ОТ и П5КР, М±m |
|---------|--------------------|---------------------------|
| Почки | орн + α -КГ | 1.19±0.08 |
| | орн + пируват | 0 |
| | орн + оксалоацетат | 0 |
| Печень | орн + α -КГ | 5.12±0.35 |
| | орн + пируват | 0 |
| | орн + оксалоацетат | 0.67±0.03 |
| Сердце | орн + α -КГ | 2.67±0.19 |
| | орн + пируват | 0 |
| | орн + оксалоацетат | 2.67±0.19 |
| Жабры | орн + α -КГ | 1.74±0.2 |
| | орн + пируват | 1.01±0.07 |
| | орн + оксалоацетат | 1.74±0.2 |
| Икринки | орн + α -КГ | 6.26±0.4 |
| | орн + пируват | 3.4±0.24 |
| | орн + оксалоацетат | 6.26±0.4 |

Из табл. видно, что во всех органах форели процесс биосинтеза пролина наиболее эффективен, когда субстратом являются орнитин и α-кетоглутарат. Но в сердце, жабрах и икринках орнитин и оксалоацетат проявляют такую же эффективность, как орнитин и α-кетоглутарат. В почках и печени биосинтез пролина из пирувата и оксалоацетата почти не происходит. Эти результаты соответствуют данным, полученным в нашей лаборатории относительно различных органов крыс во время беременности и лактации [1].

Мы исследовали также влияние некоторых кофакторов на активность ферментов биосинтеза пролина у форели (табл. 4).

Согласно таблице, во всех органах форели НАДН является более эффективным кофактором для П5КР, по сравнению с НАДФН. Это не

соответствует полученным ранее в нашей лаборатории данным, согласно которым НАДФН является наиболее эффективным кофактором для многих объектов. В мозгу и почках в присутствии НАДФН активность ферментов равна нулю.

Таблица 4. Влияние некоторых кофакторов на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели, 1 мкМоль/г свежей ткани, n=5

| Органы | Кофакторы | Активность ОТ и П5КР, М±m |
|--------|-----------|---------------------------|
| Почки | НАДН | 0.97±0.06 |
| | НАДФН | 0 |
| Печень | НАДН | 5.37±0.38 |
| | НАДФН | 3.08±0.21 |
| Сердце | НАДН | 2.92±0.2 |
| | НАДФН | 2.21±0.16 |
| Жабры | НАДН | 1.75±0.11 |
| | НАДФН | 0.86±0.05 |
| Мозг | НАДН | 2.33±0.17 |
| | НАДФН | 0 |

Исследование влияния некоторых ионов на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели представлены в табл.5.

Таблица 5. Влияние некоторых ионов на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели, 1 мкМоль/г свежей ткани, n=5

| Органы | Ионы металлов | Концентрация, М | Активность ОТ и П5КР, М±m |
|--------|------------------|--------------------|---------------------------|
| Почки | без эффектора | | 1.21±0.08 |
| | Mn ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 10.24±0.7 |
| | Co ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 0 |
| | Fe ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 0 |
| | Fe ³⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 0 |
| | Cd ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 0.79±0.05 |
| Печень | без эффектора | | 5.15 ± 0.35 |
| | Mn ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 9.25±0.65 |
| | Co ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 18.47±0.95 |
| | Fe ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 0.43±0.04 |
| | Fe ³⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 0 |
| | Cd ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 6.0±0.38 |
| Сердце | без эффектора | | 2.67 ± 0.19 |
| | Mn ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 12.82±0.81 |
| | Co ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 0 |
| | Fe ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 1.25±0.17 |
| | Fe ³⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 0 |
| | Cd ²⁺ | 5x10 ⁻⁶ | 0.99±0.07 |

Обнаружено, что во всех органах форели ионы Mn^{2+} повышают, а ионы Fe^{3+} , наоборот, подавляют активность ферментов биосинтеза пролина. Ионы Cd^{2+} и Co^{2+} повышают активность ферментов только в печени. Ионы Fe^{2+} также подавляют активность ферментов, но в меньшей степени, чем ионы Fe^{3+} .

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х., Арутюнян Л.М. Биолог. ж. Армении, 32, 1179-1184, 1979.
2. Blumenkrantz N. Clin. Biochem, 13, 177, 1980.
3. Costilow R.N., Laycock L.J. Biol. Chem, 246, 6655-6660, 1971.
4. Smith R.J., Phang J.M. Metabolizm, 27, 685-694, 1978.
5. Splitstoesser S.A., Splitstoesser W.E. Phitochem, 12, 1565-1568, 1973.
6. Volpe P., Strecker H.J., Biochem. Biophys. Res. Commun., 32, 240-245, 1968.

Поступила 04.IV.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 612.8.0.15:547.953.547.963

К ХАРАКТЕРИСТИКЕ БЕЛКОВЫХ И ЛИПИДНЫХ КОМПОНЕНТОВ ПРОТЕОЛИПИДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ

А.А. СТЕПАНЯН, К.Г. МАНУКЯН, К.Л. ЛЕВОНЯН, Т.И. КАЗАРЯН,
Л.Г. КИРАКОСЯН

Институт биохимии им. Г.Х.Бунятыана ИАН РА, 375044, Ереван

Изучались особенности белковых и липидных компонентов протеолипидов (ПЛ) головного мозга крысы. В составе ПЛ обнаружены четыре белка с молекулярной массой: I – 30,02; II – 24,99; III – 18,64; IV – 13,45 кДа. Найдены только две пары терминальных аминокислот: N-концевые – глицин, аспарагиновая к-та и C-концевые – фенилаланин, лизин. Показано, что менее прочно с белками ПЛ связаны нейтральные фосфолипиды (ФЛ), более прочно – кислые ФЛ и главным образом фосфатидилсерин и дифосфатидилглицерин. Полученные результаты свидетельствуют о преобладании в ткани мозга в основном двух типов ПЛ с особенностями белковых и липидных компонентов, характерными для ПЛ миелина и митохондрий.

Ուսումնասիրվել են առնետի գլխուղեղից անջատած պրոտեոլիպիդների (ՊԼ) սպիտակուցային և լիպիդային բաղադրիչների որոշ առանձնահատկությունները: ՊԼ կազմում հայտնաբերվել են չորս I - 30,02; II - 24,99; III - 18,64; IV - 13,45 կԴա մոլեկուլային զանգված ունեցող սպիտակուցներ: Բացահայտվել են միայն երկու զույք ծայրային ամինաթթուներ N-ծայրային - գլիցին, ասպարագինաթթու և B-ծայրային - ֆենիլալանին, լիզին: Ցույց է տրվել, որ ՊԼ սպիտակուցների հետ թույլ կապված են չեզոք ֆոսֆոլիպիդները (ՖԼ) իսկ ավելի ամուր - թթու ՖԼ և հատկապես ֆոսֆատիդիլսերինը և դիֆոսֆատիդիլգլիցերինը: Ստացված տվյալները վկայում են, որ գլխուղեղի հյուսվածքում գերակշռում են հիմնականում երկու տիպի ՊԼ, որոնք իրենց սպիտակուցային և լիպիդային բաղադրիչների հատկություններով համապատասխանում են միելինային և միտոքոնդրիալ ՊԼ-ին:

Some characteristic features of protein and lipid moieties of proteolipids (PL) from rat brain were studied. In composition of PL four proteins with a molecular mass: I – 30,02; II – 24,99; III – 18,64; IV – 13,45 kDa were revealed. Only two pairs of terminal amino acids: N – terminal – glycine, aspartic acid and C-terminal – phenylalanine, lysine were found. It was shown that loosely bound with PL proteins were neutral phospholipids (PhL) and more tightly bound – acidic PhL, especially phosphatidylserine and diphosphatidylglycerol. The results obtained indicate the prevalence in brain tissue mainly of two types of PL with specific features of protein and lipid components characteristic for PL of myelin and mitochondria.

*Протеолипиды - белковые компоненты - липидные (фосфолипидные)
компоненты*

В связи с важной ролью, которая придается типично внутренним, гидрофобным мембранным белкам – протеолипидам (ПЛ) и связанным с ними липидам в структуре и функциях клеточных мембран нервной ткани (особенно миелина, очень богатого этими соединениями) и других тканей, а

также растительных и микробных клеток [7, 9, 11], представляет интерес исследование характерных особенностей ПЛ разных клеточных мембран с целью выявления сходства и различий между ними в зависимости от локализации и возможной функции. Однако многие вопросы, касающиеся структуры и функции ПЛ в различных мембранах, изучены пока недостаточно, что очень затрудняет более точное определение и классификацию этих белков.

В ходе исследований характерных особенностей ПЛ из разных органов и их субклеточных образований нами были получены данные относительно особенностей белковых и липидных компонентов ПЛ головного мозга крысы, которые представлены в настоящем сообщении. Ранее было показано, что в наибольших количествах и более прочно с протеолипидными белками (ПЛБ) связаны фосфолипиды (ФЛ) [3]. В связи с этим, наряду с некоторыми характеристиками белковых компонентов, изучали качественный состав и количественное содержание ФЛ во фракциях липидов, менее и более прочно связанных с ПЛБ головного мозга. Следует отметить, что связанные с белками липиды играют немаловажную роль в сохранении конформационной целостности ассоциированных с ними мембранных белков и осуществлении ими их функций [13].

Материал и методика. Опыты ставили на беспородных белых крысах массой 160-180 г. Животных декапитировали, быстро извлекали головной мозг и на льду очищали от крови и мозговых оболочек. Липидные экстракты, содержащие ПЛ, получали и отмывали по методу Фолча, Лис [6]. Содержание ПЛБ определяли по методу Лис, Паксман [10]. ПЛ выделяли из промытых липидных экстрактов мозга методом эмульгирования-центрифугирования [4] с той разницей, что опускали последнее центрифугирование при 200 г. Осадки полученных этим методом «неочищенных» ПЛ (НПЛ) лиофилизировали, после чего промывали при -19° , -12° и $+23^{\circ}$ 2 раза 300-кратным объемом смеси: абсолютный этиловый спирт – обезвоженный этиловый эфир (1:1 об:об) для экстракции липидов, менее прочно связанных (МПС) с ПЛБ. Липиды, оставшиеся после промывания в «очищенных» таким образом ПЛ (ОПЛ), были обозначены как более прочно связанные (БПС). Осадки ОПЛ растворяли в смеси хлороформ:метанол: H_2O (2:1:0,2, по объему), определяли поглощение растворов при 278,5 нм, после чего растворы упаривали. Для расщепления связей между липидами и белками и дальнейшей экстракции более прочно связанных липидов из ОПЛ применяли методику Вахера и др. [13]. Липиды общих липидных экстрактов, МПС и БПС липидных фракций, выделенных из ПЛ, разделяли с помощью двумерной ТСХ на пластинах, покрытых силикагелем. Пятна отдельных ФЛ соскабливали с пластин в опытные пробирки и подвергали минерализации [2]. Электрофорез ОПЛ проводили в 10-12% ПААГ, содержащих 0,1% ДДС Na [5]. N- и C-концевые аминокислоты ПЛБ определяли методами, описанными ранее [1]. Статистическая обработка результатов проведена по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Белки ПЛ составляли 5,35 мг/г влажной массы и 4% от суммы всех белков головного мозга. Коэффициент поглощения выделенных препаратов ОПЛ равнялся 10,48 (табл. 1).

При диск-электрофорезе в ПААГ с ДДС-Na ОПЛ головного мозга были обнаружены 4 полосы (рис. 1, табл. 2). Белки первых двух полос,

Таблица 1. Содержание ПЛ в головном мозге крысы

| Протеолипиды, мг/г влажной ткани | | | Коэффициент поглощения $A_{1\text{см}}^{1\%}$ 278,5 нм |
|------------------------------------|-----------------|----------------|---|
| Белок ПЛ общих липидных экстрактов | НПЛ | ОПЛ (+23°) | ОПЛ (+23°) |
| 5,35±0,05 (13) | 21,04±1,06 (14) | 5,11±0,18 (15) | 10,48±0,18 (10) |

Примечание: * В скобках число опытов.

Таблица 2. Белковый состав и терминальные аминокислоты ПЛБ из головного мозга крысы

| Белковые полосы, молекулярная масса, кДа | Терминальные аминокислоты | |
|---|---------------------------------|----------------------|
| | N-концевые | C-концевые |
| I – 30,02±0,33 (28) | Глицин Аспарагиновая кислота | Фенилаланин Лизин |
| II – 24,99±0,26 (16) | | |
| III – 18,64±0,37 (17) | | |
| IV – 13,45±0,46 (4) | | |

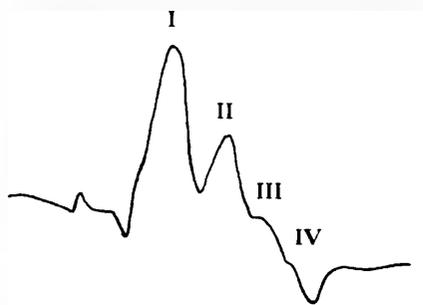


Рис.1. Данные сканирования белковых полос, полученных при разделении ОПЛ из головного мозга крысы с помощью диск-электрофореза в ПААГ с ДДСNa. $A=620$ нм. Нумерация пиков соответствует нумерации белковых полос в табл. 2 и в тексте.

преобладающие в количественном отношении, соответствовали по электрофоретической подвижности и молекулярной массе главному ПЛБ (I) и белку ДМ-20 (II) миелина [7]. Белки, сходные с ПЛБ I и IV полос по электрофоретической подвижности и кДа, были обнаружены нами при разделении ПЛ митохондрий, а с белком III полосы - при исследовании ПЛ белого вещества и микросом мозга [7, 12].

Несмотря на наличие четырех белковых полос, только две пары N- и C-терминальных аминокислот были обнаружены при исследовании ПЛ головного мозга. Одна из них – N-концевой глицин и C-концевой фенилаланин - соответствовала миелиновым [7], вторая – N-концевая аспарагиновая к-та и C-концевой лизин – митохондриальным ПЛБ. Наличие трех или четырех изоформ ПЛБ с одинаковыми N- и C-концевыми аминокислотами характерно для ПЛБ миелина [7], хотя в настоящее время показано, что некоторые представители этой семьи белков локализованы в нейронах и глие [14]. Все они являются продуктами одного гена и образуются в результате альтернативного сплайсинга мРНК главного ПЛБ миелина. Наиболее типичным представителем этих белков является белок

ДМ-20 — второй по содержанию ПЛБ миелина. Он отличается от главного ПЛБ миелина выпадением 35 аминокислот, соответствующих сегменту 116-150 главного гидрофильного домена этого белка [7, 9]. В связи с этим, белок ДМ-20 более гидрофобен и проявляет одинаковую способность связывать как кислые, так и нейтральные ФЛ, тогда как главный ПЛБ миелина обладает строгой специфичностью в отношении кислых ФЛ [7, 8].

Наряду с исследованием белковых компонентов, изучали качественный состав и количественное содержание

ФЛ МПС и БПС с ПЛБ головного мозга. Согласно полученным данным, 21% всех ФЛ общего липидного экстракта головного мозга связан с НПЛ, которые содержат весь комплекс связанных с ПЛБ липидов. Из них 19,2% приходится на долю МПС фракции липидов и 1,9% - БПС. ФЛ выделенных нами препаратов составляли 43,82% от массы НПЛ и 16,32% - от массы ОПЛ, полученных в результате промывания НПЛ спиртоэфирной смесью при +23°. Менее прочно с ПЛБ были связаны нейтральные ФЛ — фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин и сфингомиелин. Они составляли в сумме 82,3% всех МПС ФЛ (рис.2). Те же ФЛ преобладали в ФЛ НПЛ. По своему фосфолипидному составу НПЛ и МПС фракции липидов были в общем сходны с ФЛ общего липидного экстракта. Различия касались кислых ФЛ и в основном дифосфатидилглицерина, процентное содержание которого во фракции МПС липидов было ниже, а в ФЛ НПЛ вдвое выше, чем в ФЛ общего липидного экстракта мозга. Примененное для выделения МПС липидов промывание НПЛ спиртоэфирной смесью при разных температурах (-19°, -12°, +23°) приводило к постепенному удалению нейтральных и части МПС кислых ФЛ. С полученными в результате промывания при +23° ОПЛ (на рис. 2 представлены только эти данные) были связаны почти исключительно кислые ФЛ и главным образом два из них - фосфатидилсерин и дифосфатидилглицерин, составлявшие 41,3% и

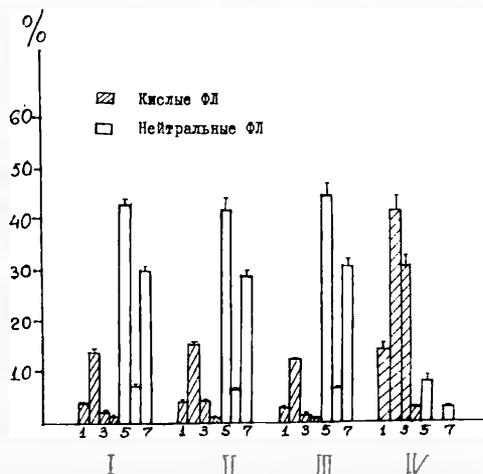


Рис.2. Содержание отдельных ФЛ общего липидного экстракта, НПЛ и ФЛ, менее и более прочно связанных с ПЛБ из головного мозга крысы. По оси ординат - % Р отдельных ФЛ от общей суммы Р ФЛ каждой фракции, принятой за 100%. По оси абсцисс - фракции: I - общий липидный экстракт; II - НПЛ; III - МПС фракция; IV - БПС фракция. ФЛ: 1 - фосфатидилхолин; 2 - фосфатидилсерин; 3 - дифосфатидилглицерин; 4 - фосфатидная кислота; 5 - фосфатидилхолин; 6 - сфингомиелин; 7 - фосфатидилэтаноламин. Сумма ФЛ каждой фракции (мкг Р/г влажной ткани). I - 1755,30; II - 368,79; III - 336,55; IV - 33,36. М ± m - среднее из 12-15 определений.

30,6% от суммы всех БПС ФЛ соответственно. На долю фосфатидилинозита приходилось 14,2%. В сумме кислые ФЛ составляли 89,1% всех ФЛ, входящих в состав ОПЛ. Из двух преобладающих БПС кислых ФЛ фосфатидилсерин характерен для ПЛ миелина головного мозга, где составляет около 70% от суммы всех БПС ФЛ [7], второй – дифосфатидилглицерин – для ПЛ митохондрий, составляя 43% всех БПС с ПЛБ ФЛ митохондрий мозга крысы.

Хотя ПЛ обнаружены во всех исследованных субклеточных образованиях нервной ткани, основная их масса сосредоточена в миелине, на долю которого приходится около 70% всех ПЛ общего гомогената мозга крысы [6]. Следовательно, основная часть ФС, связанная с ПЛБ головного мозга, имеет миелиновое происхождение, хотя этот ФЛ является также компонентом БПС с ПЛБ фракций ФЛ и других субклеточных образований мозга, в частности микросом [12].

Высокое содержание БПС фосфатидилсерина в ПЛ мозга объясняется в основном особенностями главного ПЛБ миелина. Этот белок, в гидрофильном домене которого присутствуют пять положительно и два отрицательно заряженных аминокислотных остатка, обнаруживает строгую специфичность в отношении кислых ФЛ, особенно фосфатидилсерина. В силу своих уникальных структурных особенностей, наличия чередующихся гидрофобных и гидрофильных доменов, главный ПЛБ миелина несколько раз (три или четыре) пересекает миелиновую мембрану и идеально приспособлен для взаимодействия с липидами. Поскольку гидрофильный фрагмент 116-150 этого белка, как полагают, выступает из липидного бислоя, он может через свои положительно заряженные аминокислотные остатки взаимодействовать с отрицательно заряженными липидами противоположного бислоя миелина, в частности с фосфатидилсерином. Можно предположить, что та часть кислых ФЛ, в частности фосфатидилсерина, которая взаимодействует с этим сегментом ПЛБ, связана более прочно, а та, которая ассоциирована с белком ДМ-20 по типу, возможно, гидрофобных взаимодействий, связана менее прочно. Что касается дифосфатидилглицерина, то этот ФЛ является в основном компонентом внутренней мембраны митохондрий [3].

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлены некоторые характерные особенности белковых и липидных компонентов ПЛ головного мозга. Они свидетельствуют о преобладании в ткани мозга в основном двух типов ПЛ с особенностями, характерными для ПЛ миелина и митохондрий. Однако в небольших количествах ПЛ входят в состав и других субклеточных образований нервной ткани, где могут иметь иной белковый и липидный состав и функцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Казарян Т.И., Левонян К.Л., Манукян К.Г. Биолог. журн. Армении, 36, 4, 322-325, 1984.
2. Киракосян Л.Г., Манукян К.Г., Левонян К.Л. Нейрохимия, 12, 2, 50-53, 1995.
3. Манукян К.Г. Нейрохимия. 1, 1, 51-65, 1982.
4. Манукян К.Г., Киракосян Л.Г., Левонян К.Л. В сб.: Вопросы биохимии мозга, 7, 140-149, Ереван, 1972.
5. Манукян К.Г., Киракосян Л.Г., Левонян К.Л., Степанян А.А. В сб.: Вопросы биохимии мозга, 11, 116-128, 1976.
6. Манукян К.Г., Левонян К.Л., Степанян А.А., Киракосян Л.Г., Казарян Т.И. В сб.: Вопросы биохимии мозга, 12, 68-80, Ереван, 1977.
7. Манукян К.Г., Степанян А.А., Левонян К.Л., Казарян Т.И., Киракосян Л.Г. Нейрохимия, 15, 1, 36-44, 1998.
8. Horvath L.I., Brophy P.J., March D. Biochemistry, 29, 11, 2635-2638, 1990.
9. Lees M.V. Neurochem. Res. 23, 3, 261-271, 1998.
10. Lees M.V., Paxman S. Anal. Biochem. 47, 2, 184-192, 1972.
11. Lees M.V., Sakura D.J., Sapirstein V.S., Curatolo W. Biochim. Biophys Acta, 553, 2-3, 96-107, 1979.
12. Manukian K.H., Kazarian T.I., Kirakosian L.G., Stepanian H.A., Levonian K.L. Нейрохимия, 20, 2, 101-104, 2003.
13. Vacher M., Waks M., Nicot C. J.Neurochem. 52, 1, 117-123, 1989.
14. Yoshida M., Kalinovsky A., Colman D.R. J.Neurochem. 69, Suppl. S82C, 1997.

Поступила 08.XII.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 612. 821

ОСОБЕННОСТИ МОЗГОВОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ КОМПЬЮТЕРНОЙ ЛАБИРИНТНОЙ ЗАДАЧИ У ЛЕВШЕЙ И ПРАВШЕЙ

А.Ю. СТЕПАНЯН

Ереванский государственный университет, кафедра физиологии человека и животных, 375049

Исследованы некоторые особенности мозгового обеспечения у левшей и правшей при решении лабиринтной задачи. Выявлены различия в степени интеллектуальности и нейрофизиологических механизмах обеспечения эффективного выполнения предложенной задачи у левшей и правшей.

Ուսումնասիրվել են լաբիրինթային խնդրի կատարման ուղեղային ապահովման որոշ առանձնահատկությունները աջլիկների և ձախլիկների մոտ: Հայտնաբերված են տարբերություններ աջլիկ և ձախլիկ փորձարկվողների ինտելլեկտուալ զարգացվածության և առաջարկված խնդրի արդյունավետ կատարման ապահովման նյարդաֆիզիոլոգիական մեխանիզմներում:

Features of brain mechanisms of the maze-model task solving were studied in right- and left-handed men. IQ differences and differences in the neurophysiologic mechanisms were found during the realization of maze-model task.

*Невербальный интеллект - фокус максимальной амплитуды -
лабиринтная игра*

Психологические и физиологические особенности левшей, а также различия в организации психических способностей леворуких и праворуких практически не изучены и являются одной из актуальных проблем современной психофизиологии. Особый интерес исследователей вызывает вопрос большей интеллектуальной одаренности левшей по сравнению с правшами. Так, в исследованиях некоторых авторов отмечено, что среди одаренных испытуемых процент с доминирующей левой рукой выше, чем среди испытуемых со средними способностями [2, 5, 8]. Открытым остается и вопрос мозгового обеспечения различных типов интеллектуальной деятельности у левшей и правшей, и в частности деятельности, связанной с пространственной ориентировкой.

В связи с этим нами была поставлена цель исследовать некоторые особенности мозгового обеспечения у левшей и правшей при решении лабиринтной задачи.

Материал и методика. В исследовании принимали участие 10 практически здоровых испытуемых-левшей и 10 испытуемых-правшей мужского пола в возрасте от 18 до 23 лет.

Лев- и праворукость определяли по тестам "переплетение пальцев кисти", "скрещивание рук", "аплодирование". Испытуемые предварительно выполняли тест на невербальный интеллект ("Прогрессивные матрицы" Равена). Задание длилось для каждого испытуемого 1 ч и заключалось в выполнении на компьютере задачи лабиринтного характера. Для диагностики функционального состояния (ФС) головного мозга испытуемых регистрировали световые зрительные потенциалы до начала эксперимента (T_0) и после 1 ч (T_1) работы на компьютере. Анализировали компоненты P_{70} , N_{100} , N_{200} и P_{300} ВП по локализации в коре фокуса максимальной амплитуды (ФМА).

Результаты и обсуждение. Проведенное нами исследование невербального интеллекта показало, что 90% испытуемых-левшей и 50% испытуемых-правшей характеризовались высоким интеллектом (6-8 баллов по шкале теста).

Была прослежена внутригрупповая эффективность выполнения лабиринтной задачи испытуемыми: 70% испытуемых-левшей и 40% испытуемых-правшей выполняли предложенное задание с высокой эффективностью. Интересно отметить, что среди левшей высокой эффективностью выполнения предложенного задания характеризовались преимущественно "высокоинтеллектуальные" испытуемые, а среди правшей - преимущественно "низкоинтеллектуальные"; а большинство "высокоинтеллектуальных" правшей выполняли лабиринтную задачу с низкой эффективностью.

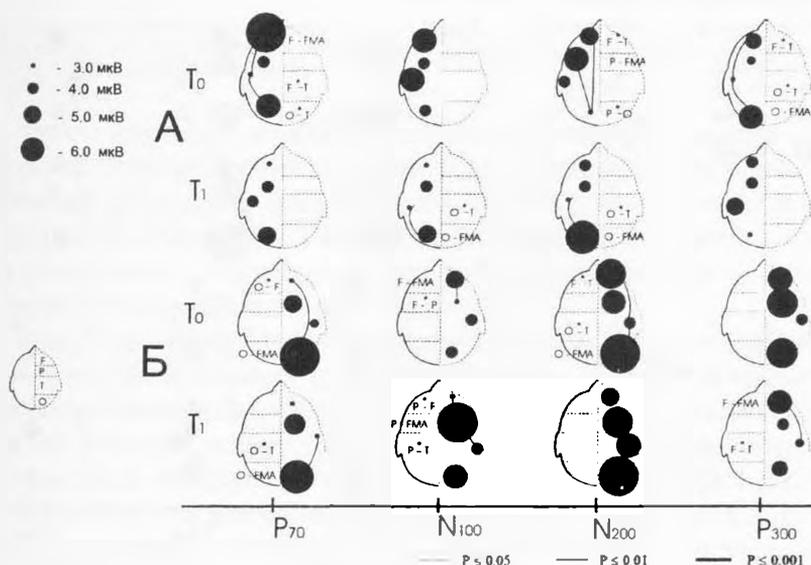


Рис. 1. Локализация ФМА компонентов P_{70} , N_{100} , N_{200} , P_{300} зрительных ВП в исследуемых областях коры левого (А) и правого (Б) полушарий испытуемых-левшей при 1-часовом выполнении лабиринтной задачи (T_0 и T_1 -экспериментальные серии.).

У испытуемых-левшей выявлена преимущественная локализация ФМА исследуемых компонентов во фронтальной и теменной областях левого полушария при T_0 ; при T_1 наблюдается смещение ФМА негативных компонентов в затылочную область и синхронизация активности исследуемых областей коры по положительным компонентам (рис. 1, А). В правом полушарии

исходная локализация ФМА исследуемых компонентов ВП отмечается преимущественно в затылочной области (выявлена также высокая активность фронтальной области коры), а после выполнения задания ФМА локализуется преимущественно во фронтальной и теменной областях (рис. 1, Б).

У испытуемых-правшей с низким IQ и высокой эффективностью деятельности по компоненту P_{70} наблюдается синхронизированная активность исследуемых областей коры обеих полушарий в обеих сериях регистраций. ФМА компонента N_{100} в левом полушарии стойко локализован в затылочной области (рис. 2, А). В то же время в правом полушарии по компоненту N_{100} изначально доминирует фронтальная область, а после игры исходная корковая интегративная структура разрушается, и ФМА перемещается в затылочную область (рис. 2, Б). По компоненту N_{200} в левом полушарии также наблюдается стойкое доминирование затылочной области (наблюдается также сравнительно высокая активность фронтальной и теменной областей). В правом полушарии в исходных регистрациях ФМА компонента N_{200} локализован в затылочной области, а после эксперимента активность коры синхронизируется. По компоненту P_{300} в левом полушарии при T_0 ФМА локализован в височной области, а при T_1 наблюдается синхронизированная активность исследуемых областей коры. В правом полушарии по компоненту P_{300} ФМА отсутствует в обеих сериях регистраций.

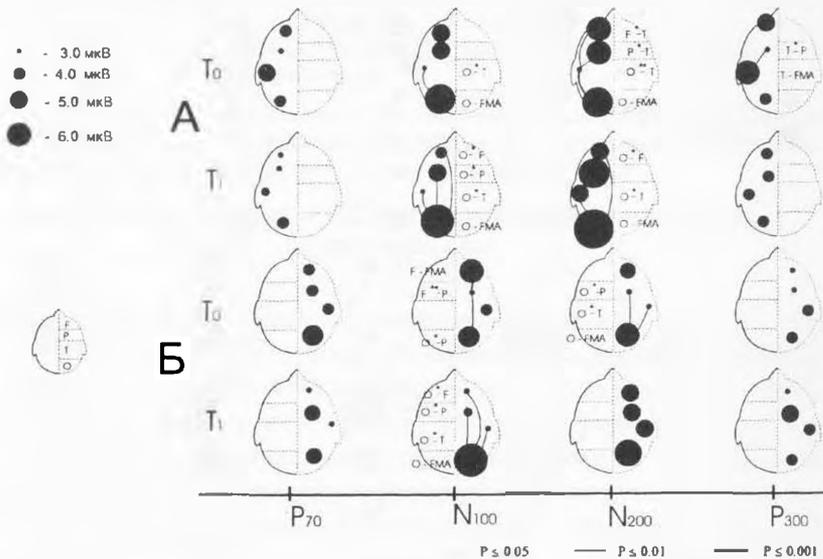


Рис. 2. Локализация ФМА компонентов P_{70} , N_{100} , N_{200} , P_{300} зрительных ВП в исследуемых областях коры левого (А) и правого (Б) полушарий испытуемых-правшей с низким IQ при 1-часовом выполнении лабиринтной задачи (T_0 и T_1 - экспериментальные серии).

Системный анализ корковой интеграции левого полушария у испытуемых-правшей, характеризующихся высоким IQ и низкой эффективностью деятельности, не выявил достоверных различий величины амплитуды между областями ни по одному компоненту (рис. 3, А). Системный анализ правого полушария по компоненту P_{70} обнаружил локализацию ФМА

компонента P_{70} в височной области при T_1 (рис. 3, Б). По остальным исследуемым компонентам наблюдается синхронизированная активность коры без достоверно доминирующего очага в обеих сериях регистраций (рис. 3, А).

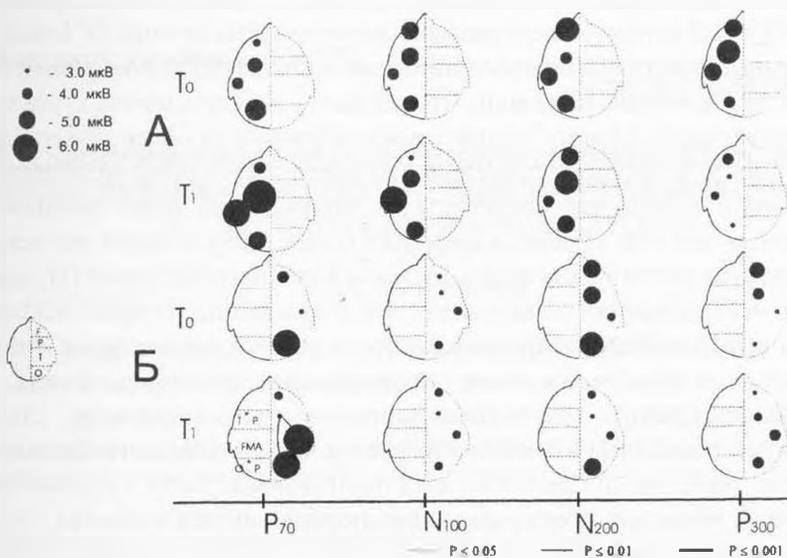


Рис. 3. Локализация ФМА компонентов P_{70} , N_{100} , N_{200} , P_{300} зрительных ВП в исследуемых областях коры левого (А) и правого (Б) полушарий испытуемых-правшей с высоким IQ при 1-часовом выполнении лабиринтной задачи (T_0 и T_1 - экспериментальные серии).

Таким образом, можно предположить, что выполнение задачи лабиринтного типа у правшей с высоким IQ происходит при преимущественно синхронной работе всех исследуемых областей без нарушения корковой интегративной структуры. Возможно, это и является причиной низкой эффективности выполнения предложенного задания "высокоинтеллектуальными" правшами.

Как уже отмечалось, выявленный нами больший процент "высокоинтеллектуальных" испытуемых среди левшей по сравнению с правшами соответствует литературным данным Бенбоу, Гешвинда, О' Бойла и др. о том, что среди испытуемых с высоким интеллектом левши встречаются чаще, чем среди испытуемых со средними способностями [2, 5, 8].

Известно, что зрительно-пространственные функции у левшей так же, как и у праворуких выполняются правым полушарием. Согласно данным Леви [7], невербальные задачи выполняются левшами хуже, чем правшами, однако в наших исследованиях эффективность выполнения невербальной задачи у левшей выше, чем у правшей.

Общеизвестно, что затылочная область обеспечивает основные механизмы зрительного гнозиса и играет важную роль в осуществлении адекватной глазодвигательной деятельности при решении различных зрительных задач [2], что объясняет необходимость высокой активности затылочной области коры головного мозга при решении задачи лабиринтного типа на компьютере. В то же время ряд авторов [4, 6, 10] на основании

результатов исследования нейронной активности фронтальной коры отводит определяющую роль в механизмах зрительного узнавания именно фронтальным областям коры головного мозга, если пространственное положение, как и в наших исследованиях, является существенным признаком задачи. Особый интерес представляют исследования группы О' Бойла [9], включающие дихотическое прослушивание слов и фонем, восприятие лиц-химер и др., которые показали, что во всех экспериментах с участием "высокоинтеллектуальных" испытуемых наблюдалась более значительная вовлеченность в текущую деятельность правой фронтальной области по сравнению с левой, что соответствует полученным нами данным для испытуемых-левшей. Имеются сведения о том, что у левшей нет четкого распределения ролей между отделами коры больших полушарий [1], однако в наших исследованиях обнаружено, что в правом полушарии основную нагрузку при выполнении предложенного задания несут передние и задние ассоциативные области, а в левом - проекционная зрительная область.

Таким образом, полученные данные выявляют высокую степень развития невербального интеллекта у левшей, которая связана с особенностями механизма обеспечения решения пространственных задач - сопряженной активацией областей, обеспечивающих первичный зрительный синтез, и областей, обеспечивающих пространственно-образную ориентировку. В отличие от них испытуемым-правшам достаточной активации только левой затылочной области (на фоне высокой исходной активности фронтальной и теменной областей). Возможно, это объясняется тем, что испытуемые-левши "активно" решают предложенную задачу, анализируя и оценивая ситуацию на протяжении всего отведенного времени, а испытуемые-правши - "пассивно": в начале работы находят принцип решения и "механически" выполняют задание до конца.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доброхотова Т.А., Брагина Н.Н. Левши. М., Книга лтд. 232. 1994.
2. Меерсон Я.А. Высшие зрительные функции. Л., Наука, 1986.
3. Benbow C.P. Brain a. Behav. Sci., 11, 169, 1988.
4. Crick F., Koch Ch. Nature. May. 375, 11, 121, 1995.
5. Geschwind N., Behan P. Proc. National Acad. Sci. USA. 79, p. 5097, 1982.
6. Goldman - Rakic P. S. Proc. National Acad. Sci. USA. Nov. 26, 93 (24), 73, 1996.
7. Levi J., Gur R.C. Herron J. (ed.) Neuropsychology of left-handedness. N. Y., 152, 1980.
8. O'Boyle M.W., Benbow C.P. Handedness and its relationship to ability and talent. In: Coren S. (ed.) Left-handedness: Behavioral-implications and anomalies. Amsterdam, 343, 1990.
9. O'Boyle M.W., Benbow C.P., Alexander J.E. Devel. Neuropsychol. 11, 4, 415, 1995.
10. Stuss D.T. et al. J. Comp. Physiol. Psychol. 96, 913, 1982.

Поступила 16.III.2005

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ЦИРРОЗ ПЕЧЕНИ КРЫС И РЕГУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФАКТОРОВ В АКТИВНОСТИ АТФ-ФОСФОГИДРОЛАЗ

А.С. МАРГАРЯН

Институт биохимии им. Буятяна НАН РА, 375014, Ереван

Исследованы сдвиги активности Mg^{2+} -, Ca^{2+} - и HCO_3^- -зависимых АТФаз в изолированных митохондриях ткани. Было показано, что при циррозе каталитическая активность исследованных АТФаз в митохондриях печени заметно угнетается. Вводимый крысам на фоне цирроза α -токоферол восстанавливает активность фермента до уровня контрольных величин. Тиосульфат натрия в меньшей степени, но также способствует восстановлению активности фермента. Интерпретируется роль α -токоферола и его синергиста - тиосульфата натрия как главных факторов в системе эндогенной антирадикальной защиты клетки при экспериментальном циррозе печени.

Դետազոտվել է Mg^{2+} -, Ca^{2+} - և HCO_3^- -կախյալ ԱՏՖազների ակտիվության տեղաշարժերը այդ հյուսվածքից անջատված միտոքոնդրիումներում: Ցույց է տրվել, որ ցիրոզի դեպքում ԱՏՖազների կատալիտիկ ակտիվությունը լյարդի միտոքոնդրիումներում զգալիորեն ճնշվում է: Ցիրոզի ֆոնի վրա առնետներին ներարկված α -տոկոֆերոլը վերականգնում է ֆերմենտի ակտիվությունը մինչև ստուգիչ մեծությունների մակարդակ: Ներարկված նատրիումի թիոսուլֆատը համեմատաբար թույլ բայց նույնպես վերականգնում է ֆերմենտի ակտիվությունը: Ակնհայտ է α -տոկոֆերոլի և նրա համազործիչ՝ նատրիումի թիոսուլֆատի դերը բջջի էնդոգեն հակառադիկալային պաշտպանության համակարգում՝ լյարդի փորձարարական ցիրոզի դեպքում:

At rats with experimental liver cirrhosis, induced by CCl_4 the shifts of Mg^{2+} -, Ca^{2+} - and HCO_3^- -dependent ATPases activity in isolated mitochondria of that tissue are investigated. It was shown, that at a cirrhosis, in comparison with intact animals, the catalytic activity of the investigated ATPases in liver mitochondria is inhibited. Alpha-tocopherol introduced to rats on the background of a cirrhosis reduces the enzyme activity up to control level. Sodium thiosulfate also promotes the reduction of the enzyme activity, though to a lesser degree. It is clarified the role α -tocopherol and it synergist, sodium thiosulfate, as the main factors in the system of endogenous antiradical cell protection at experimental liver cirrhosis.

Митохондрии печени – цирроз – АТФазная активность – α -токоферол – тиосульфат натрия.

Цирроз печени - прогрессирующее заболевание, характеризующееся дистрофией или некрозом гепатоцитов, сопровождающееся глубокой

перестройкой дольковой и сосудистой архитектоники органа. Это заболевание в настоящее время является одним из распространенных в различных странах мира. Молекулярные механизмы патогенеза цирроза печени продолжают оставаться в поле зрения исследователей различных направлений гепатологии академического и прикладного профиля. Отсутствие принципиально новой информации, позволяющей осмыслить истинных причинно-следственных факторов, обуславливающих природу указанной патологии, создает существенные трудности в поиске мер по нивелированию и коррекции причин, лежащих в основе инициации, развития и генерализации этиопатогенетических механизмов цирроза.

С отмеченной точки зрения особого внимания заслуживают расстройства, происходящие в различных структурах печени, как целостных клеток, так и их субклеточных образований, а также протекающие в них процессы метаболизма и функциональной активности.

Механизмы повреждающего действия CCl_4 *in vivo* при инициировании цирроза печени крыс связаны со снижением уровня антирадикальной защитной системы и повышением липидной перекисидации в печеночной ткани [8] с повышением содержания $\text{NO}\cdot$ [7, 9] и цитохрома *c* оксидазы [14] с расширением терминальных сосудов печени [13], со снижением тотального и венозного кровотока [12], с изменением кровяного давления в печени [13]. В этих условиях эксперимента наблюдается дисбаланс между продуцирующими и утилизирующими активными формами кислорода, в первую очередь супероксидных радикалов ($\text{O}_2\cdot^-$). Однако молекулярные механизмы непосредственного воздействия CCl_4 на отдельные компоненты энергетического метаболизма еще остаются открытыми [5].

В настоящей работе мы задались целью исследовать сдвиги в активности Mg^{2+} -, Ca^{2+} - и HCO_3^- -зависимых АТФаз в митохондриях печени крыс при циррозе печени, индуцированном CCl_4 , и нивелирующую роль факторов антиоксидантного действия — α -токоферола (ТФ) и тиосульфата натрия (ТСН) в этих отклонениях.

Материал и методика. Белые половозрелые крысы-самцы (массой 180-200 г) были разделены на шесть групп (по 6 животных в каждой). В течение 20-ти дней два раза в неделю опытным крысам внутрибрюшинно вводили 0,3 мл CCl_4 , в остальных группах животные получали CCl_4 и одновременно 0,4 мг ТФ или 1мл ТСН. Контрольной группе вводили 1мл физиологического раствора.

Животные были декапитированы под легким эфирным наркозом. Печень извлекали на холоду, промывали в охлажденном растворе 0,25 М сахарозы-0,02 М трис HCl буфера (рН 7,4). Ядерную фракцию печени выделяли центрифугированием при 800 г в течение 10 мин, митохондриальную — при 9000 г в течение 15 мин. Инкубационная смесь (2 мл) для определения АТФ-фосфогидролазной активности содержала: 1,6 мл 0,25 М сахарозы

0,02 М трис-НСl буфера, 0,2 мл митохондрий (соответствующей 2,3 мг белка), 2 мМ АТФ (производство "Sigma corp"), растворенного в 0,2 М сахарозе, и 1 мМ Mg^{2+} ($MgCl_2$), Ca^{2+} ($CaCl_2$) или 40 мМ HCO_3^- ($NaHCO_3$) в конечной концентрации [5, 6]. Время инкубации смеси 30 мин. температура 37°. Об активности АТФазы судили по повышению в среде содержания неорганического фосфата, который определяли по Лоури и соавт. [10] в модификации Скулачева [6] и пересчитывали на 1 мг белка [11]. Полученные данные обработаны статистически. Достоверность различий между средними величинами определяли по t-критерию Стьюдента [11].

Результаты и обсуждение. Результаты наших экспериментов, приведенные в табл. 1, показывают, что при CCl_4 -индуцированном циррозе, по сравнению с интактными животными, общая (без добавления активаторов) АТФ-азная активность в изолированных митохондриях печени заметно (60 %) подавляется. Введение больным животным ТФ заметно (80 %) повышает каталитическую активность фермента по сравнению с контролем. Наблюдается также стимулирование активности фермента при совместном действии CCl_4 +ТФ по сравнению с одним ТФ. Согласно табл. 1, в присутствии ионов Mg активность фермента более чем в 2 раза стимулируется по сравнению с контролем. При циррозе у крыс активность Mg^{2+} -зависимой АТФазы подавляется в 2 раза. Однако в варианте с совместной инъекцией CCl_4 +ТФ полученные цифры приближаются к контролю.

Таблица 1. Mg^{2+} -зависимая АТФазная активность в митохондриях печени белых крыс при CCl_4 -индуцированном циррозе печени и корригирующее действие ТФ и ТСН (ΔP в мкатомах/мг белка/30 мин) $M \pm S M. E.$; $n=6$

| Условия опытов | Общая активность (без добавления активаторов) | Mg^{2+} -АТФаза |
|----------------|--|----------------------------------|
| Контроль | $5,68 \pm 0,07$ | $12,42 \pm 0,11$ |
| CCl_4 | $3,45 \pm 0,03$ $P < 0,001$ | $5,49 \pm 0,05$ $P < 0,001$ |
| ТФ | $4,21 \pm 0,03$ $P < 0,001$ | $5,68 \pm 0,24$ $P < 0,001$ |
| CCl_4 +ТФ | $8,01 \pm 0,14$ $P_1^{**} < 0,001$ | $9,98 \pm 0,04$ $P_1 < 0,001$ |
| ТСН | $2,85 \pm 0,06$ $P < 0,001$ | $4,50 \pm 0,10$ $P < 0,001$ |
| CCl_4 +ТСН | $3,35 \pm 0,03$ $P_1 < 0,010$ | $5,98 \pm 0,06$ $P_1 < 0,001$ |

*P - в сравнении с контролем.

**P₁ - в сравнении с получившей CCl_4 группой.

Сдвиги активности Ca^{2+} - и HCO_3^- -зависимых АТФаз при циррозе печени приведены в табл. 2.

CCl_4 заметно подавляет каталитическую активность Ca^{2+} , а также HCO_3^- -зависимых АТФаз. На фоне цирроза введенный ТФ интенсивно

восстанавливает активность фермента, которая, однако, не достигает уровня контрольных цифр.

Таблица 2. Сдвиги активности Ca^{2+} - и HCO_3^- -зависимых АТФаз в митохондриях печени белых крыс при CCl_4 -индуцированном циррозе печени и корректирующее действие антиоксидантных факторов (ΔP в мкатамах/мг белка/30 мин) $M \pm S M. E.$; $n=6$

| Условия опытов | Ca^{2+} -АТФаза | HCO_3^- -АТФаза |
|----------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Контроль | $12,90 \pm 0,12$ | $9,25 \pm 0,30$ |
| CCl_4 | $6,76 \pm 0,02$ $P < 0,001$ | $3,36 \pm 0,03$ $P < 0,001$ |
| ТФ | $5,91 \pm 0,12$ $P < 0,001$ | $3,05 \pm 0,09$ $P < 0,001$ |
| CCl_4 + ТФ | $8,75 \pm 0,03$ $P_1 < 0,001$ | $6,04 \pm 0,22$ $P_1 < 0,001$ |
| ТСН | $3,93 \pm 0,01$ $P < 0,001$ | $2,25 \pm 0,01$ $P < 0,001$ |
| CCl_4 + ТСН | $5,23 \pm 0,07$ $P_1 < 0,001$ | $3,05 \pm 0,04$ $P_1 < 0,001$ |

*P — в сравнении с контролем.

**P₁ — в сравнении с получившей CCl_4 группой.

Результаты наших исследований свидетельствуют о важном мобилизирующем влиянии ТФ и его синергиста ТСН на соответствующие системы эндогенной антирадикальной защиты клетки (табл. 1, 2). С этой точки зрения особого внимания заслуживает ТСН, отрекомендовавший себя [2-4] в качестве эффективного синергиста гидроксиформы эндогенного ТФ — главного представителя антиоксидантного механизма различных биологических систем организма. Подобная трактовка наиболее приемлема в отношении ткани печени, отличающейся многопрофильностью функциональной активности и главным образом наличием обезвреживающих антитоксических механизмов, направленных на нейтрализацию ряда вредоносных факторов, участвующих в инициации, развитии и генерализации оксидативного стресса как главного патологического начала любого болезненного состояния организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бессмертный Б.С.* Математическая статистика в клинической, профилактической и экспериментальной медицине. М., 1967.
2. *Каригезян К.Г., Симаворян П.С., Овакимян С.С., Бабок Ю.В.* Бюлл. эксперим. биол. и мед., 7, 45-49, 1975.
3. *Матиян Г.В.* Изв. АН АрмССР (сер. биол.), 12, 6, 33-42, 1959.

4. Матинян Г.В. Биолог. журн. Армении, 21, 9, 22-29, 1968.
5. Симомян А.А., Бадалян Р.Б., Симомян Л.А., Степанян Р.А., Галоян А.А. Нейрохимия, 19 (2), 143-145, 2002.
6. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. М.: Наука, 564, 1989.
7. Fields M., Lewis C.G. Ann. Clin. Biochem., 13, 656-663, 1997.
8. Gonzalez-Reimers E., Lopez-Lirola A., Olivera R.M. et al. Biol. Trace. Elem. Res., 93, 127-140, 2003.
9. Koruk M., Aksoy H., Aksoy F., Onuk M.D. Ann. Clin. Lab. Sci., 32, 252-256, 2002.
10. Lowry O.H., Lopez J.A. Biol. Chem., 162, 421, 1946.
11. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Biol. Chem., 193, 265-275, 1951.
12. Richter S., Mocke I., Menger M.D., Vollmar B. Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol., 279, 454-462, 2000.
13. Sherman I.A., Pappas S.C., Fisher M.M. Am. J. Physiol., 258, 460-465, 1990.
14. Tanaka A., Morimoto T., Wakashiro S. et al. 41 741-748, 1987.

Поступила 29.IV.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 577.23:582.287

ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ВЫСШИХ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ

Л.Г. АНТОНЯН, В.Б. ГОГИНЯН, С.А. ГЕВОРКЯН

Республиканский Центр депонирования микробов ИАН Армении, 378510, Абовян

Изучена возможность использования отходов бродильной промышленности и сельского хозяйства для выращивания высших съедобных грибов и производства компостов.

Разработаны составы компостов на основе соломы для выращивания грибов с добавками стоков метанового брожения. Установлена возможность применения пивной дробины с добавками отходов бродильных производств, а также отходов топинамбура для выращивания мицелия и плодовых тел.

Ուսումնասիրվել է խմորող արտադրությունների և գյուղատնտեսության բափոկների օգտագործման հնարավորությունը ուտելի սնկերի աճեցման և կոմպոստի արտադրման համար:

Մշակվել է ծղոտի հիմքով կոմպոստի կազմը մեթանային խմորման հոսքաջրերի ալվեացմամբ սնկերի աճեցման համար: Հաստատվել է գարեջրի մանրուքի, գետնախնձորի բափոկների և խմորող արտադրությունների հոսքաջրերի կիրառման հնարավորությունը միցելիումի և պտղամարմնի աճեցման համար:

The wastes and by-products of fermentation industry and agriculture have been used for cultivation of the mycelium of edible mushrooms and production of composts.

The compositions of compost straw for growth of mushrooms with methane fermentation of effluents have been developed. The use of spent barley corn with addition of fermentation wastes as well as topinambur by-products has been established for cultivation of mycelium and fruit bodies.

Метановая бражка — базидиомицеты - компосты

Базидиальные грибы, являясь наиболее важной группой съедобных грибов, в последние годы привлекают всеобщее внимание не только с точки зрения своей пищевой ценности, но и уникальной способностью утилизировать промышленные отходы различного происхождения [4, 5]. Исключительно ценно и то, что они продуцируют качественно новые биологически активные соединения, потребность в которых все возрастает.

Культуры шампиньона двуспорового - *Agaricus bisporus* и вешенки обыкновенной - *Pleurotus ostreatus* получили широкое распространение благодаря ряду положительных хозяйственных качеств. Будучи сапрофитными базидиомицетами, они успешно растут, в том числе на субстратах, являющихся отходами сельского производства и перерабатывающей промышленности

(солома злаковых, навоз животных и птичий помет, меласса, сусло и т.п.) [3].

В наших исследованиях изучена возможность выращивания высших съедобных грибов родов *Agaricus* и *Pleurotus* на отходах промышленных и сельскохозяйственных производств (солома, пивная дробина, пивная барда, винная барда, спиртовая барда, выжимка и сок топинамбура, метановые бражки, полученные на основе птичьего помета, выжимки топинамбура, пивной, винной и спиртовой бард) [1, 2].

Исследования проводились в трех принципиально отличных друг от друга направлениях: выращивание высококачественного посевного мицелия высших съедобных грибов с использованием субстратов на основе отходов производств, приготовление полусинтетических субстратов/компостов на основе соломы с компонентами добавок промышленных отходов, в том числе отходов метанового брожения и получение плодовых тел (экспериментального урожая) высших съедобных грибов на предлагаемых компостах.

Материал и методика. 1) Подготовка субстратов для выращивания мицелия высших съедобных грибов родов *Agaricus* и *Pleurotus*. В качестве основы для сырья при приготовлении субстратов с целью получения мицелиальной массы грибов использовали солому и пивную дробину, куда в определенных пропорциях (1:0,5; 1:1; 1:1,5 и 1:2) добавляли следующие компоненты: выжимку и сок топинамбура, винную, спиртовую и пивную барды, метановые бражки, полученные в результате ферментации птичьего помета, выжимки топинамбура, винной, спиртовой и пивной бард.

В качестве контролей использовали субстраты на основе зерна твердых сортов пшеницы и сухой пивной дробины (овес), приготовленных по классическому методу, описанного Лемке (предварительно замоченные и оставленные на ночь зерно/дробину варили в течение 30-40 мин, поверхностно охлаждали, добавляли из расчета на 10 кг 120 г гипса и 30 г мела, рН 7,0) [6].

Подготовленные субстраты загружали на 2/3 объема в однолитровые бутылки и стерилизовали в автоклаве при 1 атм 1 ч. Заражение субстратов проводили в асептических условиях с использованием штаммов базидиомицетов из Коллекции культур РЦДМ *Agaricus bisporus* 2008 и *Pleurotus ostreatus* НК-99, предварительно выращенных на зерне классического метода приготовления.

Инкубацию проводили в термостатированной комнате (24°) при периодическом перемешивании субстратов, относительная влажность 90%. Учет результатов осуществляли на 7-е и 14-е сутки.

2) Приготовление полусинтетических компостов с использованием отходов производств. Основными компонентами субстратов при приготовлении полусинтетических компостов являлись солома и метановые бражки различного происхождения с добавлением в качестве источника азота KNO_3 в разных весовых количествах (г/кг субстрата): метановая бражка спиртовой барды (KNO_3 - 100,0); спиртовая барда (KNO_3 - 100,0); спиртовая барда; метановая бражка пивной барды (KNO_3 - 8,0); пивная барда (KNO_3 - 8,0); пивная барда; метановая бражка пивной барды; метановая бражка выжимки топинамбура (KNO_3 - 36,0); выжимка топинамбура (KNO_3 - 36,0); выжимка топинамбура; метановая бражка выжимки топинамбура; метановая бражка птичьего помета (KNO_3 - 100,0); метановая бражка птичьего помета; компост по классическому методу приготовления (контроль).

Измельченную солому загружали в специальные кварцевые лотки, куда добавляли соответствующие компоненты и добавки, рН 7,0. Лотки с субстратами загружали в боршевой

котел и пастеризовали при 0,5 атм в течение 1 ч. Заражение субстратов проводили в асептических условиях с использованием штаммов базидиомицетов из Коллекции РЦДМ *Agaricus bisporus* 2008 и *Pleurotus ostreatus* НК-99, предварительно выращенных на зерне классического метода приготовления. Инкубацию проводили в термостатированной комнате (24°) в условиях относительной влажности 90%. Учет результатов осуществляли на 7-е и 14-е сутки.

3) Получение плодовых тел (экспериментального урожая) высших съедобных грибов.

По окончании разлития мицелия базидиомицетов лотки с исследуемыми субстратами засыпали «покровным материалом», состоящим из смеси торфа (рН 7-7.2) и перлита в соотношении 5:2, предварительно продезинфицированным раствором формалина из расчета на 1 м³ субстрата – формалина – 2 л, разбавленного 10 л воды. Образование плодовых тел наступало через 14 сут при температуре воздуха 16°, относительной влажности 90% и активном воздухообмене.

Микрофотографии мицелия базидиомицетов проводили с помощью микроскопа Micros 200A (Micros, Austria) и цифрового фотоаппарата Nikon CP5400 (Nikon, Japan).

Результаты и обсуждение. В табл. 1 представлена характеристика роста посевного мицелия высших съедобных грибов видов *Agaricus bisporus* шт. 2008 и *Pleurotus ostreatus* шт. НК-99 на субстратах, представляющих собой отходы промышленных и сельскохозяйственных производств. Было установлено, что интенсивность роста мицелия зависит как от родовых признаков штаммов, так и компонентного состава субстратов. Кроме того, было показано, что наличие высокой влажности в исследуемых субстратах также препятствует активному развитию мицелия.

Наиболее активное развитие мицелиальной массы наблюдалось у вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*) (табл. 1). Данный базидиомицет особенно активно развивается на субстратах 2 и 9, а также на контрольном субстрате 1. Менее активно, и тем не менее достаточно хорошо этот гриб растет на субстратах 4, 10, 16, 23 и контрольном 24. В отличие от вешенки, развитие мицелиальной массы шампиньона двуспорового (*Agaricus bisporus*) проявляется несколько слабее. Так, наилучший результат отмечался при использовании субстратов 12 и контрольном 1.

Таким образом, сравнительная оценка используемых субстратов показала, что наиболее выгодными для активного роста и развития посевного мицелия грибов родов *Agaricus* и *Pleurotus* являются субстраты, получаемые на основе пивной дробины с добавками выжимки и сока топинамбура.

В табл. 2 представлены сравнительные характеристики роста мицелия высших съедобных грибов родов *Agaricus* и *Pleurotus* на подготовленных нами полусинтетических компостах. Установлен активный рост изученных базидиомицетов на субстратах с соломой, в которые были добавлены метановые бражки выжимки топинамбура (варианты 3 и 11) и птичьего помета (вариант 13), а также чистая выжимка топинамбура (вариант 10).

На рис. 1 представлены микрофотографии обрастания субстратов мицелием исследуемых грибов.

Таблица 1. Характеристика роста посевного мицелия высших съедобных грибов родов *Agaricus* и *Pleurotus* на отходах промышленных и сельскохозяйственных производств (по 6-балльной шкале оценок)

| № № | Субстраты / соотношение компонентов | Характер роста высших съедобных грибов, сут. | | | |
|-----|---|--|------|--|------|
| | | <i>Agaricus bisporus</i> , шт. 2008 | | <i>Pleurotus ostreatus</i> , шт. НК-99 | |
| | | 7-е | 14-е | 7-е | 14-е |
| 1 | Пшеница по классическому методу (<i>Контроль 1</i>) | 5+ | 5+ | 5+ | 5+ |
| 2 | Пивная дробина, солома, метановая птичьего навоза (1:1:1) | бражка 1+ | 1+ | 5+ | 3+ |
| 3 | Пивная дробина, метановая бражка птичьего навоза (1:1) | 1+ | 2+ | 1+ | 4+ |
| 4 | Пивная дробина, метановая бражка птичьего навоза (1:0,5) | 2+ | 0+ | 3+ | 1+ |
| 5 | Пивная дробина, метановая бражка птичьего навоза (1:1,5) | 0 | 2+ | 1+ | 4+ |
| 6 | Пивная дробина, метановая бражка из выжимки топинамбура (1:1) | 2+ | 2+ | 2+ | 4+ |
| 7 | Пивная дробина, метановая бражка из выжимки топинамбура (1:0,5) | 1+ | 1+ | 4+ | 2+ |
| 8 | Пивная дробина, метановая бражка из выжимки топинамбура (1:2) | 0 | 4+ | 2+ | 5+ |
| 9 | Пивная дробина, выжимка топинамбура (1:1) | 2+ | 3+ | 5+ | 5+ |
| 10 | Пивная дробина, сок топинамбура (1:0,5) | 2+ | 1+ | 4+ | 3+ |
| 11 | Пивная дробина, сок топинамбура (1:2) | 1+ | 3+ | 2+ | 3+ |
| 12 | Пивная дробина, сок топинамбура (1:1) | 3+ | 0+ | 3+ | 2+ |
| 13 | Пивная дробина, метановая бражка пивной барды (1:1) | 0 | 1+ | 1+ | 4+ |
| 14 | Пивная дробина, метановая бражка пивной барды (1:0,5) | 0 | 2+ | 3+ | 3+ |
| 15 | Пивная дробина, пивная барда (1:1) | 1+ | 2+ | 3+ | 5+ |
| 16 | Пивная дробина, пивная барда (1:0,5) | 1+ | 1+ | 4+ | 3+ |
| 17 | Пивная дробина, пивная барда (1:2) | 0 | 1+ | 2+ | 4+ |
| 18 | Пивная дробина, спиртовая барда (1:1) | 1+ | 0+ | 2+ | 1+ |
| 19 | Пивная дробина, метановая бражка спиртовой барды (1:1) | 0 | 0+ | 2+ | 1+ |
| 20 | Пивная дробина, метановая бражка спиртовой барды (1:0,5) | 0 | 0+ | 1+ | 2+ |
| 21 | Пивная дробина, метановая бражка винной барды (1:1) | 1+ | 1+ | 3+ | 4+ |
| 22 | Пивная дробина, метановая бражка винной барды (1:0,5) | 1+ | 0+ | 3+ | 3+ |
| 23 | Пивная дробина, метановая бражка винной барды (1:2) | 2+ | 4+ | 4+ | 5+ |
| 24 | Пивная дробина по классическому методу (<i>Контроль 2</i>) | 2+ | 1+ | 4+ | 5+ |

Примечания: 0 баллов – полное отсутствие роста мицелия; 1 балл – незначительный рост мицелия; 2 балла – слабый рост мицелия; 3 балла – умеренный рост мицелия, субстрат поражен отдельными участками; 4 балла – хороший рост мицелия, субстрат активно поражен по всей поверхности; 5 баллов – интенсивный рост мицелия, субстрат активно поражен по всей поверхности, глубокий рост.

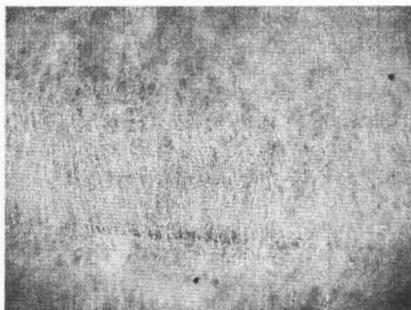
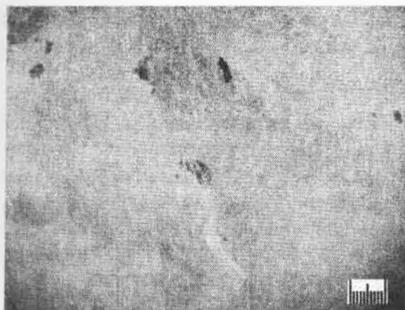
Таблица 2. Характеристика роста мицелия высших съедобных грибов родов *Agaricus* и *Pleurotus* на полусинтетических компостах (по 6-балльной шкале оценок)

| Вариант | Состав компостов, соотношение 1:1 | Характер роста высших съедобных грибов, сут | | | |
|-----------------|---|---|------|--------------------------------------|------|
| | | <i>Agaricus bisporus</i> шт. 2008 | | <i>Pleurotus ostreatus</i> шт. НК-99 | |
| | | 7-е | 14-е | 7-е | 14-е |
| 1 | Солома, метановая бражка спиртовой барды, KNO_3 | 1+ | 3+ | - | - |
| 2 | Солома, спиртовая барда, KNO_3 | 0 | 1+ | 4+ | 4+ |
| 3 | Солома, спиртовая барда | 1+ | 3+ | 3+ | 3+ |
| 4 | Солома, метановая бражка пивной барды, KNO_3 | 1+ | 2+ | 3+ | 2+ |
| 5 | Солома, пивная барда, KNO_3 | 2+ | 2+ | 4+ | 4+ |
| 6 | Солома, пивная барда | 1+ | 1+ | 4+ | 4+ |
| 7 | Солома, метановая бражка пивной барды | 0 | 3+ | 2+ | 4+ |
| 8 | Солома, метановая бражка выжимки топинамбура, KNO_3 | 0 | 4+ | 4+ | 5+ |
| 9 | Солома, выжимка топинамбура, KNO_3 | 3+ | 5+ | 3+ | 3+ |
| 10 | Солома, выжимка топинамбура | 4+ | 5+ | 5+ | 5+ |
| 11 | Солома, метановая бражка выжимки топинамбура | 2+ | 4+ | 5+ | 4+ |
| 12 | Солома, метановая бражка птичьего помета, KNO_3 | - | - | 1+ | 4+ |
| 13 | Солома, метановая бражка птичьего помета | 4+ | 5+ | 5+ | 5+ |
| Контроль | Компост по классическому методу | 5+ | 5+ | 5+ | 5+ |

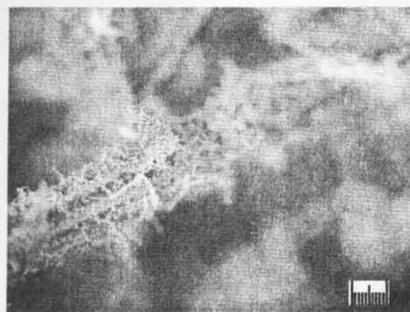
Примечания: 0 баллов – полное отсутствие роста мицелия; 1 балл – незначительный рост мицелия; 2 балла – слабый рост мицелия; 3 балла – умеренный рост мицелия, субстрат поражен отдельными участками, зонально; 4 балла – хороший рост мицелия, субстрат активно поражен по всей поверхности и в глубине; 5 баллов – интенсивный рост мицелия, субстрат активно поражен по всей поверхности, глубинный рост.

Таблица 3. Характеристика плодовых тел базидиомицетов родов *Agaricus* и *Pleurotus*

| Наименования штаммов | Описание плодовых тел |
|--|--|
| <i>Agaricus bisporus</i> , шт. 2008 | Плодовые тела мелкие (для консервного производства). Шляпка кремовая, поверхность гладкая (диаметр: 3,0-4,0 см). Ножка средней длины и толщины (размеры: 2,0-3,0x1,0-1,5 см). При несвоевременном сборе частное покрывало быстро разрывается, при этом шляпка выворачивается в виде перевернутого зонтика. Мякоть белая, вкус и запах приятные, грибные. Споры порошок коричневый. |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> , шт. НК-99 | Плодовые тела средней величины. Шляпка устрицеподобной формы темно-коричневого цвета (диаметр: 5-10 см). Сбегающие пластины белые. Ножка размерами: длина - 2,0-4,0 см, ширина - 1,0-2,0 см. Мякоть белая, вкус и запах приятные, грибные. Споры порошок коричневый или белый. Споры бесцветные. |



Agaricus bisporus 2008 (а - классический компост, б - субстрат на основе соломы и выжимки топинамбура)



Pleurotus ostreatus НК-99 (в - классический компост, г - субстрат на основе соломы и выжимки топинамбура)

Рис. 1. Микрофотографии обрастания субстратов мицелием базидиомицетов (цена деления – 0,01 мм)

В табл. 3 приведены товарные характеристики полученных плодовых тел базидиомицетов родов *Agaricus* и *Pleurotus*, полученных на полусинтетических компостах собственного приготовления.

На основании полученных результатов можно заключить, что рекомендуемые нами компосты вполне пригодны для получения высококачественных плодовых тел съедобных грибов, соответствующим стандартам промышленного грибоводства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антоян Л.Г. Биолог. журн. Армении, 1-2, 57, 88-92, 2005.
2. Бухало А.С. В кн.: Производство высших съедобных грибов в СССР, Киев, Наукова Думка, 24-29, 1978.
3. Гунте В. В кн.: Выращивание шампиньонов. Перевод с немецкого Мирошническо Г.Н., М., Колос, с. 3, 1979.
4. Дудка И.А., Бухало А.С. Производство высших съедобных грибов в СССР, Киев, Наукова Думка, 1978.
5. Дудка И.А., Вассер С.П. Методические рекомендации по промышленному культивированию съедобных грибов, Киев, Наукова Думка, 60 с., 1984.
6. Ранчева Ц. Интенсивное производство шампиньонов. Перевод с болгарского Карасева Г.Ф., М., Агропромиздат, 1990.

Поступила 16.11.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 577.23

ՄԵՔԱՆԱՅԻՆ ԽՄՈՐՄԱՆ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ԽՄՈՐՈՂ ԱՐԴՅՈՒՆԱԲԵՐՈՒԹՅԱՆ ԹԱՓՈՆՆԵՐԻ ՎԵՐԱՄՇԱԿՄԱՆ ՀԱՍԱՐ

Լ.Գ. ԱՆՏՈՆՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Մանրէների Ավանդադրման Հանրապետական Կենտրոն,
378510, ք. Արմվյան

Փորձարկվել և ցույց են տրվել գարեջրի, գինու և սպիրտի տեղական արտադրությունների օգտանական թափոնների վերամշակման համար մեթանային խմորման արդյունավետ օգտագործման պայմանները: Հաստատվել է օգտագործվող սուբստրատի նկատմամբ հարմարեցված մերանների կիրառման արտադրողականությունը և նրանց պահպանման հնարավորությունը հեղուկ ազոտում:

Выявлены условия эффективного использования метанового брожения для переработки органических отходов местной пивоваренной, винодельческой и спиртовой промышленности. Установлены продуктивность применения адаптированных к используемому субстрату заквасок и возможность консервации их в жидком азоте.

By-products and wastes of domestic fermentation industry have been applied for methane fermentation and the efficient conditions for the process have been revealed. The need for the use of well-adapted to the substrate used of methanogenic starters are emphasized. The cryoconservation (liquid nitrogen -196°) of the starters has been established without the loss of viability and reproduction of the methanogenic activity.

Խմորող արդյունաբերության թափոններ – մեթանառաջացում - կենսագագ

Հայաստանում խմորող արտադրությունների կտրուկ զարգացման և խոշոր արտադրական համալիրների ստեղծման հետ արտահերթ խնդիրներ են առաջանում կապված արտադրության արդյունավետ կառավարման հետ: Այդ տեսակետից առանձնապես կարևոր է արտադրության թափոնների ոչ միայն վնասազերծումը, այլև լիարժեք օգտագործումը: Այս առնչությամբ շատ շահավետ է մեթանային խմորումը թափոնները ավելի արդյունավետ օգտագործելու և վնասազերծելու համար:

Մեթանային խմորման պրոցեսը ընթանում է ոչ ստերիլ պայմաններում և բուսական ու կենդանական ծագման մնացորդներում առկա բազմազան միկրոօրգանիզմներ այդ թվում հիվանդածին ձևեր, հանդիսանում են այս թափոնների վերամշակման համար մեթանային խմորման, հատկապես բարձր ջերմաստիճաններում, օգտագործման նպատակահարմարության ապացույց [2-4]: Հայաստանում որոշ խմորող արտադրությունների թափոնների օգտագործումը վիտամին B_{12} ստացման համար հաստատվել է Բալայանի և համահեղինակների կողմից [1]:

Մեր աշխատանքների հիմնական նպատակ է հանդիսացել այդ

բազմակողմանի պրոցեսի ուսումնասիրությունը խմորող արտադրությունների թափոնների վերանշակման և օգտագործման համար:

Նյութ և մեթոդ: Օգտագործվել են գարեջրի, սպիրտի և զինու արտադրական թափոններ (կենսազանգված) և հոսքաջրեր: Մեթանային խմորումը տարվել է լաբորատոր պայմաններում 1 և 22 Երում, որոնք տեղադրվել են 40° և 50° թերմոստատներում: Առաջացած կենսազագի ծավալը չափվել է ըստ դուրս մղված ջրի ծավալի, որը համապատասխանում էր դուրս մղված գազի ծավալին 1:1 հարաբերությամբ: Արդյունքները գրանցվել են սկսած 3-րդ օրվանից յուրաքանչյուր կենտ օր, մինչև 15-րդ օրը: Սուբստրատների pH մինչև մերանների ավելացումը կարգավորվել է մինչև pH 7,0 - 7,5:

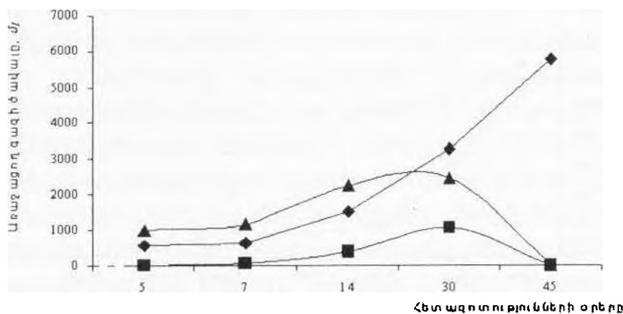
Արդյունքներ և քննարկում: Օգտագործվող սուբստրատների մեթանային խմորման պրոցեսների ապահովման համար կարևորագույն պայմանը մեր համար հանդիսացել է բարենպաստ և արդյունավետ մերանի ցանքսանյութի ընտրությունը և կիրառումը:

Աշխատանքում օգտագործվել են Հայաստանի տարբեր խմորող արտադրությունների թափոններ (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Հայաստանի խմորող արտադրությունների ուսումնասիրված թափոնների բնութագրերը

| Անվանումը | Ծագումը | Հումքը | Մշակումը |
|-----------------|--------------------------|----------------------------|--|
| Սպիրտային խյուս | Աբովյանի սպիրտի գործարան | Խոշոր աղացած ցորենի ալյուր | Ամիլոլիտիկ հիդրոլիզ, սպիրտային խմորում, թորում |
| Գարեջրի խյուս | ՄՊԸ «Երևան գարեջուր» | Գարի | Գարու շաքարացումը ածիկով, ֆերմենտացիա, ֆիլտրացիա |
| Գինու խյուս | Գինու գործարան | Խաղող (մուսկատ) | Խաղողի հյութի սպիրտային խմորում, ֆիլտրացիա |
| Գետնախնձոր | Կոտայքի մարզ | Գետնախնձորի պալարներ | Լվացում, մանրացում, լվացում տաք ջրով, ֆիլտրացիա |

Հաշվի առնելով թափոնների յուրահատկությունները բոլոր փորձարկված սուբստրատները օգտագործվել են միանման պայմաններում և օպտիմալացվել են միջավայրի pH (7,0), ջերմաստիճանը և կիրառված կուլտուրալ հեղուկի ծավալը: Փորձերում օգտագործվել են ստերիլիզացված սուբստրատներ: Փորձերի արդյունքում հաստատվել է, որ տվյալ փորձարկված սուբստրատին հարմարեցված մեթանային դիրտը արագացնում է մեթանային պրոցեսը: Նույնանման փորձեր կատարվել են սպիրտի, գինու,



Նկ. 1. Մեթանային խմորման պրոցեսների ջերմաստիճանից կախված կենսազագի արտադրումը: ▲ - ԽԵՄ գոմաղբ, 50°; ■ - ԽԵՄ գոմաղբ, 40°; ◆ - թռչնաղբ, 40°:

գարեջրի դիրտի օգտագործմամբ և գետնախնձորի պալարների մշակման հետևանքով առաջացած թափոնների հետ, որոնք հաստատել են նշված եզրակացությունը:

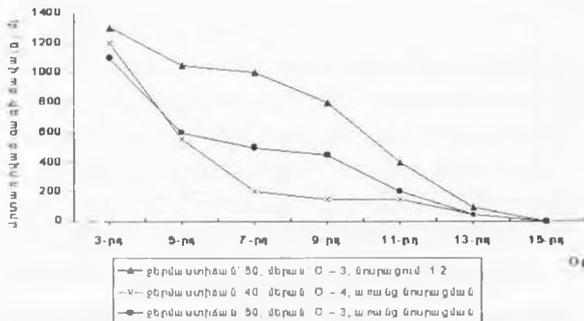
Նկ.1-ում ցույց է տրված մեթանագոյացումը 40° և 50° ֆերմենտացիայի ջերմաստիճաններում խոշոր եղջերավոր անասունների (խեԱ) գոմաղբի և 50° թռչնաղբի մեթանների ավելացումով: Թերմոֆիլ պայմաններում տեղի է ունենում սուբստրատի մասնակի պաստերիզացում, որը թույլ է տալիս հետագայում օգտագործել վերամշակված սուբստրատը՝ մեթանային դիրտը որպես վիտամին B₁₂-ի ստացման աղբյուր և օրգանական պարարտանյութ: Հետաքրքրական է, որ 1 տարվա պահպանման չորացված մեթանային դիրտը պահպանում է մեթանագեն միկրոֆլորան, ինչը կարելի է գործնականորեն կիրառել և կոնսերվացնել մերան երկարատև ժամանակով:

Աղյուսակ 2. Տարբեր ծագում ունեցող մեթանների ազդեցությունը մեթանային խմորման պրոցեսի վրա և pH-ի դինամիկան

| Մերան / պրոցեսի ջերմաստիճանային ռեժիմ | Առաջացած գազի ծավալը (մլ) և pH-ի դինամիկան | | | | | | | | | | Առաջացած գազի ընդհանուր ծավալը, մլ |
|---------------------------------------|--|-----|-----------------------|-----|------------------------|------------------|------------------------|-----|-----------------------|-----|------------------------------------|
| | 5-րդ օր | | 7-րդ օր | | 14-րդ օր | | 30-րդ օր | | 45-րդ օր | | |
| | գազ | pH | գազ | pH | գազ | pH | գազ | pH | գազ | pH | |
| խեԱ գոմաղբ / 50° | 1000 | 7,0 | 1150 ^{+150*} | 7,0 | 2250 ^{+1100*} | 7,0 | 2440 ^{+190*} | 7,0 | - | 7,0 | 2440 |
| խեԱ գոմաղբ / 40° | - | 7,0 | - | 7,0 | 370 | 4,0 [!] | 1040 ^{+670*} | 7,0 | - | 7,0 | 1040 |
| խեԱ չորացված գոմաղբ / 40° | - | 7,0 | - | 7,0 | 310 | 4,0 [!] | 1220 ^{+910*} | 7,0 | - | 7,0 | 1220 |
| Թռչնաղբ / 40° | 560 | 9,0 | - | 9,0 | 1250 ^{+690*} | 4,0 [!] | 3270 ^{+2020*} | 9,0 | 5770 ⁺¹²⁵⁰ | 7,0 | 5770 |

Օճանուցում. նշանները. [!] - գրանցման ժամանակահատվածում արտադրված գազի բացարձակ ծավալը, [!] - գազի արտադրման բացակայություն, [!] - pH-ի ուղղում.

Ներկայացված նյութերը վկայում են մեթանային խմորման թույլ թերմոֆիլ պայմաններում անցկացման հնարավորության և ակնառու նպատակահարմարության մասին որպես ցանքսանյութ թռչնաղբից ստացված մերան օգտագործելով (աղ. 2):



Նկ. 2. Գարեջրի խյուսի մեթանային խմորման դինամիկան

Նկար 2-ում ներկայացված են տարբեր նուստացումներով և ավելացված մեթաններով գարեջրի խյուսի մեթանային խմորման դինամիկան տարբեր ջերմաստիճաններում: Հաստատվել է ընդհանուր օրինաչափություն մեթանագոյացման առաջին 5-7 օրը նկատվում է բարձր գազառաջացում,

հետագայում մինչև 15-րդ օրը, պրոցեսի գրեթե լրիվ դադարում:

Անհրաժեշտ է նշել, որ մեթանառաջացման պրոցեսներում մերանների և սուբստրատների ծագմանը և նրանց ելային բաղադրությանը զուգահեռ, կարևորագույն դեր է խաղում նաև խմորման ջերմաստիճանային ռեժիմը: Այսպես, 40° ջերմաստիճանում լավագույն ձևով են դրսևորվում. 1-ին տարբերակը առանց սուբստրատի նոսրացման և 30°-ի տակ ակտիվացրած մեթանային դիրտի ավելացումով որպես մերան, 15 օրվա ընթացքում 1780 մլ այրվող գազի արտադրմամբ, 3-րդ տարբերակը առանց սուբստրատի նոսրացման և Ծ-4 (40°-ի տակ ակտիվացրած մեթանային դիրտ) մերանով 2300 մլ, 5-րդ տարբերակը՝ նոսրացում 1:2 և թռչնադր մերանով 2600 մլ (աղ. 3):

Աղյուսակ 3. Գարեջրի խյուսի մեթանային խմորում

| Բնութագիրը | Արտադրված գազի ծավալը ըստ օրերի. մլ | | | | | | | Ընդհանր. մլ |
|---|-------------------------------------|------|------|------|-------|-------|-------|-------------|
| | 3-րդ | 5-րդ | 7-րդ | 9-րդ | 11-րդ | 13-րդ | 15-րդ | |
| Մեթանային խմորում, 40°; մերան՝ Ծ-3; առանց նոսրացման | 1500 | 150 | 50 | 40 | 20 | 20 | 0 | 1780 |
| Մեթանային խմորում, 50°; մերան՝ Ծ-3; առանց նոսրացման | 1100 | 600 | 500 | 450 | 200 | 50 | 0 | 3000 |
| Մեթանային խմորում, 40°; մերան՝ Ծ-4; առանց նոսրացման | 1200 | 550 | 200 | 150 | 150 | 50 | 0 | 2300 |
| Մեթանային խմորում, 50°; մերան՝ Ծ-4; առանց նոսրացման | 0 | 950 | 600 | 400 | 350 | 50 | 0 | 2350 |
| Մեթանային խմորում, 40°; մերան՝ Ծ-3; նոսրացում՝ 1:2 | 850 | 600 | 500 | 450 | 150 | 50 | 0 | 2600 |
| Մեթանային խմորում, 50°; մերան՝ Ծ-3; նոսրացում՝ 1:2 | 1300 | 1050 | 1000 | 800 | 400 | 100 | 0 | 4650 |
| Մեթանային խմորում, 50°; մերան՝ Ծ-3; նոսրացում՝ 1:2 | 900 | 700 | 300 | 250 | 200 | 100 | 0 | 2450 |
| Մեթանային խմորում, 40°; մերան՝ Ծ-4; նոսրացում՝ 1:3 | 200 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 200 |
| Մեթանային խմորում, 50°; մերան՝ Ծ-4; նոսրացում՝ 1:3 | 400 | 350 | 100 | 90 | 50 | 50 | 0 | 1040 |

Գինու խյուսի մեթանագոյացումը 40° ջերմաստիճանում լավագույն ձևով են դրսևորվում. 1-ին տարբերակը առանց սուբստրատի նոսրացման և 40°-ի տակ ակտիվացրած մեթանային դիրտի ավելացումով որպես մերան, 15 օրվա ընթացքում 3370 մլ այրվող գազի արտադրմամբ, 3-րդ տարբերակը սուբստրատի 1:1 նոսրացման՝ 2070 մլ, 9-րդ տարբերակը առանց նոսրացման, առանց նստվածքի բաժանման՝ 2350մլ, 11-րդ տարբերակը սուբստրատի 1:1 նոսրացմամբ (նստվածք) 2100 մլ, 13-րդ տարբերակը սուբստրատի 1:2 նոսրացմամբ (նստվածք) 4150 մլ: Բոլոր տարբերակներին ավելացվել է թռչնադրի մերանը:

Հատուկ աշխատանքներ են տարվել մեթանային մերանների երկարատև պահպանման ուղղությամբ: Այդ նպատակով փորձարկվել են տարբեր մեթոդներ, որոնք օգտագործվում են մանրէաբանության մեջ (չորացում, լիոֆիլիզացիա, հեղուկ ազոտ և այլն): Հետազոտվել են բոլոր փորձարկված մեթանային մերանները: Ստացված տվյալները հաստատեցին հեղուկ ազոտի (-196°) որոշակի առավելությունները մեթանային մերանի / մակարդի կենսունակության և վերարտադրման ակտիվության պահպանման համար:

Այսպիսով

- Հայաստանի խմորող և ալկոհոլային արտադրությունների թափոնները հանդիսանում են լիարժեք պիտանի սուբստրատներ մեթանային խմորման համար նրանց վերամշակումով կենսազագի, օրգանական պարարտանյութերի և կերանյութերի ստացման նպատակով:

- խմորող արտադրությունների թափոնների էֆեկտիվ մեթանային խմորում ապահովելու համար, բացի հայտնի պայմաններից, անհրաժեշտ է կիրառել օգտագործվող նյութերին հարմարեցված (ադապտացված) ցանքսանյութեր (մերաններ), որոնք ստացվում են նրանց պարբերական պասսաժներով յուրահատուկ մեթանագեն նյութերի վրա օպտիմալ պայմաններում:

- Հաստատված է մեթանաբակտերիաների մերանի երկարատև պահպանումը կրիոկոնսերվացիայի մեթոդով հեղուկազոտում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Балаян А.М., Мелкумян А.Г., Африкян Э.К.* Биолог. журн. Армении, 50, 3-4, 187-189, 1997.
2. *Бонч-Осмоловская Е.А.* Успехи микробиологии. М., Наука, 14, 106-123, 1979.
3. *Калюжный С.В., Ковалев Г.В., Михантьева Т.В., Скляр В.И., Сеницын Р.П., Варфоломеев С.Д.* Биотехнология. 4, 4, 230-232, 1988.
4. *Квеситадзе Г.И., Безбородов А.М.* Введение в биотехнологию. М., Наука. 284. 2002.

Поступила 16.11.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 616-002.5, 576-8

РОЛЬ ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА ЧЕЛОВЕКА В РАЗВИТИИ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО МЕНИНГОЭНЦЕФАЛИТА

М.А. КАРАЛЯН

Противотуберкулезный клинический диспансер МЗ РА, 378510, Абовян

В работе обобщена возможная роль активации инфекции герпеса вируса человека в развитии туберкулезного менингоэнцефалита.

Աշխատանքում ամփոփվել է տուբերկուլյոզային մենինգոէնցեֆալիտի առաջացման ժամանակ մարդու հերպես վիրուս (ՄՀԿ) ինֆեկցիայի ակտիվացման հնարավոր դերը այդ պաթոլոգիայում:

In article was shown the possible role of an activation of the human herpes virus (HHV) infection in the tuberculous meningoencephalitis development.

Туберкулезный менингоэнцефалит - вирус простого герпеса

Острые энцефалиты представляют собой сборную группу заболеваний с различной этиологией, эпидемиологией, клиникой и патоморфологией. Термин «острый энцефалит» характеризует синдром воспалительного поражения головного мозга, вызванный разными возбудителями и, следовательно, относящийся к разным нозологическим формам. Однако в связи с трудностями выяснения этиологии процесса в каждом отдельном случае этот синдром часто фигурирует в качестве окончательного клинического диагноза. Тем не менее этиологическая направленность в изучении проблемы острых энцефалитов является ведущей [3].

Туберкулезный менингоэнцефалит (ТМЭ) является наиболее тяжелой формой туберкулезного менингита. При этом специфическое воспаление локализуется на оболочках основания мозга, а также распространяется на его вещество и сосуды. Для клинической картины, помимо выраженных мозговых и менингеальных расстройств, характерны очаговые расстройства ЦНС [9]. Практически всегда, даже после успешной терапии, развиваются неврологические нарушения [7, 10]. Большинство исследователей считает случаи атипичного ТМЭ результатом инфекции устойчивых штаммов микобактерий, либо иммунодефицитом. Действительно, за последние десятилетия многими исследователями показан рост числа устойчивых штаммов микобактерий, и соответственно в последнее время регистрируется значительное число случаев ТМЭ даже в благополучных странах Европы [11, 13]. Определенную роль в этом играют и различные нарушения иммунной

системы. Так, показано, что клеточный противотуберкулезный иммунитет, тестируемый как *in vivo* (туберкулиновые пробы), так и *in vitro* (как правило, реакция бласттрансформации), наиболее выражен в тех ситуациях, когда можно говорить о высокой (относительно) резистентности к инфекции: у иммунизированных людей и животных, на ранних стадиях вирулентной инфекции у животных и при тех моделях (например, у кроликов), у которых инфекция протекает благоприятно.

У человека наиболее высокий клеточный противотуберкулезный иммунитет обнаруживается также при благоприятном течении процесса, успешном его лечении и ограниченных формах заболевания.

Клеточному иммунитету отводится ведущая роль в сопротивляемости к туберкулезу, что было подтверждено в опытах на животных. Так, с помощью введения взвесей лимфоидных клеток от иммунных животных удается усилить их резистентность к последующему заражению микобактериями туберкулеза. Противотуберкулезный иммунитет удается подавить с помощью введения ангилимфоцитарной сыворотки и иммунодепрессантов. Замечено также, что у тимэктомированных животных снижается устойчивость к туберкулезу.

В настоящее время практически не вызывает сомнения, что центральным звеном в проявлении резистентности к микобактериям являются Т-лимфоциты, специфически сенсибилизированные к микобактериальным антигенам. В частности, показано развитие туберкулезной инфекции у больных СПИДом, при котором, как известно, происходит подавление хелперного звена клеточного иммунитета.

Известно также, что Т-лимфоциты непосредственно не действуют на микобактерии. Эффективным звеном противотуберкулезной резистентности служат макрофаги. Только в клетках этого типа размножаются и гибнут микобактерии туберкулеза.

Известно, что иммунодефицитные состояния характерны для туберкулезного процесса. При наиболее тяжелом течении его наблюдается подавление как Т-клеточного (вообще), так и специфического клеточного противотуберкулезного иммунитета.

Учитывая роль Т-клеточного иммунитета в сопротивляемости к туберкулезной инфекции, необходимо понять, почему развивающийся Т-клеточный иммунитет оказывается не всегда эффективным, несмотря на то что общее число Т-лимфоцитов очень редко существенно уменьшается при этой патологии.

В настоящее время имеются данные, позволяющие в определенной мере разъяснить причины этого явления. В частности, показано, что при тяжелом течении туберкулеза у людей уменьшается число лимфоцитов, несущих маркеры Т-хелперов и изменяется соотношение Т-хелперов/Т-супрессоров в сторону последних [5]. Показано также, что у больных

активным легочным туберкулезом во много раз снижено число Т- и CD4-лимфоцитов, а число В- и CD8-клеток (супрессоров) у больных и здоровых лиц не отличается. Выраженность CD4-лимфоцитопении не зависит от тяжести туберкулезного процесса и интенсивности туберкулиновых проб.

В норме сосуды головного мозга практически непроницаемы для микобактерий туберкулеза. Многочисленные морфологические и экспериментальные исследования, касающиеся патогенеза туберкулезного менингита, убедительно показали три необходимых условия для развития этого заболевания: общая неспецифическая сенсибилизация организма; местная сенсибилизация; микобактериемия, вызывающая на фоне местного гиперергического воспаления мягких мозговых оболочек типичную картину туберкулезного менингита. Проникновение туберкулезной инфекции возможно из очагов имеющегося туберкулеза в легких или других органах и может происходить гематогенным, лимфогенным или лимфо-гематогенным путями.

Помимо иммунодефицитного состояния, одной из причин атипичного течения туберкулезного менингита и менингоэнцефалита является его связь с другими заболеваниями [3]. В последнее десятилетие все большую роль в этой связи играют вирусные заболевания, прежде всего хронические и (или) вызывающие иммунодефицитные состояния [8]. Показано, что не только туберкулез при воздействии вирусных инфекций принимает более тяжелое и атипичное течение, но и вирусные инфекции в сочетании с туберкулезом приобретают более осложненную и затяжную форму [8]. Надо заметить, что при сочетании вирусной и туберкулезной инфекции состояние иммунной системы зависит от степени действия вируса.

В работе Киселенко [1] показано чрезвычайно широкое распространение антигенов (АГ) к вирусу простого герпеса (ВПГ)-2 у больных с различными формами туберкулеза, а также частота активизации инфекции ВПГ-1 у этого же контингента. В связи с этим представляет интерес сосуществование инфекции различных герпесвирусов с туберкулезной патологией и возможным влиянием ее на формирование наиболее опасной формы туберкулеза - ТМЭ.

Персистирующие вирусы семейства герпесвирусов (от греческого слова herpes, что значит «ползучий») включают три подсемейства. Вирусы герпеса являются наиболее распространенными вирусами человека, особенно 1 подсемейства (α -вирусы) – ВПГ, вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса (герпес зостер ВГЗ) и 2 подсемейства (β -герпесвирусы) – цитомегаловирус (ЦМВ) и вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ).

Известно более 40 вирусов герпеса, они – убиквитарные, т.е. поражают как человека, так и животных, птиц, пресмыкающихся, земноводных и рыб. На протяжении почти 100 лет ученые исследовали роль герпесвируса (ГВ) в патологии человека, в результате чего изучена его структура, репродукция

в культурах клеток человека и животных, диагностика, клиническое проявление, лечение и профилактика этих инфекций.

Характерной особенностью ВПГ, определяющей его значение в патологии человека, является пожизненное присутствие (персистенция) в организме — в клетках чувствительных нервных ганглиев (тройничного нерва, поясничных, крестцовых, дорзальных) в виде неполного вируса или же генома вируса в форме двунитчатых кольцевидных форм ДНК — плазмид, в связи с чем инфицированные нервные клетки не разрушаются. Интеграции генома вирусов с геномом клетки не происходит, т.к. нервные клетки не делятся.

Другой характерной чертой герпесвирусных инфекций является полиморфизм клинических проявлений. Для ВПГ и ВГЗ наиболее излюбленным местом репродукции являются клетки слизистых ротовой полости, верхних дыхательных путей, гениталий, кожи лица, шеи, головы, туловища, иннервируемые соответствующими чувствительными нервами. Важную роль в патологии человека играют офтальмогерпес, менингоэнцефалиты, поражения печени, мочеполовых органов.

Еще одной особенностью являются рецидивы ГВ-инфекций, обнаруживаемые при разнообразных стрессах, снижающих иммунореактивность организма.

При ГВ-инфекциях, вызывающих гуморальный и клеточный иммунитет, наличие антигерпетических антител не препятствует возникновению рецидивов, поскольку вирус распространяется от клетки к клетке через цитоплазматические мостики, минуя внеклеточное пространство, а специфический клеточный иммунитет при этом нарушен. Вследствие нарушения клеточного иммунитета ГВ-инфекция особенно часто и в тяжелой форме проявляется при ВИЧ-инфекции, трансплантации органов и тканей, при интенсивном химиолучевом лечении злокачественных опухолей. ВПГ, ЦМВ, ГВЗ признаны оппортунистическими инфекциями при ВИЧ-инфекции, когда убыль Т-хелперов приводит к дезорганизации иммунных реакций.

В целом, с одной стороны, иммунодепрессия является фоном для рецидивов ВГ, с другой стороны, активация вирусов и лимфотропность усугубляют имеющуюся иммунодепрессию. Интересно, что как и ТМЭ энцефалит, вызванный инфекцией ВПГ-1, также ассоциируется с иммуносупрессивным состоянием [16]. В работе [14] показано, что иммуносупрессия играет триггерную роль при развитии ВПГ-1 индуцированного энцефалита на животных моделях.

Судя по наличию антител (АТ), ВПГ-1 типа присутствует у 80-90% населения. Заражение имеет место в основном в раннем возрасте при тесном контакте детей со взрослыми, а также воздушно-капельным путем. Вирус

первоначально развивается в клетках кожи и слизистой, откуда проникает в кровь и лимфу, что в ряде случаев может привести к поражению ЦНС (большинство спорадических менинго-энцефалитов вызвано ВПГ), респираторного отдела и желудочно-кишечного тракта. ВПГ-2 типа, как правило, поражает гениталии и мочеполовые органы, передается половым путем и считается четвертым венерическим заболеванием. Этим серотипом заражаются в более зрелом возрасте, когда антитела (АТ) к ним обнаруживаются у 40-60% населения.

После первичной инфекции ВПГ-1 транспортируется ретроградным путем вдоль тройничного нерва. Реактивация латентной вирусной инфекции в ганглиях приводит к вирусному энцефалиту. Энцефалит, индуцированный инфекцией ВПГ-1, может также быть результатом первичной инфекции либо от интраназальной инъекции вируса с прямым вторжением в обонятельную луковицу, либо от распространения вируса по ходу тройничного нерва от первичной инфекции в ротовой полости. При обследовании пациентов в различных странах выявлено, что почти одна треть энцефалитов, вследствие ВПГ-1 инфекции, развивается при первичной вирусной инфекции. В остальных случаях энцефалит вызван оживлением скрытой инфекции в нервном узле тройничного нерва. При этом патанатомическая картина в целом одинаковая. Является ли инфекция результатом реактивации или первичной инфекции, воспалительные и некротические повреждения замечены в нижнем и среднем височных отделах, орбитально-лобной коре. Большинство случаев ВПГ энцефалита у взрослых вызвано ВПГ-1, только от 6% до 15% случаев он вызван ВПГ-2. Многочисленными исследованиями отмечена сопутствующая иммунодепрессия. Она четко коррелирует с увеличенным риском реактивации латентных ВПГ инфекций в ЦНС [6].

У новорожденных в большинстве случаев ВПГ энцефалита вызван ВПГ-2. При этом инфекция обычно приобретает контактом ребенка или зародыша с материнскими генитальными выделениями. При этом первичная материнская генитальная инфекция ВПГ-2 имеет намного большую опасность для новорожденного, чем рецидивирующая половая герпетическая инфекция. Риск передачи инфекции от матери к зародышу – 30%-50% при материнской первичной инфекции, по сравнению с менее чем 3% при текущей инфекции. Инфицирование зародыша может изредка происходить и интритиматочно.

В последние 10 лет часто появляются работы, фиксирующие сочетание атипичного течения различных форм туберкулеза и активацию некоторых форм ГВ, например, ВГЗ либо ЦМВ [4]. В работе [1] было показано значительное повышение случаев активизации герпесвирусной инфекции у больных легочным туберкулезом. Так, титр АТ > 0,9 Ед/мл наблюдается у 92% больных туберкулезом различных форм, тогда как в контрольной группе только у 39% лиц (без туберкулезной инфекции).

Энцефалит, этиологически связанный с вирусом простого герпеса I типа (ВПГ-I), относится к наиболее тяжелым формам поражения головного мозга. При этом наблюдаются деструктивные процессы с образованием некрозов в коре, в основном в передних отделах мозга (теменно-височные и лобные доли). Это определяет неблагоприятное течение заболевания, часто заканчивающееся либо летальным исходом, либо выздоровлением с дефектом ЦНС [3].

Выяснение этиологии воспалительных поражений головного мозга всегда является довольно затруднительным. Затруднительна диагностика как ТМЭ, так и постановка этиологического диагноза энцефалита, вызванного ВПГ. Если для диагностики ТМЭ считалось достаточным выделение микобактерий, то сейчас показано, что они примерно в половине случаев могут не определяться. На сегодняшний день более значимым диагностическим критерием является компьютерная томография. Большие надежды связывались с широким использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР), однако в значительном числе случаев ТМЭ она ложно отрицательна [12]. Таким образом, на сегодняшний день одним из основных критериев в постановке диагноза туберкулезного менингита и ТМЭ является постоянное динамическое наблюдение за изменениями в спинномозговой жидкости.

Трудности имеются и в диагностике вирусных форм энцефалита, в частности вызываемого ВПГ. Клинически выявляются головная боль, лихорадка, поведенческие отклонения, судороги центрального происхождения. Электроэнцефалограмма выявляет периодичные быстрые и замедленные волновые комплексы [10]. При лабораторных методах диагностики надо учитывать, что наиболее доступные иммунологические исследования из-за широкой циркуляции вируса и наличия антител у значительной части популяции вызывают затруднения в их трактовке. Выделение вируса из мозговой ткани связано с необходимостью прижизненной биопсии мозга. Большинство авторов на сегодняшний день считает достаточным подтверждением результаты определения специфических АТ и АГ в цереброспинальной жидкости [3]. Однако и против подобной практики есть многочисленные возражения. Подтверждение герпесвирусной этиологии энцефалита можно связать лишь с ПЦР, однако выявление вируса ПЦР в спинномозговой жидкости необходимо дополнить исключением других этиологических факторов энцефалита. При этом следует учитывать, что другие клинические проявления, характерные для инфекции ВПГ, могут отсутствовать. Так, например, у пациентов без иммунодефицита при индуцированном ВПГ энцефалите почти всегда отсутствуют кожные проявления инфекции – пузырьки в оролабиальном регионе.

Таким образом, в развитии ТМЭ инфекция ВПГ может играть

несколько ролей. Первая – на фоне ослабленной туберкулезом иммунной системы активизируется инфекция ВПГ и возникает поражение ЦНС – энцефалит. Вторая - ослабление иммунитета относится к инфекции ВПГ и на этом фоне развивается ТМЭ. Третье – сочетанное действие обеих инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Караян М.А., Степанян С.М.* Биолог. журн. Армении, 3-4, 54, 301-303, 2002.
2. *Киселевич О.К.* Медицин. научный и учебно - методич. журн., 12, 19-31, 2003.
3. *Лецинская Е.В., Мартыненко, И.И.* Острые вирусные энцефалиты у детей. М., Медицина, 256 с., 1990.
4. *d'Arminio Monforte A., Cinque P., Vago L., Rocca A., Castagna A., Gervasoni C., Terreni M.R., Novati R., Gori A., Lazzarin A., Moroni M.* J. Neurol. Jan, 244 (1):35-9, 1997.
5. *Barnes P.F., Modlin R.L.* Human cellular immune responses to Mycobacterium tuberculosis. Curr-Top-Microbiol-Immunol. 215:197-219, 1996.
6. *Barnett E.M., Jacobsen G., Evans G. J.* Infect. Dis. 169:782, 1994.
7. *Els T., Serr A., Klisch J., Oehm E., Lucking C.H., Kassubek J.* Med. Klin. Oct 15; 97 (10):579-87, 2002.
8. *Friedman L.N., Williams M.T., Singh T.P.* N. Engl. J. Med. Mar 28; 334(13): 828-33, 1996.
9. *Garg R.K.* Tuberculosis of the central nervous system. Postgrad Med. J. Mar; 75(881): 133-40, 1999.
10. *Karen L., Roos M.D.* Neurologic Clinics, 17, 4, November, 1999.
11. *Kepa L., Oczko-Grzesik B.* Tuberculous meningoencephalitis: a case report. Pol Merkuriusz Lek. Aug;11(62):173-4, 2001.
12. *Piekarska A., Kuydowicz J.* Pneumonol Alergol Pol. 70(9-10):504-8, 2002.
13. *Rolinck-Werninghaus C., Kotz K., Magdorf K., Bunikowski R., Staab D., Wahn U.* Eur. J. Pediatr. Nov;160(11):645-8, 2001.

Поступила 05.XII.2003

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 576 8(088.8)

ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԷՊԻՖԻՏ ՍԻԿՐՈՖԻԼՈՐԱՅԻՑ ԵՎ ԿԱԹՆԱՄԹԵՐՔՆԵՐԻՑ ՖԱԳՎԿԱՅՈՒՆ ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՍՏԱՑՈՒՄԸ

Լ.Յ. ՅԱԿՈԲՅԱՆ

ԳԳ ԳԱԱ Սիկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ, 378510, ք. Արովյան

Ուսումնասիրվել է կաթնամթերքներից և բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայից մեկուսացված կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների, ձողաձևերի, ինչպես նաև ացիդոֆիլային բակտերիաների ֆագերի նկատմամբ դիմացկունությունը, կայունությունը, ֆագոլիզիսի առկայությունը: Որոշվել է նաև ԱՊԳ և Յայաստանում ՍՊԸ-ի կողմից արտադրվող *Lactobacillus acidophilus* 317/402 «Նարինե», ինչպես նաև նրա որոշ պրոբիոտիկների հաբերի, փոշի-սրվակներով, կապսուլաներով ֆագավարակվածությունը:

Исследована фагоустойчивость, фагочувствительность, а также фаголизис молочнокислых стрептококков и палочковидных бактерий, выделенных из эпифитной микрофлоры растений и кисломолочных продуктов, а также ацидофильных бактерий и их пробиотиков: сухой порошок в флаконах, в капсулах и др., производимых в кооперативах СНГ и Армении.

The phagostability, phagosensibility and phagolysis of rodoform and streptococci form lactic acid bacteria isolated from epiphytic microflora of plants and acido-lactic products as well as acido-lactic bacteria have been studied.

The phagocontamination of dry powder liquid probiotics and capsules of "Narine" produced in Armenia and other countries as well as in acidophilic bacteria and in strain *Lactobacillus acidophilus* 317/402 "Narine" has been tested.

Lactobacillus acidophilus «Նարինե» պատրաստուկներ - ֆագադիմացկունություն - ֆագակայունություն - ֆագավարակվածություն

Ֆագերը վիրուսներ են, որոնք ի տարբերություն բուսական և կենդանական վիրուսների պարագիտում են բակտերիաներին, սպանելով նրանց, լուծելու (լիզիս), քայքայելու եղանակով [2]:

Կաթնամթերքների արտադրության ժամանակ շատ հաճախ նկատվում է կաթի չմակարդվելու երևույթը: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ կաթնաթթվային բակտերիաների զարգացման 3-4 ժամում տեղի են ունենում պրոցեսներ, որոնց հետևանքով կաթը չի մակարդվում, կամ մակարդված կաթը ջրիկանում է: Այդ երևույթը կարելի է բացատրել բակտերիաֆագերի ազդեցությամբ [1]:

Բակտերիաֆագերի ազդեցությունը կաթնաթթվային բակտերիաների վրա կարող է լինել մասնակի կամ լրիվ: Մասնակի դեպքում կաթնաթթվային բակտերիաների ոչ բոլոր քանակներն են լիզիսի ենթարկվում, մնում են միայն ֆագակայուն բջիջները: Սակայն այս դեպքում կաթնաթթվային խմորման ընթացքը դանդաղում է [10]:

Ոչ բոլոր դեպքերում են, որ ֆագերը թափանցելով կաթնաթթվային բակտերիաների մեջ կարող են պահպանվել, կարող են և ոչնչանալ բջջում: Արտադրության մեջ կաթնաթթվային բակտերիաների կիրառության ժամանակ օգտագործում են այնպիսի շտամներ, որոնք դիմացկուն են ֆագերի նկատմամբ:

Ավելի շատ ենթակա են ֆագուլիզիսի - մեկ շտամով արտադրվող կաթնամթերքները: Բակտերիոֆագերի կործանարար ազդեցությունը տարբեր կաթնամթերքների արտադրության ժամանակ տարբեր է: Բակտերիոֆագերը շատ մեծ վնաս են հասցնում պանիրների, հատկապես էմենտալ տիպի, արտադրությանը: Շատ պանիրներ բակտերիոֆագերի առկայությամբ դառնահամ լինելու պատճառով խտանվում են [8]:

Վերջին տարիներին գրականության մեջ ի հայտ են եկել տվյալներ, որ բացի կաթնաթթվային ստրեպտակոկերից բակտերիոֆագով կարող են վարակվել նաև ձողածև ակտիվ թթու արտադրող տեսակները *Lactobacillus helveticus*, *L. lactis*, *L. acidophilus* և այլն [13]:

Սակայն շատ հեղինակներ ժխտում են կաթնաթթվային ացիդոֆիլային բակտերիաների մոտ բակտերիոֆագի երևույթը: Գտնում են, որ շատ թթու և լործ արտադրողները ֆագակայուն են [4]: Մի խումբ գիտնականներ էլ գտնում են, որ ացիդոֆիլային կաթնաթթվային բակտերիաները իրենց բջջի թաղանթում չունեն թեյխոնիկ թթու և բջջի շուրջը առանձնացնում են լործնային կապսուլ, որը պաշտպանում է նրանց ֆագերի հարվածից [13]:

Բնության մեջ ֆագերը տարածված են ամենուրեք: Ավելի շատ տարածված են պոլիվալենտ ֆագերը, որոնք կարող են լիզիսի ենթարկել 8-10, երբեմն 20 շտամների միաժամանակ:

Բակտերիոֆագերի դեմ պայքարելու համար մի շարք եղանակներ են մշակվել: Սննդամիջավայրում պակասեցնում են Ca -ի քանակը, որի հետևանքով թուլանում է ֆագերի ադսորբցիան բակտերիալ բջջի վրա, կամ սովորական կաթին ավելացնում են իմունային կաթ, այն կովերից, որոնք նախօրոք իմունացվել էին [3]: Սակայն դեռևս չկան երաշխիքներ բակտերիոֆագերի դեմ: Կաթի արտադրության համար ամենալավ պայքարը բակտերիոֆագերի դեմ կաթնաթթվային բակտերիաների ռեզիստենտ և զգայուն շտամների սելեկցիան է:

Ինչպիսի դեր ունեն բակտերիոֆագերով վարակված կաթնամթերքները մարդկանց ստամոքսա-աղիքային համակարգի բիոցենոզում կաթնաթթվային բակտերիաների զարգացման վրա: Գտնում են, որ ֆագերով վարակված կաթնամթերքները մարդկանց ստամոքսա-աղիքային համակարգում ստամոքսահյութի, լեղու, ենթաստամոքսային գեղձի արտադրված նյութերի հետևանքով նրանք ոչինչանում են [11]:

Հեղինակների մի խումբ գտնում են, որ ֆագերով վարակված կաթնամթերքները ստամոքսա-աղիքային համակարգում նույն դերն են կատարում նրանք լիզիսի են ենթարկում բիոցենոզի կաթնաթթվային բակտերիաներին, որի հետևանքով ընկնում է միջավայրի թթվությունը, այդ ժամանակ գլուխ են բարձրացնում հիվանդածին միկրոօրգանիզմները, որոնք ճնշում են շատ թե քիչ պահպանված բիոցենոզի օգտակար միկրոֆլորային, առաջացնելով դիսբակտերիոզ [5, 9]:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրության համար վերցրել ենք բույսերի էպիֆիտ և կաթնամթերքների միկրոֆլորայից մեր կողմից մեկուսացված կաթնաթթվային ստրեպտակոկեր, ձողածև

բակտերիաներ, ինչպես նաև ացիդոֆիլային կաթնաթթվային բակտերիաներ, նրանցից որոշ պատրաստուկներ «Նարինե» -ի հաբեր, կապսուլավորված (պատիճավոր) փոշիներ, չոր փոշի և հեղուկ: Կաթնաթթվային ստրեպտակոկերի ֆագակայունությունը, ֆագադիմացկունությունը նրանց մեջ որոշել ենք համամիութենական կաթնաարդյունաբերության գիտահետազոտական ինստիտուտում (ВНИИИ), իսկ ձողածև բակտերիաների և պատրաստուկների ֆագի առկայությունը և կայունությունը որոշել ենք խմորող միկրոօրգանիզմների լաբորատորիայում (ԻՆՄԻԱ): Կաթնաթթվային ստրեպտակոկերի, ացիդոֆիլային բակտերիաների ֆագակայունությունը, ֆագոլիզիսը որոշել ենք պատրաստի ֆագային ֆիլտրատներով (Մոսկվա), իսկ նոր մեկուսացված կաթնաթթվային ացիդոֆիլային բակտերիաների ֆագադիմացկունությունը որոշել ենք մեր կողմից պատրաստված ֆագային ֆիլտրատներով [10, 12]: Սոնովալենտ և պոլիվալենտ ֆագերի ֆիլտրատների ստացումը կատարել ենք ըստ Յակովկի եղանակի [12]

Արդյունքներ և քննարկում: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայից մեկուսացված կաթնաթթվային ստրեպտակոկերը ալելի շատ են վարակված բակտերիոֆագերով, քան կաթնամթերքներից մեկուսացվածները (աղ. 1): Դա ըստ երևույթին պետք է բացատրել նրանով, որ բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայում շատ են տարածված բակտերիոֆագերը և նրանցով վարակված կաթնաթթվային բակտերիաները: Մինչդեռ կաթնամթերքներում բակտերիոֆագերի քանակը լինում է սահմանափակ կամ չի լինում մի շարք պատճառներով 1) կաթնաթթվային խմորման հետևանքով արտադրված կաթնաթթուն ճնշում է բակտերիոֆագերի զարգացումը, 2) կաթնամթերքներում եղած տարբեր տեսակի կաթնաթթվային բակտերիաները ունենում են տարբեր աստիճանի հակաբիոտիկ հատկություններ և կարող են հակաբիոտիկ ազդեցություն ունենալ ֆագերի վրա: Բացի դրանից կաթում կարող են լինել բնական հակաբիոտիկ, ինչպես նաև անասուններին ներարկած հակաբիոտիկ, քիմիաթերապևտիկ պատրաստուկներ, կերից անցած թունաքիմիկատներ (ֆոսֆորօրգանական, քլորօրգանական), իմունային նյութեր, որոնք ճնշում են ֆագերի զարգացումը:

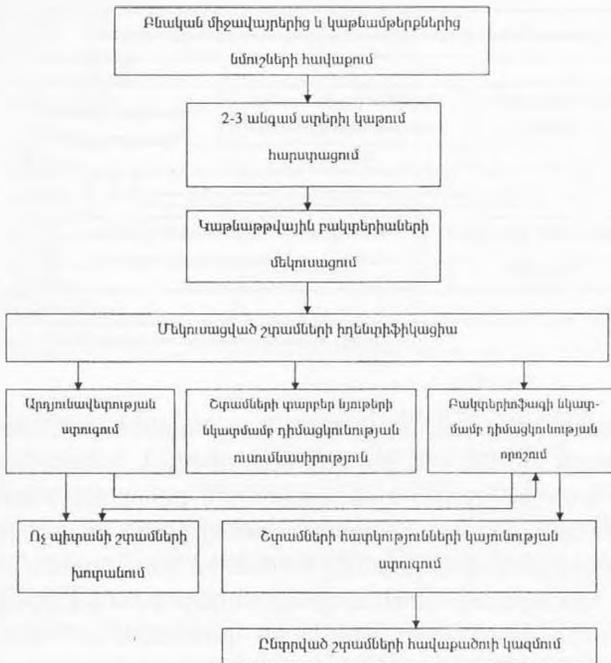
Աղյուսակ 1. Կաթնամթերքներից, բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայից մեկուսացված կաթնաթթվային բակտերիաների ֆագոլիզիսի ենթարկված և ֆագոկայուն շտամները

| Կաթնաթթվային ստրեպտակոկեր | Մեկուսացված շտամների ընդհանուր քանակը | Կաթնաթթվային ստրեպտակոկերի քանակը | | | |
|--|---------------------------------------|-----------------------------------|------------|----------------------------|------------|
| | | Ֆագոլիզիսի ենթարկված | | Ֆագոկայուն | |
| | | Բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորա | Կաթնամթերք | Բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորա | Կաթնամթերք |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> | 99 | 50 | 27 | 3 | 19 |
| <i>Streptococcus diacetilactis</i> | 23 | 12 | 6 | 2 | 3 |
| <i>Streptococcus lactis</i> | 56 | 30 | 18 | 2 | 6 |
| <i>Lbm. mazuni</i> N2 «Կարինե» (ՍՄՀԿ-9603) | 1 | - | - | - | 1 |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> * Մ ₇ (ՍՄՀԿ - 9608) | 1 | - | - | - | 1 |

* - Մեկուսացված են նոր եղանակով:

Կաթնամթերքներից և բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայից մեկուսացվել են 850 կաթնաթթվային ստրեպտոկոկերի շտամներ: Ուսումնասիրվել է նրանց մորֆոֆիզիոլոգիական, կուլտուրալ, կենսաքիմիական հատկությունները և ընտրվել է 178 շտամ, որոնք դասակարգվել են որպես *Str. thermophilus*, *Str. lactis*, *Str. diacetylactis* տեսակներին (սխեմա 1): Նրանցից համակցված մակարոններ, հատկապես թթվասերի համար, պատրաստելու համար, որոշել ենք մի շարք հատկությունների հետ, նաև նրանց ֆագոդիմացկունությունը, ֆագոառկայությունը, ֆագոլիզիսը: Պարզվել է, որ այդ ընտրված շտամների մեծամասնությունը վարակված են եղել ֆագերով, ֆագոդիմացկուն չեն, ենթարկվում են ֆագոլիզիսի (աղ. 1): Բացի դրանից այդ շտամների մեծամասնությունը սառնարանում պահպանելու ընթացքում նորից ենթարկվել էին լիզիսի: Բնականաբար այդ շտամները խոտանվել են:

Սխեմա 1. Բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայից և կաթնամթերքներից կաթնաթթվային բակտերիաների ստացումը ըստ ընդունված եղանակների

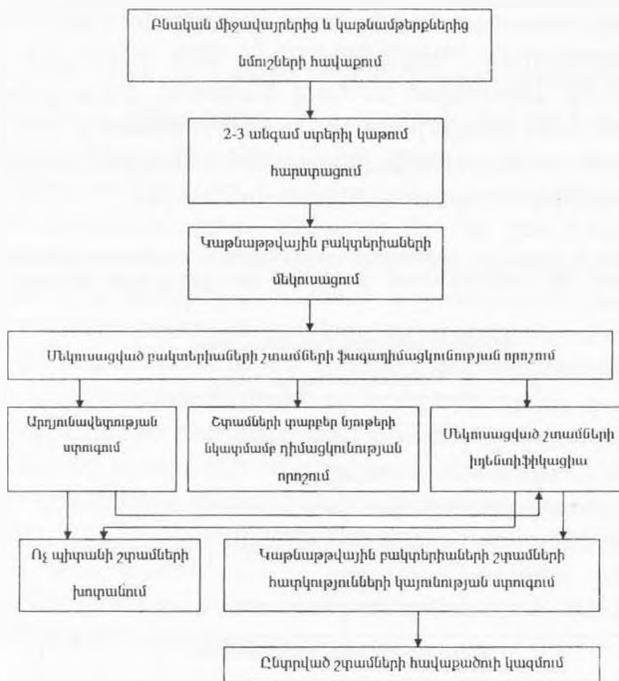


Կաթնաթթվային բակտերիաների մեկուսացման, ինչպես նաև արտադրարժեքավոր հատկություններով օժտված և ֆագակայուն, ֆագոդիմացկուն շտամներ ստանալու համար մենք օգտագործել ենք բնական սելեկցիայի եղանակը:

Տարբեր միջավայրերից բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորա, կաթնամթերքներ կաթնաթթվային բակտերիաներ մեկուսացնելուց և մի քանի վերացանքս կաթի մեջ կատարելուց հետո, որոշել ենք նրանց ֆագակայունությունը, ֆագի առկայությունը, ֆագոլիզիսը, ֆագի տիտրը, ֆագի չափավոր, թե վիրուլենտ լինելը և ընտրել ենք սելեկցիայի եղանակով այնպիսի շտամներ, որոնք

Ֆագակայուն են, նոր հետո կատարել ենք մորֆո-ֆիզիոլոգիական, կուլտուրալ, կենսաքիմիական ուսումնասիրություններ, դասակարգել ըստ տեսակների և ընտրել արտադրա-արժեքավոր շտամներ (սխեմա 2):

Սխեմա 2. Բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայից և կաթնամթերքներից կաթնաթթվային ֆագակայուն բակտերիաների ստացումը



Ուսումնասիրել ենք նաև մեր կողմից մեկուսացված *Lactobacillus acidophilus*-ի հեղինակային 13, 92, L-2, ինչպես նաև պրոֆ. Լ.Յ. Երզնկյանի կողմից մեկուսացված ացիդոֆիլային կաթնաթթվային բակտերիաների և 317/402 «Նարինե» շտամների [6] ֆագոսիմացկունությունը, ֆագի առկայությունը, ինչպես նաև նրանց ֆագոլիզիսի զարգացումը 24 ժամվա ընթացքում: Ուսումնասիրել ենք նաև նրանց թթու արտադրման էներգիայի ազդեցությունը վերը նշված ֆագերի հատկությունների վրա: Պարզվել է, որ փորձարկված ացիդոֆիլային բակտերիաները 140-200°Թ թթվության դեպքում ֆագոլիզիս չեն առաջացրել (աղ. 2): Նույնիսկ ֆագերով վարակելուց հետո լիզիսի չեն ենթարկվում: Դա ըստ երևույթին պետք է բացատրել նախ 1. որ նրանք արտադրում են մեծ քանակությամբ թթու, որը ունի ֆագերի նկատմամբ ֆագոսպան հատկություն; 2. առաջացնում են մեծ քանակությամբ լորձ, որը ինչպես հայտնի է կաթնաթթվային ացիդոֆիլային բակտերիաների շուրջը առաջացնում է կապտուլ, որը թույլ չի տալիս ֆագերին ադսորբցվելու իր շուրջը և թափանցելու բջջի ներսը [4]:

Մեթիլեն կապույտի 0,1; 0,3; 0,5; 0,001 լուծույթների առկայության դեպքում կաթը մակարդվել է շտամին յուրահատուկ ժամանակահատվածում: Թերմոստատում 37° 1-7 օր պահելուց հետո, ինչպես նաև սառնարանում +4 +6° 1 ամիս և ավել պահելու դեպքում չի նկատվել ֆագոլիզիսի որևէ երևույթ: Դա

բացատրվում է նրանով, որ մեր կողմից թանգարանային կուլտուրաների վերացանքերը կատարվում է ասեպտիկ պայմաններում, պահպանելով միկրոբիոլոգիական բոլոր հրահանգները:

Աղյուսակ 2. *Lactobacillus acidophilus*-ի շտամների ֆագոկայունությունը և ֆագոլիզիսը

| Շտամներ | Թթվությունը °Թ | Ֆագոկայունություն | Ֆագոլիզիս |
|--|----------------|-------------------|-----------|
| 317/402 «Նարինե» (ՄԱՅԿ - 9602) | 160-200 | + | - |
| 4ar/8 (ՄԱՅԿ - 960) | 140-160 | + | - |
| ԷԻ -ԻՆՄԻՎ | 140-160 | + | - |
| ԷԻ ₂ -"- | 150-175 | + | - |
| 3e -"- | 150-165 | + | - |
| 5e -"- | 150-160 | + | - |
| 6e -"- | 145-155 | + | - |
| 7e -"- | 160-170 | + | - |
| 13-ԱՍԻ - (ՄԱՅԿ -9006) | 180-200 | + | - |
| 92-Արագած - (ՄԱՅԿ - 9605) | 175-190 | + | - |
| L - 2 - (ՄԱՅԿ - 9609) | 180-200 | + | - |
| ՍՊՇ արտադրանքներ <i>Lactobacillus acidophilus</i> 317/402 «Նարինե» | | | |
| հեղուկ | 130-140 | ± | - + + |
| հեղուկ | 150-160 | ± | - + + |
| հեղուկ | 130-145 | ± | ± ± |
| փոշի | - | ± | ± ± |
| փոշի | - | ± | ± ± |
| հաբեր | - | ± | ± ± |
| փոշի կապսուլներով | - | ± | ± ± |
| փոշի կապսուլներով | - | ± | ± ± |

Ուսումնասիրել ենք նաև *L. acidophilus* 317/402 «Նարինե» (ՄԱՅԿ-9602) -ի ԱՊՅ երկրներում ինչպես նաև Չայաստանում սահմանափակ պատասխանատվությամբ ընկերությունների (ՍՊՇ) կողմից արտադրվող հեղուկ մակարոնները, փոշի-սրվակներով, փոշի-կապսուլներով (պատիճներ), հաբերի ֆագոկայունությունը, ֆագի առկայությունը, ֆագոլիզիսը և մի շարք կուլտուրալ հատկություններ: Որոշ պատրաստուկներ, երբ համեմատում ենք *L. acidophilus* 317/402 «Նարինե» (ՄԱՅԿ-9602) ավանդադրված շտամի հետ նկատում ենք, որ նրանք շատ հատկություններով տարբերվում են ելակետային շտամից: Նախ առաջացնում են քիչ լորձ, համարյա չեն ծորում, հաճախ 2-3 վերացանքսից հետո այն իսպառ վերանում է: Չեն դիմանում ֆենոլի 0,5-0,6% խտությանը, P^H-8,3, չափանիշներ, որոնք ապահովում են նրանց բիոցենոզում բնակեցմանը, պահպանմանը: Շատ ցածր է հաբերում, փոշի-սրվակներում, կապսուլներում և հեղուկ մակարոններում, մթերքներում ացիդոֆիլային բակտերիաների քանակը: Եղել են դեպքեր, երբ օրինակ հաբերում, բոլորովին չեն եղել կենդանի ացիդոֆիլային կաթնաթթվային բակտերիաների բջիջներ:

Բացի վերը նշվածներից նրանք ֆագոկայուն չեն եղել: Ենթարկվել են մասնակի, երբեմն լրիվ լիզիսի [1]: Անհայտ ծագումով այդ «Նարինե»-ները սառնարանում կամ թերմոստատում պահպանության ժամանակ ջրիկանում են,

ենթարկվում են մասնակի լիզիսի, ֆագոլիզիսը ստուգելու համար նույնիսկ հարկ չի լինում պատրաստի ֆագի ֆիլտրատ ներարկել: Անհայտ է այդ «Նարինե»-ների ծագումնաբանությունը: Շատ հաճախ վերցնում են կաթնաթթվային ացիդոֆիլային բակտերիայի որևէ շտամ և պատրաստում են «Նարինե»: Միայն այդ «Նարինե»-ների և նարնց որոշ պատրաստուկների կաթնաթթվային ացիդոֆիլային բակտերիաների գենետիկական ուսումնասիրությունները կտան նրանց իսկությունը:

Այսպիսով, տարբեր տեսակներին պատկանող կաթնաթթվային բակտերիաների ֆագոկայուն շտամներ ստանալու համար պետք է օգտագործել բնական սելեկցիան:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Банникова Л.А.* Селекция молочнокислых бактерий и их применение в молочной промышленности. “Пищепромиздат”. М. 255, 1975.
2. *Габриелович И.М.* Основы бактериофагии. Минск, “Высшая школа”, 221, 1973.
3. *Дебабов В.Г., Лившиц В.А.* Современные методы создания промышленных штаммов микроорганизмов, М., “Высшая школа”, 204, 1988.
4. *Ерзінкян Л.А.* Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Ереван, Изд. АН Арм ССР, 235, 1971.
5. *Зуева В.С., Пасьникова Л., Ильина Т.С.* ЖМЭИ, М. 2. 36-39, 1984.
6. Каталог культур микроорганизмов. Ред. Э. Африкян, А. Хачатрян. Ереван, “Гитутюн” НАН РА, 260, 1996.
7. *Мельникова Е.В.* Автореф. канд. дисс. М., 21, 1971.
8. *Мюнх Г.Д., Зауне Х., Штрайтер М.* Микробиология продуктов животного происхождения (пер. с нем.) М., Агропромиздат, 592, 1985.
9. *Пинегин Б.В., Мальцев В.Н., Коршунова Е.М.* Дисбактериозы кишечника. М., “Медицина”, 214, 1997.
10. *Скородумова А.М.* Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов. М., Пищепромиздат, 307, 1963.
11. *Эйнштейн-Литвак Р.В., Вильшанская Ф.П.* Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника. Методические рекомендации, М., 28, 1977.
12. *Яковлев Д.А.* Автореф. канд. дисс. М., 35, 1962.
13. *Bergey's manual of systematic bacteriology. 2, Baltimore, London, Los-Angeles, Sydney (Bacteriophage), 1986.*

Поступила 13.X.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 579.834.017.73

ФАКУЛЬТАТИВНО АВТОТРОФНЫЕ БАКТЕРИИ *LEPTOSPIRILLUM* *SP.* ИЗ СУЛЬФИДНЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЙ АРМЕНИИ

Н.С. ВАРДАНЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Из Анкаванского медно-молибденового месторождения Армении выделена новая железоокисляющая бактерия, относящаяся к роду *Leptospirillum*. Оптимальная температура роста бактерии 35°, оптимальное значение pH 2,3. Бактерия является факультативным автотрофом. Максимальную скорость роста и окисления Fe²⁺ и пирита проявляет в присутствии в среде 0,005-0,01% дрожжевого экстракта. Активность бактерии в окислении пирита в автотрофных условиях увеличивается при совместном выращивании с гетеротрофными ацидофилами.

Հայաստանի Հանրապետության պղինձ-մոլիբդենային հանքավայրի թթու հանքահոսքաջրերից մեկուսացվել է *Leptospirillum* ցեղին պատկանող նոր երկաթ օքսիդացնող բակտերիա: Բակտերիայի աճի օպտիմալ ջերմաստիճանը կազմում է 35°, օպտիմալ pH-ը՝ 2,3: Ֆակուլտատիվ ավտոտրոֆ է: Աճի և երկաթի ու պիրիտի օքսիդացման առավելագույն ակտիվություն է ցուցաբերում միջավայրում 0,005-0,01% խմորասնկային էքստրակտի առկայությամբ: Ցույց է տրվել, որ ավտոտրոֆ պայմաններում երկաթի և պիրիտի օքսիդացման արագությունը մեկուսացված շտամի մոտ զգալիորեն բարձրանում է ացիդոֆիլ հետերոտրոֆ բակտերիաների հետ համատեղ աճեցնելիս:

A new iron oxidizing bacteria belonging to the genus *Leptospirillum* has been isolated from acid drainage water of Hankavan copper-molibdenous ores of Armenia. Optimal growth of bacteria occurs at temperature 35° and pH 2,3. The bacteria shows maximum rate of growth and iron and pyrite oxidation in the presence of 0.005-0.01% yeast extract. It has been shown that activity of bacteria in oxidation of pyrite under autotrophic conditions significantly increases in mixed cultures with acidophilic heterotrophs.

Лептоспириллы - факультативный автотроф - выщелачивание пирита

В процесс биовыщелачивания минералов вовлечен консорциум ацидофильных железо- и/или сероокисляющих бактерий [14]. Среди них особенно важной и наиболее изученной является *Acidithiobacillus ferrooxidans*, и существующие технологии биовыщелачивания основаны главным образом на использовании этой бактерии [4]. Несмотря на то что *A. ferrooxidans* считается ведущим в биоокислительных процессах, недавно было установлено, что доминирующими железоокисляющими бактериями в промышленных установках непрерывного биовыщелачивания являются лептоспириллы. Причиной тому могут быть некоторые физиологические особенности лептоспирилл, в частности, более высокая устойчивость к низким значениям pH среды, повышенным температурам и высоким концентрациям Fe²⁺ [11, 13]. В связи с вышесказанным предполагается, что лептоспириллы могут

быть перспективны для использования в процессах биовыщелачивания пиритсодержащих руд, а также для удаления пирита из угля [15].

По данным ряда авторов, в соответствующих условиях лептоспириллы количественно превалируют над *A. ferrooxidans* в природных ценозах [15, 16].

Первый представитель рода *Leptospirillum* - *Leptospirillum ferrooxidans* был выделен Маркосяном [5] из медных руд Армении. В настоящее время род *Leptospirillum* включает три вида: типовой вид *Leptospirillum ferrooxidans* шт. L-15(T), термофильный вид - *Leptospirillum thermoferrooxidans* шт. L-88(T) [3] и недавно изолированный третий вид - *Leptospirillum ferriphilum* [7].

Считают, что лептоспириллы являются строгими автотрофами. Энергию для своей жизнедеятельности получают в процессе окисления пирита и/или Fe^{2+} [5, 8, 3].

Нами из медно-молибденового месторождения Армении выделена новая железоокисляющая бактерия *Leptospirillum sp.*, функционирующая при температуре до 40°.

Целью наших исследований являлось изучение морфофизиологических особенностей выделенных бактерий и оценка их активности в биоокислении пирита в монокультуре и в ассоциации с другими ацидофилами.

Материал и методика. Для изолирования бактерий *Leptospirillum sp.* среду Летена инокулировали пробами рудничных вод Анкаванского и Шамлугского месторождений Армении и инкубировали при 35°. Чистые культуры бактерий получали путем выделения отдельных колоний, выросших на той же среде, уплотненной с помощью агарозы (0,6%) (Sigma, Type I: Low EEO). Морфологию выделенных бактерий изучали на электронном микроскопе JEM-100. Тотальные препараты для электронной микроскопии контрастировали 1%-ным раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты. Биомассу бактерий определяли по содержанию белка методом Петерсона [12]. Определение количества жизнеспособных клеток проводили методом предельных десятикратных разведений [2]. Бактериальному выщелачиванию подвергали пирит Шамлугского месторождения Армении, содержащий Fe - 43,8% и S - 49,0%, и размером частиц - 100/+70мкм. Опыты по выщелачиванию проводили в колбах Эрленмейера в периодическом режиме культивирования на качалке (180 об/мин) при 37°. Об интенсивности окисления пирита судили по количеству ионов железа, перешедших в среду. Ионы Fe^{2+} и Fe^{3+} определяли комплексометрическим методом трилоном Б [6].

Результаты и обсуждение. Из отвалов руд Анкаванского медно-молибденового и Шамлугского медно-рудного месторождений Армении выделены два штамма бактерий *Leptospirillum sp.* шт.50 и шт.54.

Морфология. Выделенные бактерии *Leptospirillum sp.*, подобно *L. ferrooxidans*, проявляют полиморфизм. Клетки в логарифмической фазе на среде с Fe^{2+} представляют собой вибрионы размером 0,9-1,0 x 0,2-0,3мкм. По мере роста появляются спиральные формы, состоящие из 2-4 витков (рис. 1). В стационарной фазе в культуре преобладают псевдококки, которые представляют не что иное, как вибрионы с плотно смыкающимися концами (рис. 1г). Особенностью культуры, растущей на пирите, является отсутствие псевдококков и преобладание спиральных форм, количество витков которых может достигнуть 10.

Бактерии *Leptospirillum sp.* подвижны, благодаря одному полярному жгутику. Снаружи клетки покрыты слизистым слоем (рис. 1б, в).

Размножаются делением надвое (рис. 1б). У спиральных форм наблюдается неравномерное деление, когда отделяется один из витков или происходит септация - расщепление на отдельные вибрионы.

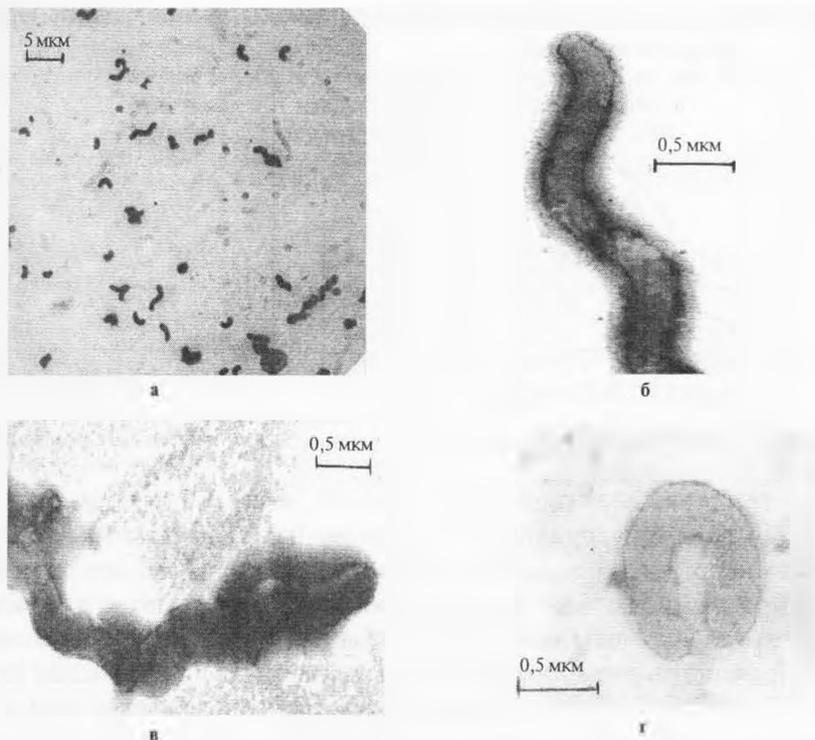


Рис. 1. Общий вид *Leptospirillum* sp. шт. 50. а) световой микроскоп, б-г) электронный микроскоп, а-в) в логарифмической фазе, г) в стационарной фазе.

Физиологические особенности. Оптимальная температура роста у выделенных штаммов составляла 35°. Нижний предел роста был 25°, верхний - 45°. Примечательно, что при 40° у штаммов сохранялась высокая окислительная активность, тогда как при 45° она резко снижалась. Окисление Fe^{2+} выделенными бактериями прекращалось при 50° (рис.2).

Рост бактерий шт. 50 на среде с Fe^{2+} имел место в интервале исходных значений рН 1,4 - 3,2. Оптимальное значение реакции среды составляло рН 2, 3 (рис.3).

Описанные нами ранее бактерии *Leptospirillum* sp. шт.64 и шт.72 являлись строгими автотрофами (рис.4) [1]. Дрожжевой экстракт в пределах концентраций 0,002-0,01% не оказывал существенного влияния и на рост шт.54, тогда как у шт.50 максимальное

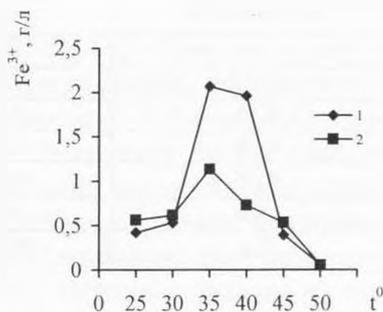


Рис.2. Окисление Fe^{2+} бактериями *Leptospirillum* sp. шт.50(1) и шт.54 (2) при различных температурах

количество окисленного Fe^{2+} (1,62г/л) наблюдалось при 0,005% дрожжевого экстракта (табл.1). С увеличением в среде концентрации дрожжевого экстракта до 0,02% наблюдалось увеличение биомассы, однако при этом уменьшалось количество окисленного железа до 1,04г/л. При содержании в среде дрожжевого экстракта в концентрации 0,05% и более окисление Fe^{2+} резко ингибировалось (табл.1).

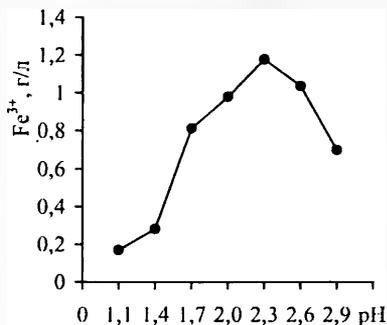


Рис. 3. Влияние pH на окисление Fe^{2+} *Leptospiroillum* sp. шт.50.

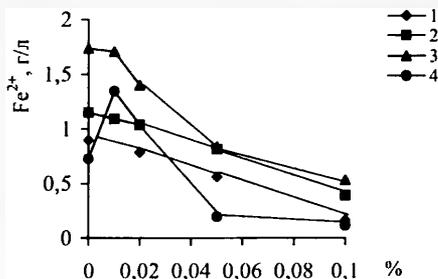


Рис. 4. Влияние концентраций дрожжевого экстракта на окисление Fe^{2+} *Leptospiroillum* sp. шт. 64(1), шт.72 (2), 54(3) и 50 (4).

По-видимому, при низких концентрациях дрожжевого экстракта шт.50 растет миксотрофно, используя дрожжевой экстракт как дополнительный источник углерода, что обеспечивает прирост биомассы и приводит к увеличению количества окисленного бактериями Fe^{2+} . При более высоких концентрациях в среде дрожжевого экстракта бактерии полностью переходят к органотрофному росту, используя органические вещества как в качестве источника углерода, так и энергии. При этом резко подавляется железоокисляющая активность бактерий. В органотрофных условиях в присутствии только дрожжевого экстракта без неорганических источников энергии бактерии растут слабо.

Таблица 1. Влияние различных концентраций дрожжевого экстракта на рост *Leptospiroillum* sp. шт.50 и шт.54 и окисление ими Fe^{2+} (время культивирования 4 сут., $t - 37^{\circ}$, $Fe^{2+} - 2,0$ г/л)

| Концентрация дрожжевого экстракта, % | Количество окисленного Fe^{2+} , г/л | | Белок, мг/л |
|--------------------------------------|--|-------|-------------|
| | шт.54 | шт.50 | |
| 0 | 0,98 | 0,728 | 0,005 |
| 0,005 | 1,092 | 1,624 | 0,0065 |
| 0,01 | 0,952 | 1,344 | 0,007 |
| 0,02 | 0,840 | 1,036 | 0,008 |
| 0,05 | 0,588 | 0,196 | 0,011 |
| 0,1 | 0,532 | 0,112 | 0,0085 |
| 0,2 | 0,448 | 0,084 | 0,007 |

Проведенные исследования показали, что выделенные бактерии *Leptospiroillum* sp.шт.50 способны активно окислять пирит. Причем,

установлено, что окисление пирита шт.50 более активно протекает в присутствии дрожжевого экстракта. Так, за 10 дней культивирования бактерий выщелачивается 4,2 и 4,6 г/л Fe при автотрофном и миксотрофном росте соответственно (табл. 2, рис. 5). При этом по сравнению с автотрофным ростом значительно сокращается продолжительность лаг-фазы (рис. 5).

Таблица 2. Окисление пирита бактериями *Leptospirillum sp.* шт.50 и их ассоциацией с ацидофильными гетеротрофами (FeS₂ -2%, время культивирования 10 дней, t 37°)

| Использованные штаммы | Выщелочено железо, г/л | | рН, нач./конеч. | Ен, мв, нач./конеч. |
|-----------------------|------------------------|------------------|-----------------|---------------------|
| | Fe ³⁺ | Fe ²⁺ | | |
| Контроль | 0,028 | 0,420 | 1,9/1,85 | 578/578 |
| шт.50 | 4,200 | 0,028 | 1,9/1,43 | 578/820 |
| шт.50* | 4,568 | 0,028 | 1,9/1,4 | 578/860 |
| шт.50 + шт.50-гет | 5,852 | 0 | 1,9/1,3 | 578/870 |
| шт.50 + шт.50-гет* | 4,704 | 0,028 | 1,9/1,37 | 580/795 |

Примечание: * - культура была выращена в присутствии 0,01% дрожжевого экстракта.

Исследования показали, что окисление пирита шт.50 в автотрофных условиях примерно в 1,4 раза стимулируется при совместном выращивании с ацидофильным гетеротрофным шт.50-гет. При этом наблюдалась корреляция между количеством выщелоченного железа, значениями рН и окислительно-восстановительного потенциала среды (табл. 2). Активность смешанной культуры в присутствии 0,01% дрожжевого экстракта значительно ниже, что можно объяснить конкуренцией, возникающей между *Leptospirillum sp.* шт.50 и ацидофильной гетеротрофной бактерией за органические вещества.

Таким образом, выделенные бактерии *Leptospirillum sp.* способны получать энергию для жизнедеятельности как при окислении двухвалентного железа, так и пирита. Кроме того, они отличаются от *L. ferrooxidans* четко выраженной термотолерантностью, что позволяет вести процесс биовыщелачивания с их использованием при более высоких температурах со значительно высокой скоростью. *Leptospirillum*-подобные бактерии с аналогичными свойствами были обнаружены в технологических установках непрерывного выщелачивания пирита [7, 15]. Однако в отличие от всех описанных до настоящего времени представителей рода *Leptospirillum*, являющимися облигатными автотрофами [3, 5, 9, 10], выделенный

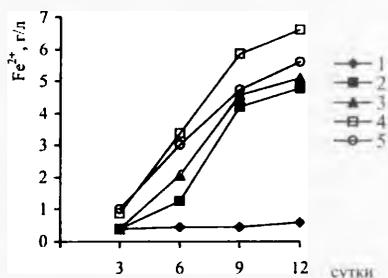


Рис. 5. Динамика окисления FeS₂ ассоциацией *Leptospirillum sp.* шт.50 и ацидофильных гетеротрофных бактерий. 1 - контроль, 2 - в автотрофных условиях, 3 - в присутствии 0,02% дрожжевого экстракта, 4 - при совместном культивировании со шт.50гет, 5 - при совместном культивировании со шт.50гет в присутствии 0,02% дрожжевого экстракта.

Leptospirillum sp. шт.50 является факультативным автотрофом и проявляет наибольшую скорость роста и окисления Fe^{2+} и пирита в присутствии 0,005-0,01% дрожжевого экстракта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Варданян Н.С., Акопян В.П. Микробиология. 72, 4, 1-5, 2003.
2. Герхардт Ф. и др., Методы общей бактериологии: в 3т., М., Мир, 1, 1983.
3. Головачева Р.С., Голышина О.В., Каравайко Г.И., Дорофеев А.Г., Пивоварова Т.А., Черных Н.А. Микробиология. 61, 6, 1056-1064, 1992.
4. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. М.: Наука, 248с., 1972.
5. Маркосян Г.Е. Биолог. журн. Армении. 25, 2, 26-29.
6. Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод. М.: Недра, 1970.
7. Coram N. J., Rawlings D. E. Appl. Environ. Microbiology. 68, 2, 838-845, 2002.
8. Eccleston M., Kelly D.P., Wood A.P. Autotrophic Growth of *Leptospirillum ferrooxidans*. Planetary Ecology. Eds. by Caldwell D.E., Brierley J.A., Brierley C.L. - VNR Comp. Inc. NY. 253 - 262, 1985.
9. Harrison A.P., Norris P.R. FEMS Microbiol. Lett. 33, 99-102, 1985.
10. Hippe H. System. Evol. Microbiology. 50, 501-503, 2000.
11. Norris P.R., Barr D.W., Hinson D. Iron and mineral oxidation by acidophilic bacteria: affinities for iron and attachment to pyrite, P.R.Norris, D.P. Kelly (ed.), Biohydrometallurgy, Science and Technology Letters. - Kew, Surrey, U.K. 43-59, 1988.
12. Peterson G.L. Anal. Biochem. 3, 346-356, 1977.
13. Rawlings D.E., Tributsch H. Hansford G.S. Microbiology. 145, 5-13, 1999.
14. Rawlings D.E., Silver S. Mining with microbes. Bio/Technology. 13, 773-778, 1995.
15. Sand W., Rohde K., Sobotke B., Zenneck C. Microbiol. 58, 1, 85-92, 1992.
16. Schrenk M.O., Edwards K.J., Goodman R.M., Hemers R.J., Banfield J.F. Science. 279, 1519-1522, 1998.

Поступила 20.XII.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 581.13:581.52

ОБ ИЗМЕНЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ ЗОЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ У НЕКОТОРЫХ ВЫСОКОГОРНЫХ РАСТЕНИЙ НА РАЗНЫХ ВЫСОТАХ ПРОИЗРАСТАНИЯ ГОРЫ АРАГАЦ

Р.К. СИМОНЯН

Институт ботаники НАН Армении, 375063, Ереван

The quantitative changes of ash elements in surface and underground organs some plants growing on different height of Aragats was investigated. It was shown, that with advancement of growing height the content of potassium and phosphor in marked organs increase, the content of natrium decrease in surface and increase in underground parts of plants

It was concluded, that with rising the plants growplace altitude changes of content marked ash elements in polar organs direct on security their adaptation and normal vital activity in crueling factors of environment

Высокогорные растения — зольные элементы — надземные и подземные органы

Минеральные элементы принимают непосредственное участие в разнообразных процессах жизнедеятельности растений: фотосинтезе, дыхании, водообмене, росте, развитии и т.д. Поэтому изучение их накопления в растительном организме в связи с изменением высоты произрастания имеет важное значение для познания их физиологической роли в приспособлении растений к условиям обитания. Исходя из этого, нами сделана попытка выяснить количественное изменение зольных элементов, а также их соотношение в надземных и подземных органах ряда высокогорных видов с учетом высотного градиента их местопроизрастания.

Материал и методика. Объектами исследования служили *Sibbaldia semiglabra* С. А. Mey., *Veronica gentianoides* Vahl., *Chamaescidium acaule* (Bieb.) Boiss., *Campanula tridentata* Schreb., произрастающие на г. Арагац на высоте 2700, 3000 и 3200 м над ур.м.. Содержание сырой золы определяли по Гинзбург, фосфора — по Мерфи и Райли, калия и натрия — пламенным фотометром [4]. Повторность определений 3-4-кратная.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что с повышением высоты произрастания содержание сырой золы в надземных частях изученных растений уменьшалось (табл.1). Однако на этом фоне отдельные элементы отличались по характеру количественного варьирования. Так, если содержание Na_2O снижалось от 1,05 до 1,77 раз, то K_2O и P_2O_5

Таблица 1. Содержание золы и зольных элементов в надземной части растений на различных высотах горы Арагац, % на сухое вещество

| Вид | Высота над ур. м., м | Сырая зола | Na ₂ O | K ₂ O | P ₂ O ₅ |
|------------------------------|----------------------|------------|-------------------|------------------|-------------------------------|
| <i>Sibbaldia semiglabra</i> | 2700 | 12.04 | 0.39 | 0.38 | 0.15 |
| | 3000 | 11.47 | 0.34 | 0.42 | 0.18 |
| | 3200 | 9.61 | 0.22 | 0.40 | 0.17 |
| <i>Veronica gentianoides</i> | 2700 | 9.36 | 0.72 | 0.74 | 0.24 |
| | 3000 | 8.42 | 0.67 | 0.79 | 0.25 |
| | 3200 | 8.17 | 0.59 | 0.81 | 0.28 |
| <i>Chamaesctadium acaule</i> | 2700 | 9.18 | 2.77 | 0.80 | 0.16 |
| | 3000 | 8.96 | 2.67 | 0.88 | 0.18 |
| | 3200 | 8.86 | 2.63 | 0.97 | 0.19 |
| <i>Campanula tridentata</i> | 2700 | 6.24 | 0.42 | 0.46 | 0.11 |
| | 3000 | 6.10 | 0.42 | 0.52 | 0.14 |
| | 3200 | 6.02 | 0.39 | 0.55 | 0.14 |

повышалось соответственно в 1,05-1,21 и 1,13-1,27 раз.

При сопоставлении полученных данных становится ясным, что в снижении количества сырой золы с высотой обитания растений определенную роль играет более резкое уменьшение содержания натрия.

В результате того, что с высотой произрастания растений от 2700 до 3200 м над уровнем моря направление изменения изученных элементов, в частности К и Na, неодинаковое, их соотношение в надземной сфере повышалось. Так, у *S. semiglabra* этот показатель возрастал на 86%, *V. gentianoides* – 34%, *Ch. acaule* – 28% и 29% у *C. tridentata*.

Описанные изменения играют важную роль в приспособлении растений к существующим экологическим условиям. При усилении напряженности факторов среды с высотой обитания они выражаются в регуляции их водного, углеводного, энергетического обмена растений и т.д. [1,3]. С этим можно связать и некоторое увеличение содержания фосфора в надземных частях подопытных растений.

В подземной сфере с повышением местопроизрастания растений прослеживалось увеличение содержания сырой золы. Несомненно, в этом определенное значение имело нарастание количества натрия, калия и фосфора (табл.2). Так, например, у *V. gentianoides* при переходе от 2700 до 3200 м над ур.м. количественное повышение натрия составляло 15%, калия – 24%, а фосфора- 16%.

Аналогичная закономерность выявлена и для других видов. Как правило, на всех высотных пунктах содержание натрия в подземной части превалирует над калием. Этот интересный факт объясняется тем, что соли натрия повышают устойчивость клеток путем снижения температуры замерзания растюргов [2]. Следовательно, можно полагать, что при повышении высоты местообитания физиологическая роль натрия заключается в его участии в приспособлении растений к пониженным температурам окружающей среды.

Что касается соотношения К/Na, с высотой обитания растений определенной закономерности для подземной сферы не выявлено. Если для *S. semiglabra* и *Ch. acaule* это соотношение с высотой повышается, то для

Таблица 2. Содержание золы и зольных элементов в подземной части растений на различных высотах горы Арагац, % на сухое вещество

| Вид | Высота над ур. м., м | Сырая зола | Na ₂ O | K ₂ O | P ₂ O ₅ |
|------------------------------|----------------------|------------|-------------------|------------------|-------------------------------|
| <i>Sibbaldia semiglabra</i> | 2700 | 6.38 | 1.89 | 1.18 | 0.25 |
| | 3000 | 7.05 | 1.94 | 1.21 | 0.29 |
| | 3200 | 8.71 | 1.94 | 1.42 | 0.28 |
| <i>Veronica gentianoides</i> | 2700 | 11.31 | 2.84 | 1.87 | 0.29 |
| | 3000 | 11.91 | 3.17 | 1.94 | 0.38 |
| | 3200 | 12.78 | 3.26 | 1.93 | 0.41 |
| <i>Chamaescadium acaule</i> | 2700 | 11.74 | 2.87 | 2.19 | 0.38 |
| | 3000 | 12.36 | 3.04 | 2.66 | 0.44 |
| | 3200 | 13.65 | 3.21 | 2.71 | 0.44 |
| <i>Campanula tridentata</i> | 2700 | 7.92 | 3.32 | 1.90 | 0.17 |
| | 3000 | 8.74 | 4.41 | 2.42 | 0.45 |
| | 3200 | 8.86 | 4.63 | 2.44 | 0.49 |

двух остальных видов — понижается.

Таким образом, проведенные исследования позволяют прийти к выводу, что изменения содержания калия, натрия и фосфора в подземных и надземных частях растений при положительном вертикальном градиенте местообитания обусловлены усилением напряженности факторов среды и направлены на их приспособление к меняющимся условиям жизни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреевко С.С. Физиология сельскохозяйственных растений. Изд. МГУ, 2, 90-127, 1967.
2. Генкель П.А. Физиология сельскохозяйственных растений. Изд. МГУ, 3, 87-261, 1967.
3. Зироян А.Н., Казарян В.В. Бот. журн., 72, 6, 807-812, 1987.
4. Ягодин Б.А., Дерюгин И.П., Жуков Ю.П. и др. Практикум по агрохимии, М. "Агропромиздат", с.511, 1987.

Поступила 03.V.2004

AZOTOBACTER VINELANDII-Ն ԱՌՎՈՒՅՏՏԻ ՌԻՋՈՊԼԱՆՈՒՄ

Վ.Գ. ՆԻԿՈՂՈՍՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ, 378510, ք Արովյան

Azotobacter vinelandii was discovered and presented with its biological characteristics for the first time in Armenia. It is supposed, that there is an associative relations between the *A. vinelandii* and *Lucerne*

Azotobacter vinelandii - ազոտֆիքսացիա - առվույտ - ռիզոպլան

Azotobacter vinelandii-ն համարվում է ազոտոբակտերի վաղ ժամանակներից հայտնի ամենաբնորոշ և լավ ուսումնասիրված տեսակներից մեկը: Մի շարք հեղինակներ ցույց են տվել, որ իրենց ուսումնասիրած 18 տարբեր բակտերիաներից *A. vinelandii*-ն ամենակայունն է եղել փորձարկված ինհիբիտորների և կանցերոգենների հանդեպ [7]: Ապացուցվել է նաև այդ բակտերիայի էֆեկտիվությունը գարու սերմերը վարակելիս [5]: Կան տեղեկություններ շաքարեղեգի արմատային զոնայում *A. vinelandii* -ի զարգանալու ունակության մասին [8]:

Հայաստանի տարբեր հողակլիմայական գոտիներից Կիրակոսյանը և ուրիշները [3] մեկուսացրել են *A. chroococcum*, *A. beijerinckii*, *A. nigricans*, *A. agilis*, *A. vitreus* տեսակներն ու տարատեսակները և խորությամբ ուսումնասիրել այդ ազոտֆիքսատորների տարածվածության օրինաչափությունները: Նմանատիպ հետազոտություններ հանրապետության աղակալած հողերում իրականացրել է Փանոսյանը [2]:

Չնայած Հայաստանի հողերում ազոտոբակտերն ուսումնասիրվել է դեռևս 30-ական թվականներից [3], իսկ հետագայում նաև մեր կողմից [1], անհրաժեշտ է նշել, որ *A. vinelandii*-ն հանրապետության հողերում մինչ այժմ չէր հայտնաբերվել: Այն հաջողվել է հայտնաբերել թիթեռնածաղկավոր բույսերի արմատային զոնայի ոչ սիմբիոտիկ ազոտֆիքսատորների և նրանց համակեցությունների մեր կողմից կատարված ուսումնասիրությունների ընթացքում, որին և նվիրված է սույն հաղորդումը:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունների նյութ է հանդիսացել Հայաստանի տարբեր հողակլիմայական պայմաններում մշակվող առվույտի, երեքնուկի, կորնգանի ու ցորենի արմատային զոնայի ու հողերի հարյուրավոր նմուշները: Հետազոտվող բույսերի ռիզոսֆերային միկրոֆլորան ուսումնասիրվել է Կրասիլնիկովի, իսկ ռիզոպլանը Բերյոզովայի եղանակներով [4]:

Օգտագործել ենք էջբի-ի ու Վինոգրադսկու հեղուկ և ազարային սննդամիջավայրերը: Իդենտիֆիկացիան կատարվել է Բերգեի [6] որոշիչով, իսկ ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը որոշվել է ացետիլենային եղանակով [9]:

Արդյունքներ և քննարկում: Դեռևս 1998թ. Արարատի մարզի հողերում աճող առվույտի ռիզոպլանից մեզ հաջողվել էր մեկուսացնել ազոտֆիքսող մանրէների մի համակեցություն (ԱՄՅ-99-9), որը պարունակում էր *A. vinelandii*-ին բնորոշ բջիջներ և ջրալույծ կանաչ պիզմենտ պարունակող մի կուլտուրա: Սակայն տարբեր սննդամիջավայրերի վրա կատարված բազմակի վերացանքներից հետո, երբ կատարվեցին միկրոսկոպիական դիտողություններ, պարզվեց, որ այդ կուլտուրան պարունակում է նաև շատ բարակ ձողերի ձևով հանդես եկող մի այլ բակտերիա, որից մեզ հաջողվեց ազատվել նույնիսկ տարբեր անտիբիոտիկների փորձարկումներից հետո:

Հետագա ուսումնասիրությունների ընթացքում *A. vinelandii*-ի մաքուր կուլտուրա այնուամենայնիվ մեզ հաջողվեց ստանալ 99-109 ԱՄՅ-ից, որը մեկուսացվել էր Կոտայքի մարզի հողերում մշակվող դարձյալ առվույտի ռիզոպլանից: Հետաքրքիր է նշել, որ *A. vinelandii* մեզ չէր հաջողվել հայտնաբերել վերոհիշյալ հողատարածքներում մշակվող հացազգիների արմատային գոնայից մեկուսացված հարյուրավոր ԱՄՅ-ների կազմի ուսումնասիրությունների ընթացքում:

Հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ չնայած մեր կողմից ուսումնասիրված թիթեռնածաղկավոր բույսերի (առվույտ, երեքնուկ, կորնգան) ընդհանուր թիվը տասնապատիկ անգամ փոքր է եղել փորձարկված հացազգի բույսերի (ցորեն, գարի և այլ խոտաբույսեր) թվից, իսկ *A. vinelandii* -ն երկու անգամ էլ ի հայտ է եկել միայն առվույտի ռիզոպլանում, հավանաբար պետք է հետևեցնել, որ տվյալ դեպքում բույսի և այդ դիագնոտրոֆի միջև գոյություն ունի ասոցիատիվ կապ:

Ստորև ներկայացվում է 99-109 ԱՄՅ-ից մեկուսացված *A. vinelandii*-ի նկարագրությունը:

Բջիջները կլոր են (2.2- 5.5 μ տրամագծով), կամ օվալաձև (2.5- 4.5 x 2.0- 2.5 μ), հանդես են գալիս հիմնականում մեկ կամ երկուական միացումների ձևով: Առաջացնում է պատիճ (կապսուլա), իսկ զարգացման 10-15-րդ օրը ցիստավորվում է:

Էջրի-ի ազարային սննդամիջավայրում առաջացնում է 7-15 մմ մեծության, հարթ կամ կնճռոտ մակերեսով, հիմնականում հարթ եզրերով, լորձնային փայլուն զաղութներ: Կանաչ պիզմենտավորումը սովորաբար ի հայտ է գալիս զարգացման վաղ շրջանում (2-3-րդ օրը), որի հետևանքով սննդամիջավայրը ձեռք է բերում կանաչ գունավորում, իսկ աճի ավելի ուշ շրջանում այն դառնում է բաց շագանակագույն:

Լավ է զարգանում մանիտ, սորբիտ և համեմատաբար ավելի թույլ՝ գլիցերին պարունակող սննդամիջավայրերում: ՄՊԱ-ում չի զարգանում, օսլան չի հիդրոլիզում, թույլ ձևով վերականգնում է նիտրատները: Մթնոլորտի ազոտը ֆիքսում է ինչպես աերոբ, այնպես էլ միկրոաերոֆիլ պայմաններում: Նիտրոգենազային ակտիվությունը 2 մլ Վինոգրադսկու հեղուկ սննդամիջավայրում կազմել է 8000 մ մոլ/7օրում: Ինչպես ԱՄՅ- 99-9-ի, այնպես էլ ԱՄՅ-99-109-ի մոտ ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը ավելի բարձր է համակեցության պայմաններում, քան առանձին մոնոկուլտուրայի դեպքում:

Այսպիսով, Հայաստանի պայմաններում *A. vinelandii*-ի առկայությունը նորություն է և լրացնում է մեր պատկերացումը ոչ սիմբիոտիկ ազոտֆիքսացիայի մասին նոր տվյալներով, այլ նաև հիմք է ստեղծում ենթադրել առվույտի հետ նրա հնարավոր ասոցիատիվ կապի մասին:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Եփրղոսյան Վ.Գ.* Դոկտ. ատենախոս. սեղմ., Արոլյան, 1998.
2. *Փանոսյան Դ.Կ.* Մթնոլորտային ազոտի կենսաբանական ֆիքսացիան Հայկական ՍՍՀ-ում. Երեվան, ՀՍՍՀ ԳԱ հրատ., 1975.
3. *Киракосян А.В., Овсеян Э.А., Мкртчян М.М.* Вопросы микробиологии. Биологическая фиксация атмосферного азота. Изд. АН АрмССР, VIII (XVIII), 107-119, 1981.
4. *Тепнер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.П.* Практикум по микробиологии, М., 1972.
5. *Терехов М.Б., Ежова Л.А.* Тез. Междунар. науч. конф. "Развитие науч. наследия акад. Н.И.Вавилова", Саратов, нояб. 1997. Ч. 2., Саратов, 134-136, 1997.
6. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1, 1984.
7. *Chung-King Thom, Chen Ssu-Ching, Wong Tit Yee, Wei Chen J.* Environ. Toxicol and Chem., 17, 2, 271 - 275, 1988.
8. *Graciolli L.A., Freitas J.R. de, Puppim R.A.* Rev. microbial., 14, 3, 191-196, 1983.
9. *Hardy R.W., Holsten R.D., Jackson E. K., Burns R.C.* Plant Physiol., 43, 1185-1207, 1968.

Поступила 02.V.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 577.1.05

РЕГУЛЯЦИЯ ИЗОФЕРМЕНТОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ГЛУТАМИНАЗЫ АЭРОБНЫХ ИНФУЗОРИЙ *PARAMECIUM* *MULTIMICRONUCLEATUM*

С.А. КАРАПЕТЯН, А.А. ТАМРАЗЯН, Л.А. ПЕТРОСЯН, М.А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375025

The mitochondrial glutaminase of *Paramecium multimicronucleatum* have been partial purified by the method of the ionexchange. It has been shown, that more than 80% of total glutaminase activity of *P. multimicronucleatum* is located in the mitochondrias of the cells. Two isoenzymes of the glutaminase have been revealed in the mitochondrias of *P. multimicronucleatum*. The glutaminase I is phosphate dependent, while glutaminase II is phosphate independent, it is positively regulated by citrate. ATF, thyroxine, dexamethasone, adrenaline and bicarbonate have show the positive effect on activation of both mitochondrial isoglutaminases.

Глутаминаза - изоэнзимы - простейшие

Глутамин, являясь протеиногенной аминокислотой, входит в состав всех белков. В метаболизме клеток он занимает нейтральное место и, синтезируясь из свободного аммиака и глутамата, участвует в процессе нейтрализации аммиака. Одновременно глутамин является транспортной формой аммиака, так как переносит последний с места нейтрализации к органам выделения его (жабры, почки, поверхностные клетки) или к осуществляющей биосинтез мочевины печени, где под действием глутаминазы расщепляется на глутамат и свободный аммиак. Глутамин является также активной формой аммиака, так как последний, предварительно превращаясь в амидный азот глутамина, может вовлекаться в биосинтез ряда биологически важнейших соединений (пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, гексозамины и др.). Катаболизм глутамина прокариотических и эукариотических организмов осуществляется глутаминазой [5, 14]. Исследования последней показали, что существуют по крайней мере два изофермента глутаминазы: фосфатзависимая (ФЗГ) и фосфатнезависимая (ФНГ), отличающиеся по физико-химическим свойствам, механизм регуляции и локализации в клетке [5, 7-13]. В частности, наличие многочисленных модуляторов глутаминазы свидетельствует о разных метаболических путях изоферментов.

В данной работе исследовалось влияние различных известных эффекторов на активность изоферментов митохондриальной глутаминазы аэробных инфузорий *Paramecium multimicronucleatum*.

Материал и методика. Объектом исследований являлись *P. multimicronucleatum*, выращенные в среде Сонеборна [15]. Гомогенизацию проводили в стеклянном гомогенизаторе. Фракционирование гомогената осуществляли методом Бради и Бреда [4], модифицированным Палладиным и Кирсенко. Ядерную фракцию отделяли центрифугированием в 0.25М растворе сахарозы при 700g в течение 10 мин. Для получения митохондриальной фракции надосадочную жидкость центрифугировали при 10000g в течение 25 мин. Для промывания полученной митохондриальной фракции была проведена регомогенизация и повторное центрифугирование. В целях разрушения митохондрий полученную взвесь однократно замораживали. Активность глутаминазы определяли методом Зелингсона [16] по количеству аммиака, образовавшегося вследствие гидролиза глутамин, модифицированного Силаковой [1]. Частичную очистку митохондриальной глутаминазы проводили методом ионообменной хроматографии на ДЕАЕ целлюлозе.

Результаты и обсуждение. Известно, что глутаминазы животных тканей и микроорганизмов отличаются друг от друга как структурой, физико-химическими свойствами, так и механизмами регуляции ферментативной активности. Но существуют некоторые бактериальные глутаминазы, которые проявляют свойства фермента животного происхождения [6]. Регуляция ФЗГ и ФНГ обусловлена наличием определенного уровня глутамин и влиянием ряда эффекторов на ферментативную активность. В предыдущих наших работах была исследована регуляция митохондриальной глутаминазы аэробных инфузорий *P. multimicronucleatum* [2]. Методом ионообменной хроматографии была частично очищена митохондриальная глутаминаза, представленная 2 изоферментами [2, 3] (табл. 1).

Таблица 1. Частичная очистка митохондриальной глутаминазы инфузорий *P. multimicronucleatum* методом ионообменной хроматографии, n = 13

| Фракции | Общий белок, мг | Общая активность, мкМ NH ₃ | Удельная активность, мкМ NH ₃ /мг белка | Очистка | Исход, % |
|-------------------|-----------------|---------------------------------------|--|---------|----------|
| Гомогенат | 111±9.52 | 99±5.68 | 0.89±0.11 | 0 | 100 |
| Митохондрии | 48±2.41 | 82.2±2.28 | 1.71±0.16 | 1.92 | 83 |
| Глутаминаза I | 1.98±0.18 | 45.26±1.51 | 22.86±1.12 | 25.69 | 55.06 |
| Глутаминаза II | 0.80±0.08 | 13.61±1.02 | 17.01±1.08 | 19.11 | 16.56 |
| Глутаминазы I, II | 2.78±0.21 | 58.87±4.48 | 21.18±1.83 | 23.8 | 71.62 |

С целью утверждения предположения о наличии в митохондриях аэробных инфузорий *P. multimicronucleatum* 2 изоферментов глутаминазы нами исследовалось влияние различных эффекторов на их активность (табл. 2).

Изоферменты митохондриальной глутаминазы инкубировались в присутствии фосфата, цитрата, бикарбоната, пара-хлор-меркурий бензоата, АТФ, аргинина, цитрулина, орнитина, тироксина, дексаметазона и адреналина. Полученные результаты представлены в табл. 2. Как видно из данных таблицы, вышеперечисленные эффекторы по-разному влияют на активность обеих глутаминаз. Глутаминазу I, несомненно, можно считать ФЗГ, т.к. в присутствии фосфата ее активность возрастает почти в 2 раза, достигая величины от 22.86±2.11 мкМ до 38.76±2.28 мкМ. На глутаминазу II фосфат никакого воздействия не оказывает. Исходя из вышеизложенного, можно

предположить, что в митохондриях инфузорий глутаминаза представлена 2 изоферментами: фосфатзависимой и фосфатнезависимой.

Таблица 2. Влияние разных эффекторов на активность митохондриальных глутаминаз I и II (n=16)

| Эффектор | Глутаминаза I | | | Глутаминаза II | | |
|--|---|---------------|------------------------|---|---------------|------------------------|
| | Активность, мкМ NH ₄ /мг белка | Активность, % | Активация, ингибция, % | Активность, мкМ NH ₄ /мг белка | Активность, % | Активация, ингибция, % |
| Без эффектора | 22.86±2.11 | 100 | 0 | 17.01±1.52 | 100 | 0 |
| Фосфат 2.5мкМ | 38.76±2.28 | 170 | +70 | 17.01±1.02 | 100 | 0 |
| Пара-хлор-меркурий бензойная к-та 5мкМ | 22.86±1.98 | 100 | 0 | 17.01±1.30 | 100 | 0 |
| Пара-хлор-меркурий бензойная к-та 10/20мкМ | 16.00±1.79 | 70 | -30 | 19.39±1.41 | 114 | +14 |
| Na-цитрат 50мкМ | 22.86±2.11 | 100 | 0 | 33.01±2.18 | 194 | +94 |
| АТФ 2мкМ | 40.01±3.50 | 175 | +75 | 34.02±2.82 | 200 | +100 |
| Аргинин 50мкМ | 22.86±1.88 | 100 | 0 | 5.52±0.65 | 32.5 | -67.5 |
| Орнитин 50мкМ | 17.6±1.18 | 77 | -27 | 9.53±0.89 | 56 | -44 |
| Цитрулин 50мкМ | 17.6±2.06 | 77 | -27 | 9.53±1.19 | 56 | -44 |
| NaHCO ₃ 60мкМ | 45.95±3.12 | 201 | +101 | 34.02±2.92 | 200 | +100 |
| Тиоксин 0.1мкМ | 67.67±5.15 | 296 | +196 | 28.92±1.91 | 170 | +70 |
| Дексаметазон 5мкМ | 62.87±5.22 | 275 | +175 | 26.7±2.12 | 157 | +57 |
| Адреналин | 45.95±2.28 | 201 | +101 | 24.83±1.72 | 146 | +48 |

Интересно влияние пара-хлор-меркурий бензоата на активность обеих глутаминаз, который в количестве 5 мкМ не действует на активность изоферментов, а в количестве 10-20 мкМ ингибирует активность глутаминазы I на 30% (от 22.86±2.11 мкМ до 16.00±1.79 мкМ), что свидетельствует о наличии SH-группы в активном центре фермента. На глутаминазу II пара-хлор-меркурий оказывает слабое активирующее влияние (от 17.01±1.52 мкМ до 19.39±1.41 мкМ). Это можно объяснить тем, что пара-хлор-меркурий бензоата связывается с SH-группами, которые находятся вне активного центра, что приводит к конформационным изменениям и повышению сродства фермента к субстрату.

Цитрат приблизительно в 2 раза активизирует глутаминазу II (от 17.01±1.52 мкМ до 33.01±2.18 мкМ), но не действует на глутаминазу I. АТФ и бикарбонат активизируют обе глутаминазы приблизительно в 2 раза. В присутствии АТФ глутаминаза I активизируется от 22.86±2.11 мкМ до 40.01±3.50 мкМ, а глутаминаза II от 17.01±1.52 мкМ до 34.02±2.82 мкМ. В присутствии бикарбоната активность глутаминаз I и II составляет

45.95±3.12мкМ и 34.02±2.92мкМ соответственно. Аргинин сильно ингибирует активность глутаминазы II, приблизительно на 70% (от 17.01±1.52мкМ до 5.52±0.65мкМ), но никакого воздействия не оказывает на глутаминазу I. Цитрулин и орнитин одинаково ингибируют обе глутаминазы, подавляя активность первого изофермента на 25%, а второго – на 44%. Относительно действия гормонов на оба изофермента глутаминазы нужно отметить, что глутаминаза I более чувствительна к тироксину, дексаметазону и адреналину. Первые два гормона приблизительно в 3 раза, а адреналин в 2 раза активируют глутаминазу I. В присутствии тироксина активность фермента возрастает от 22.86±2.11мкМ до 67.67±5.15мкМ, дексаметазона – до 62.87±5.22 мкМ, а адреналина - до 45.95±2.28мкМ. Глутаминаза II также активируется вышеперечисленными гормонами. В присутствии тироксина активность последней возрастает от 17.01±1.52мкМ до 28.92±1.91мкМ, дексаметазона - до 26.7±2.12мкМ, адреналина - до 24.83±1.72мкМ, т.е. на 70%, 57% и 48% соответственно.

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что в митохондриях аэробных инфузорий *P. multimicronucleatum* присутствуют 2 изофермента глутаминазы, которые отличаются механизмами регуляции, причем глутаминаза I фосфатзависимая, а глутаминаза II – фосфатнезависимая.

ЛИТЕРАТУРА

1. Силакова А.Н., Труш Г.П., Являкова А.А. Вопросы мед. химии, 5, 538, 1962.
2. Тамразян А.А., Карпетян С.А., Давтян М.А. Биолог. журн. Армении, 55, 1-2, 2003.
3. Тамразян А.А. Вестник МАНЭБ, 7,6 (54), 51-55, 2002.
4. Brody F.N., Bain J.A. Biol. Chemistry, 195, 685-692, 1952.
5. Crabtree Ch., Expaзы Mol. Bioserver, 2000.
6. Cumpbell H.A., Mushburn L.T. Biochemistry, 8, 3768, 1969.
7. Curthoys N.P., Wadford H. Annu. Rev. Nutrition, 15, 133- 159, 1995.
8. Duran S. Biochem Genet. 34, 453-465, 1996.
9. Krivasikova Z., Sputrova A., Dzurik R. Physiol Res., 47, 1998.
10. Kvamme E., Torgner I., Robry B. FEBS Letters, 268, PS2-031, 2001.
11. Roberg B., Torgner I., Laake J., Takuma Y. Am. J. Physiology, 273, 3, 2000.
12. Shapiro R.A., Morehouse R.F., Curthoys N.P. Biochem. J., 267, 561-567, 1982.
13. Soberon M., Gonzales A. J. Gen. Microb, 133, 1-8, 1987.
14. Soberon M., Gonzales A. J. Gen. Microb, 153, 11-17, 1988.
15. Soneborn T.M. Methods in Cell Physiology, 4, Pescot, 1970.
16. Zelingson D., Zelingson H. J. Lab. Clinic. Med., 38, 384, 1951.

Поступила 03.III.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК591.1.05

ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ ФОРЕЛИ *PARASALMO MIKIS*

А.Х. АГАДЖАНЯН, А.А. ЗАХАРЯН, А.А. АГАДЖАНЯН, М.С. МАРТИРОСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

The characteristics of enzymes (ornithine transaminase: OT and pyrroline-5-carboxylate reductase:P5CR) of biosynthesis from ornithine to proline were studied in different organs of trout. When the extracts of liver and fish-gills of trout were gel-filtrated, two OT and P5CR isoenzymes were discovered. It is revealed, that the activity of enzymes in liver and in fish-gills is higher in that case when the biosynthesis is realized by means of OTI and P5CRII . Both in liver and in fish-gills the activity of biosynthesis enzymes is equal to 0, when the biosynthesis is realized with peculiarity of OTII and P5CRII. It turned out that the activity of enzymes in kidney is higher in case of 45% saturation of ammonium sulphate and in liver in case of 30% saturation.

Орнитинтрансаминаза - пирролин-5-карбоксилатредуктаза - регулирование активности - форель

Регуляция активности ферментов биосинтеза пролина может осуществляться при участии некоторых соединений и имеет ряд особенностей.

Предполагают, что орнитинтрансаминаза (ОТ) является митохондриальным ферментом. А тот факт, что пирролин-5-карбоксилатредуктаза (П5КР) имеет внемитохондриальную локализацию, позволяет заключить, что пирролин-5-карбоновая кислота наделена способностью проникать через митохондриальную мембрану [5].

Знаменательно, что и у клостридий обнаружена П5КР-азная активность [4], но синтез пролина из глутамата не происходит. П5КР обнаружена у одноклеточных организмов, животных и растений [2]. В начале фермент был очищен из печени крупного рогатого скота, затем с помощью гель-фильтрации был очищен 200 раз у *E.coli* [6], его молекулярная масса была равна 320000D. У псевдомонад П5КР является растворимым, оптимальная рН фермента равна 8,5 [4].

Выявлены два изоэнзима ОТ на всех стадиях метаморфоза фасоловой зерновки в кишечнике дождевого червя и один в молочной железе и мозгу контрольных(нормальных) и лактирующих крыс. Обнаружены два изоэнзима П5КР в молочной железе и один в мозге крыс, два у личинок и один у куколок и жуков фасоловой зерновки, три в кишечнике дождевого червя [1].

Настоящая работа посвящена изучению некоторых особенностей ОТ и П5КР и их регуляторных возможностей в различных органах форели.

Материал и методика. Объектом исследований служила рыба форель (*Parasalmo mikis*) массой 0,7-1 кг в количестве 6 шт. Активность ферментов биосинтеза пролина определяли по количеству синтезированного пролина. Количество пролина определяли химическим методом Блуменкранца [3]. Гель-фильтрацию проводили на колонке с сефадексом G-150.

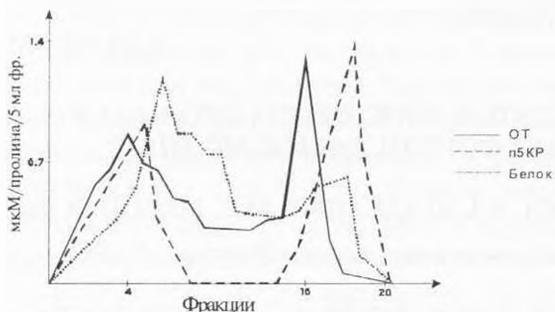


Рис. 1. Изоэнзимы ОТ и П5КР жабр форели.

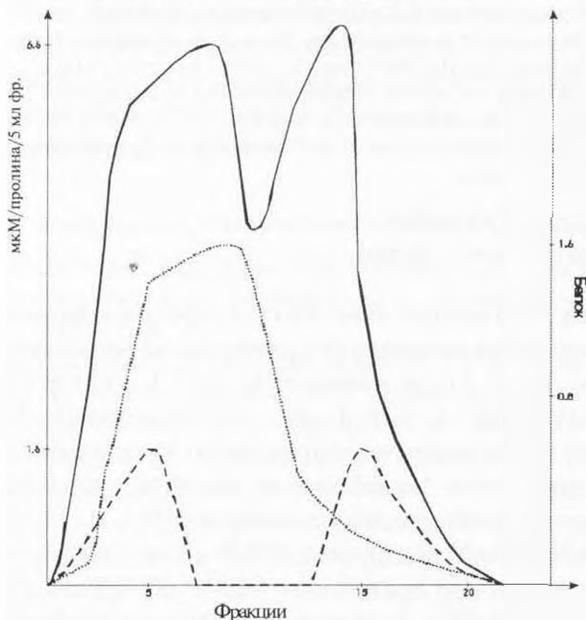


Рис. 2. Изоэнзимы ОТ и П5КР печени форели.

Результаты и обсуждение. При гель-фильтрации экстрактов печени и жабр форели на сефадексе G-150 обнаружены по два изоэнзима ОТ и П5КР. Активность изоэнзимов ОТ_I и П5КР_I жабр форели уступает таковым ОТ_{II} и П5КР_{II}. А в печени активность изоэнзимов П5КР_I и П5КР_{II} одинакова.

В следующих экспериментах с целью большей наглядности нами была изучена активность ферментов биосинтеза пролина с помощью разных комбинаций изоферментов ОТ и П5КР (табл. 1 и 2).

Из табл. 1 и 2 видно, что в печени и жабрах наивысшая активность проявляется тогда, когда биосинтез пролина осуществляется изоэнзимами ОТ_I и П5КР_{II}. Следует отметить, что когда биосинтез пролина осуществляется изоэнзимами ОТ_I и П5КР_I, проявляется почти такая же

активность как и при ОТ_I и П5КР_{II}.

Нами изучалась также активность ферментов биосинтеза пролина во фракциях гомогенатов почек и печени, которые были получены при насыщении сульфатом аммония (табл. 3 и 4).

Из табл. 3 видно, что в почках активность ферментов биосинтеза пролина наиболее высока при 45%-ном насыщении сульфатом аммония. Во всех фракциях активность ферментов высока в осадке. Следовательно, фермент имеет в основном митохондриальную локализацию.

Как кофактор, для ферментов биосинтеза пролина использовали НАДН.

Таблица 1. Активность ферментов биосинтеза пролина в печени форели, 1мкМ/г свежей ткани (n=5, M±m)

| Изоферменты | | Активность ОТ и П5КР |
|-------------|------|-------------------------|
| ОТ | П5КР | |
| I | I | 0.78 ± 0.063 |
| I | II | 0.86 ± 0.069 |
| II | I | 0.12 ± 0.009 |
| II | II | 0 |

Таблица 2. Активность ферментов биосинтеза пролина в жабрах форели, 1мкМ/г свежей ткани (n=5, M±m)

| Изоферменты | | Активность ОТ и П5КР |
|-------------|------|-------------------------|
| ОТ | П5КР | |
| I | I | 0.10 ± 0.008 |
| I | II | 0.12 ± 0.009 |
| II | I | 0.07 ± 0.005 |
| II | II | 0 |

Таблица 3. Активность ферментов биосинтеза пролина во фракциях гомогената почек форели, 1мкМ/г свежей ткани (n=5, M±m)

| Степень насыщения сульфатом аммония, % | Фракции | Активность ОТ и П5КР | Распределение активности, % |
|---|-----------|-------------------------|--------------------------------|
| гомогенат | | | 1.0 ± 0.07 100 |
| 30 | осадок | 0.14 ± 0.02 | 14 |
| | надосадок | 0.023 ± 0.01 | 2.3 |
| 45 | осадок | 0.25 ± 0.03 | 25 |
| | надосадок | 0.22 ± 0.02 | 22 |
| 60 | осадок | 0.19 ± 0.01 | 19 |
| | надосадок | 0 | 0 |

Далее из табл. 4 видно, что в печени активность ферментов биосинтеза пролина наиболее высока при 30%-ном насыщении сульфатом аммония. Видно также, что в печени в надосадке гомогената активность ферментов биосинтеза пролина в 3.5 раза уступает таковой в осадке.

Таким образом, в изученных нами органах ферменты биосинтеза

Таблица 4. Активность ферментов биосинтеза пролина во фракциях гомогената печени форели, 1мкМ/г свежей ткани (n=5, M±m)

| Степень насыщения сульфатом аммония, % | Фракции | Активность ОТ и П5КР | Распределение активности, % |
|---|-----------|-------------------------|--------------------------------|
| гомогенат | | 5.05 ± 0.35 | 100 |
| 30 | осадок | 1.55 ± 0.09 | 30.7 |
| | надосадок | 0.45 ± 0.04 | 8.9 |
| 45 | осадок | 1.2 ± 0.08 | 23.8 |
| | надосадок | 0.14 ± 0.02 | 2.8 |
| 60 | осадок | 1.13 ± 0.08 | 22.4 |
| | надосадок | 0.14 ± 0.02 | 0 |

Кофактор - НАДН.

пролина имеют митохондриальную локализацию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х., Арутюнян Л.М. Биолог. журн. Армении, 32, 1179-1184.
2. Brandriss M.C. J. Bacteriol, 138, 816-822, 1979.
3. Blumenkrantz N. Clin. Biochem, 13, 177, 1980.
4. Costilow R.N., Cooper D. J. Bacteriol, 134, 139-146, 1978.
5. Mazelis M. Fowden L. Phitochemistry, 8, 801-809, 1969.
6. Rossi J.J., Vender J., Berg C.M., Coleman W. H. J. Bacteriol, 129, 108-114, 1977.

Поступила 04.IV.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 581.1

ԾԱՆՐ ՄԵՏԱՂՆԵՐԻ ԱՂԵՐԻ ԿԱՐՃԱԺԱՄԿԵՏ ԱՉՂԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՔԼՈՐԵԼԱՅԻ ՊԻԳՄԵՆՏՆԵՐԻ ԿՐԱ

Յ.Յ. ԹԱԴԵՎՈՍՅԱՆ

երևանի պետական համալսարան, կենսաֆիզիկայի բաժին, 375025

Effect of heavy metals on pigments content was investigated in *Chlorella*. It is established, that the content of pigments decreases under the influence of heavy metals. Under the action of lead (Pb) the light-harvesting complex is mainly damaged, and under the action of zinc (Zn) - the reaction centers.

Chlorella - ծանր մետաղների աղեր - պիգմենտներ

Ներկայումս մարդածին աղտոտվածությունը էկոլոգիական գործոն է, որն իջեցնում է բնական ջրերում ջրիմուռների ֆոտոսինթետիկ արտադրողականությունը: Մեծ ուշադրություն է դարձվում հատկապես ծանր մետաղներով շրջակա միջավայրի աղտոտվածությանը: Առավել տարածված ծանր մետաղներին են պատկանում կապարը և ցինկը: Վերջիններս իջեցնում են ֆոտոսինթեզի ինտենսիվությունը, խախտելով քլորոպլաստների կառուցվածքը, ճնշում են քլորոֆիլի, կարոտինոիդների սինթեզը, խախտում են էլեկտրոնների տեղափոխությունը [3, 4, 9]:

Օբյեկտի ֆիզիոլոգիական վիճակի առավել զգայուն ցուցանիշ է քլորոֆիլի և կարոտինոիդների պարունակությունը [8]: Հայտնի է, որ քլորոֆիլ *a*-ն գտնվում է ինչպես ռեակցիոն կենտրոնների, այնպես էլ ֆոտոհամակարգ II-ի ծայրամասային անտենաների կազմում, իսկ քլորոֆիլ *b*-ն առավելապես լույս հավաքող համալիրի բաղադրիչ է [2]:

Աշխատանքի նպատակն է եղել հետազոտել կանաչ ջրիմուռ քլորելայի (*Chlorella pyrenoidosa*) պիգմենտների (քլորոֆիլներ և կարոտինոիդներ) պարունակությունը միջավայրում ծանր մետաղների աղերի առկայության պայմաններում:

Լյուր և մեթոդ: Հետազոտման օբյեկտ է հանդիսացել միաբջջե կանաչ ջրիմուռ *Ch. pyrenoidosa*-ն: Քլորելան աճեցվել է Տամիայի միջավայրում, սենյակային ջերմաստիճանում (23-27°) և բնական լուսավորության պայմաններում (500-800 լք):

Միևնույն խտությամբ և ծավալով քլորելայի սուսպենզիան 1 ժ տևողությամբ ենթարկվել է տարբեր քանակությամբ (1-10 մՄ) կապարի ազդեցության և 0,1Մ ցինկի սուլֆատի ազդեցությանը: Քլորոֆիլի պարունակության որոշման համար պիգմենտները լուծահանել ենք 80%-ոց ազետոնի լուծույթով, էքստրակտի օպտիկական խտությունը չափել ենք ՍՖ-10 սպեկտրոֆոտոմետրով: Քլորոֆիլի կոնցենտրացիան հաշվել ենք Վերնոնի բանաձևով [1]: Կարոտինոիդների կոնցենտրացիան որոշվել է Վետշտեյնի բանաձևով [1]: Քլորելայում պիգմենտների քանակությունը ներկայացված է չոր զանգվածով: Ստացված տվյալները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման: Տարբերակների կրկնողությունը եռակի է:

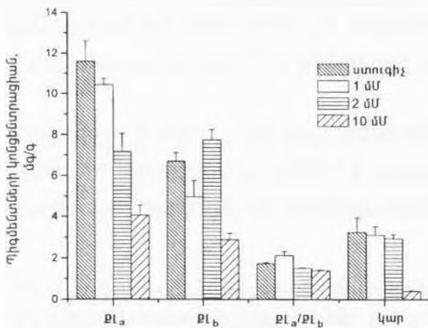
Արդյունքներն ու քննարկումը: Ծանր մետաղների աղերի ազդեցությամբ տիլակոիդային թաղանթների վնասվածության աստիճանի գնահատման համար որոշվել է քլորոֆիլ *a*-ի և *b*-ի պարունակությունը, դրանց հարաբերությունը, ինչպես նաև կարոտինոիդների պարունակությունը:

Քլորելայի ֆոտոսինթետիկ ապարատի պիզմենտային հետազոտությունը ցույց է տալիս, որ սննդամիջավայրում կապարի աղերի ցածր կոնցենտրացիայի (1 մՄ) դեպքում քլորոֆիլ *b*-ն իջնում է 26%-ով, իսկ քլորոֆիլ *a*-ն՝ 10%-ով (նկար 1): Այսինքն քլորոֆիլ *b*-ն առավել զգայուն է կապարի հանդեպ, քան քլորոֆիլ *a*-ն: Դա պայմանավորված է քլորոֆիլ սինթեզող ֆերմենտի ճնշմամբ [4]: Կապարի աղերի կոնցենտրացիայի մեծացման հետ (2-10 մՄ) նկատվում է հակառակ օրինաչափություն: Քլորոֆիլ *a*-ի պարունակությունը ավելի շատ է իջնում, քան քլորոֆիլ *b*-ի՝ 65%-ով քլորոֆիլ *a*-ն և 50%-ով քլորոֆիլ *b*-ն:

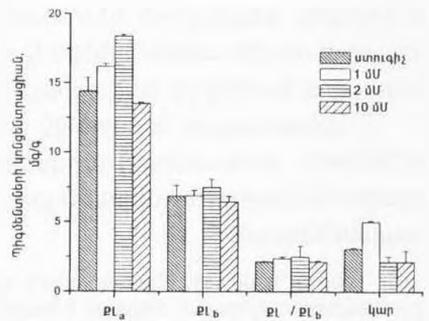
Ինչ վերաբերում է կարոտինոիդների պարունակությանը, ապա այն կապարի աղերի ցածր կոնցենտրացիայի դեպքում գրեթե անփոփոխ է, իսկ մեծ կոնցենտրացիայի դեպքում (2-10 մՄ) շատ ավելի զգայուն է, քան քլորոֆիլ *a*-ն և *b*-ն:

Քլորելայի սննդամիջավայրում ցինկի աղերի առկայության դեպքում նկատվում է բոլորովին այլ օրինաչափություն (նկար 2): Ցածր կոնցենտրացիայի դեպքում (1-2 մՄ) նկատվում է քլորոֆիլ *a*-ի և *b*-ի քանակության որոշակի աճ [6, 7]: Ցինկի աղերի հետագա մեծացումը (10 մՄ) առաջացնում է քլորոֆիլի քանակի նվազում, ընդ որում քլորոֆիլ *a*-ն ավելի զգայուն է, քան քլորոֆիլ *b*-ն: Կարոտինոիդների քանակը ստուգիչի համեմատությամբ նվազում է 30,7%-ով:

Հետազոտությունները վկայում են, որ ծանր մետաղների աղերը տարբեր կերպ են ազդում քլորելայի պիզմենտների քանակության վրա: Կապարի աղերի ազդեցությամբ առավելապես վնասվում է լույս հավաքող համալիրը [4], իսկ ցինկի աղերի ազդեցությամբ ռեակցիոն կենտրոնները:



Նկ. 1. Կապարի աղերի ազդեցությունը քլորելայի պիզմենտների կոնցենտրացիայի վրա:



Նկ. 2. Ցինկի աղերի ազդեցությունը քլորելայի պիզմենտների կոնցենտրացիայի վրա:

Այսպիսով, ծանր մետաղների աղերն իջեցնում են պիզմենտների ընդհանուր քանակությունը: Պիզմենտային համակարգում այսպիսի փոփոխությունները արտացոլում են քլորելայի ֆոտոսինթետիկ ակտիվության ճնշումը [5]:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Гавриленко В.Ф., Ладыгин М.Е.* Большой практикум по физиологии растений. М.: "Высшая школа", 392 с., 1975.
2. *Караваяев В.А., Баулин Л.М.* Физиология растений, 48, 1, 47-54, 2001.
3. *Кашин В.К., Иванов В.Б.* Экология, 4, 316-318, 1998.
4. *Серегин И.В. и др.* Физиология растений, 48, 4, 606-630, 2001.
5. *Тадевосян А.Г., Джавриян Дж.М.* Материалы 8-й Межд. Пушинской конф. молодых ученых: "Биология - наука XXI века", Пушкино, с. 236, 2004.
6. *Таланова В.В., Титов А.Ф.* Физиология и биохимия культурных растений, 33, 1, 33-37, 2001.
7. *Фомин В.В., Шавнин Ф.А.* Физиология растений, 48, 5, 760-765, 2001.
8. *Шибяева Н.А., Глайдинен Г.Ф.* Материалы 6-й Пушинской молодежной конф., Пушкино, с. 191, 2002.
9. *Todd W.* Plant Physiology, v.123, pp.345-352, 2000.

Поступила 24.XII.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 634,0,845, 51:543,063

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ИНСЕКТИЦИДА МАТЧА

В.С. МИРЗОЯН, Л.А. АДЖЕМЯН, А.С. СТЕПАНЯН

Научный центр земледелия и защиты растений МСХ РА, 378310, Эчмиадзин

An easy, fast and reliable thin chromatographic method for residue analytical determination of Match in water, apple and grape samples is developed. The sensitiveness of the method is 0,005 mg/l in water samples, 0,05 mg/kg - in apple, 0,1 mg/kg in grape. The recovery is 80,0-88,3 %.

Тонкослойная хроматография - пестициды - чувствительность метода - воспроизводимость метода

Одной из важных проблем современности является обеспечение населения полноценными продуктами питания. В выполнении этой задачи значительную роль играет химизация сельского хозяйства, включая применение химических средств защиты растений (ХСЗР).

Однако ХСЗР являются биологически активными веществами, их применение наряду с большой экономической отдачей может принести огромный вред как человеку, так и окружающей среде. Поэтому анализ остаточных количеств пестицидов в объектах окружающей среды и продуктах питания продолжает оставаться одним из важнейших профилактических мероприятий по обеспечению безопасности здоровья населения.

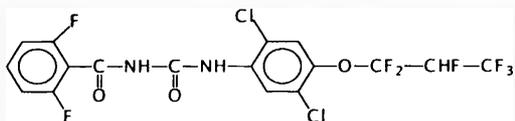
При изучении накопления пестицидов в различных объектах окружающей среды на первый план выдвигается задача определения их остаточных количеств чувствительными и доступными методами. С другой стороны, для контроля пестицидов в настоящее время применяется газожидкостная хроматография (ГЖ) и жидкостная хроматография при высоком давлении (НЖЛХ) [2]. Однако эти методы требуют дорогостоящего оборудования и квалифицированных химиков-аналитиков.

Задача представленной работы разработать легкодоступный метод для оценки остаточных количеств матча в воде, в плодах яблони и винограда.

Материал и методика. Матч - инсектицид, ингибитор синтеза хитина насекомых. Выпускается швейцарской фирмой "Сиби-Гейги". В Армении используется против вредителей плодовых культур, винограда, картофеля.

Действующее вещество матча, N-[2,5дихлор-4-(1,1,2,3,3,3-гексафторпропокси) фениламинокарбонил]-2,6-дифторбензамид, белое кристаллическое вещество, слабо растворимое в воде (0,1 мг/л) и в большинстве органических растворителей. Точка плавления - 174.1°. Давление пара при 20° - 1,3·10⁻⁷ Па. Молекулярная масса - 511 г/моль.

Химическая структура:



Разработанный нами метод определения матча основан на извлечении пестицида из исследуемого объекта соответствующим растворителем, очистке экстракта и хроматографировании на пластинках чешского производства "Silufol UV-254".

Экстракция препарата из анализируемой пробы.

Вода. 200 мл воды помещают в делительную воронку, прибавляют химически чистый хлористый натрий до образования насыщенного раствора и экстрагируют петролейным эфиром или гексаном трижды, по 15 мин. Экстракты сливают, фильтруют через воронку с безводным сульфатом натрия в колбу для отгонки растворителя и отгоняют хлороформ до объема 0.2-0.5 мл, после чего наносят на хроматографическую пластинку.

Яблоки, виноград. В зависимости от предполагаемого количества препарата мезгу (20-50 г) помещают в колбу с притертой пробкой, заливают хлороформом до покрытия пробы. Смесь перемешивают на аппарате для встряхивания в течение 1 ч, затем фильтруют. Пробу трижды промывают хлороформом. Объединенный экстракт выпаривают досуха.

Очистка экстракта. Очистку от воска и других коэкстрактивных веществ проводят одним из предложенных способов:

1). Сухой остаток растворяют в 3-5 мл ацетонитрила, прибавляют 50 мл дистиллированной воды и 2 г поваренной соли. Смесь вымораживают в течение 3 ч, раствор фильтруют, из фильтрата инсектицид дважды экстрагируют петролейным эфиром или гексаном (по 30 мл). Очищенную таким образом пробу упаривают досуха и наносят на хроматографическую пластинку, 2-3 раза обмывая колбочку гексаном.

2). Остаток растворяют в 1 мл ацетона. Ацетоновый экстракт анализируемой пробы охлаждают в холодильнике (в течение 1-2 ч) или в охлаждающей смеси, фильтруют через складчатый фильтр "синяя лента". Процедуру повторяют несколько раз до полного освобождения восковых веществ. Объединенные ацетоновые экстракты пропускают через безводный сернокислый натрий, выпаривают на ротационном испарителе и наносят на хроматографическую пластинку.

Хроматографирование. Подготовленные и упаренные экстракты проб количественно переносят на хроматографическую пластинку чешского производства "Silufol UV-254", рядом наносят стандартные растворы с различным содержанием матча (5, 10, 20 мкг). После этого пластинку помещают в камеру для хроматографирования, предварительно наполненную растворителем (растворитель должен быть свежеприготовленным). В качестве подвижной фазы для матча используются системы: гептан-ацетон, 2:1 (R_f препарата равен 0,63) или гексан-этилацетат-уксусная кислота, 66:35:1 (R_f равен 0,60).

После поднятия линии фронта на 10 см пластинку вынимают из камеры, отмечают линию фронта и оставляют на несколько минут на воздухе. Затем пластинку помещают в сушильный шкаф, где температура достигает 150-160° и выдерживают 40 мин. После охлаждения пластинку обрабатывают проявителями А [46 мл воды + 4 мл HCl (уд. вес 1,18) + 1 г NaNO₂] и сразу же Б (2,8 г КОН + 50 мл воды + 0,01 г 1-нафтола). Матч проявляется в виде ярко-розовых пятен.

Количественное определение производят путем визуального сравнения окраски и размера пятен пробы и стандартных растворов.

Расчет анализов проводят по формуле:

$$X = A/B,$$

где X - содержание препарата в пробе, мг/кг или мг/л; А - количество препарата, найденное путем визуального сравнения со стандартным раствором, мкг; В - навеска или объем анализируемой пробы, г или мл.

Статистическую обработку полученных данных проводили по Рокицкому [1].

Метрологическая характеристика метода [1] определения матча в воде, яблоке и винограде представлена в табл. 1.

Таблица 1. Метрологическая характеристика метода

| Объект исследования | Предел обнаружения, мг/кг или мг/л | Среднее значение определения, % (n=6) | Стандартное отклонение | Коэффициент вариации, % | Доверительный интервал при P=0,05 |
|---------------------|------------------------------------|---------------------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------------------|
| Вода | 0,005 | 80,2 | 2,9 | 3,6 | 3,0 |
| Виноград | 0,15 | 88,3 | 9,8 | 11,1 | 10,3 |
| Яблоки | 0,10 | 80,8 | 6,7 | 8,3 | 7,0 |

Результаты исследований показывают, что метод обладает высокой чувствительностью и воспроизводимостью, что дает возможность применения его при определении микроколичеств матча в воде, яблоке и винограде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск, Изд. "Вышэйш.школа", 326, 1967.
2. Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, 2nd edition. New York, Academic Press, I-XVII, 619, 1964.

Поступила 28.III.2005

Биол. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 632.95.028

ТОНКОСЛОЙНО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ИНСЕКТИЦИДА АКТАРЫ

К. В. АВЕТИСЯН

Научный центр земледелия и защиты растений, Эчмиадзин, 378310

A microquantitative analytical method for insecticide Actara has been developed. The method is based on the extraction of the insecticide from the biological sample with acetone (50 % aq. solution of acetone is used in a case of potato), cleaning up of the extract and chromatography on "Silulof" layers. 3 types of developers have been recommended. The coefficient of distribution of Actara is 0,43.

*Актара - томат - картофель - яблоня - ацетон - тонкослойная
хроматография*

Обработка сельскохозяйственных культур пестицидами может приводить к их накоплению в растениях, поэтому наличие остатков препаратов в плодах является критерием, характеризующим качество продукции. Данные токсикологических исследований необходимы для уточнения доз и сроков обработки препаратов против основных вредителей растений.

Задачей наших исследований являлась разработка метода определения остаточных количеств инсектицида актары.

Материал и методика. Актара-25% (Сингента) - инсектицид широкого спектра действия для борьбы с сосущими и грызущими вредителями картофеля, винограда, плодовых, овощных и других культур. Действующее вещество актары - тиаметоксам. Эмпирическая формула $C_8H_{10}ClN_2O_3S$.

Актара - 3-(2-хлор-тиазол-5-илметил)-5-метил- [1, 3, 5] оксидиазинон-4-илиден-N-нитроамин с молекулярным массой 291,7 относится к малотоксичным препаратам и представляет собой мелкокристаллический порошок кремового цвета без запаха.

Разработан метод определения микроколичеств актары в томатах, картофеле и яблоках.

Метод основан на извлечении актары из растительного объекта ацетоном (в случае с картофелем используется 50%-ный ацетон), очистке экстракта и хроматографировании на пластинках «Силуфол».

Для анализа 25-30 г измельченной средней пробы помещали в колбу, заливали ацетоном до покрытия пробы и встряхивали на аппарате 1 ч. Затем экстракт фильтровали через вату, в случае с томатом экстракт фильтровали через фильтровальную бумагу для освобождения от оксалатов. Экстракцию повторяли еще дважды, каждый раз продолжительностью 30-40 мин.

В варианте с яблоками экстракт 2 ч держали в морозильнике с целью освобождения от воска, затем фильтровали через бумажный фильтр.

Сильноокрашенные растворы (из яблок и картофеля) обесцвечивали путем добавления 5-10 г активированного угля, а окрашенный экстракт из томатов очищали с помощью окиси алюминия, который добавляли в количестве 5 г и 20 мин держали в водяной бане при 35-40°. Затем экстракты фильтровали через фильтровальную бумагу,

проводя через 50-70 г безводного сернокислого натрия

Полученные экстракты помещали в делительную воронку, добавляя хлороформ и 5 г хлорида натрия в таблетках. С смесь встряхивали, в результате чего актара переходила в хлороформ. Отделяли хлороформный слой, проводя его через безводный сульфат натрия и выпаривали на ротационном испарителе. Остаток, смывая ацетоном (0.1-0.3 мл), переносили на хроматографическую пластинку. На пластинку «Силуфол» наносили также стандарт актара в количестве 5 или 10 мкг. Пластинку помещали в хроматографическую камеру с подвижной фазой ацетон-гексан в равных соотношениях. Когда раствор поднимался на 10 см, пластинку вынимали из камеры, высушивали и проявляли одним из рекомендуемых проявителей

1) 4%-ным ацетоновым раствором бензидина,

2) аммиаком серебра (в 5 мл дистиллированной воды растворяли 0.5 г нитрата серебра, прибавляли 5-7 мл аммиака и доводили ацетоном до 100 мл. После опрыскивания и высушивания пластинку облучали УФ-светом)

3) смесью 2%-ного водного раствора нитрата серебра и 0.4%-ного ацетонового раствора воднорастворимого бромфенолового синего. Для осветления фона после проявки третьим проявителем пластинку опрыскивали также 2%-ным водным раствором лимонной кислоты или 5-10%-ной уксусной кислотой.

Коэффициент распределения актара (RF) на пластинке «Силуфол» составляет 0.43.

Расчет содержания препарата определяется по формуле, предложенной Клисенко и др. [1].

Результаты и обсуждение. Определена метрологическая характеристика метода определения остаточных количеств актара:

- Размах варьирования в яблоках, картофеле и томатах составляет 5%;

- Среднее значение в яблоках - 78.3%, картофеле - 91.6%, томатах - 92.5%;

- Стандартное отклонение в яблоках - 2.28, в картофеле - 2.08, в томатах - 2.73;

- Относительное стандартное отклонение в яблоках - 2.91, в картофеле - 2.48, в томатах - 2.95,

- Предел обнаружения в яблоках, картофеле и томатах - 0.04 мг/кг;

- Диапазон определяемых концентраций - 1.20 γ.

Таким образом, разработана доступная методика определения остаточных количеств инсектицида актара, основанная на тонкослойной хроматографии. Метод позволяет уточнить дозы обработки и «сроки ожидания», гарантирующие качественную полноценность и безвредность получаемых продуктов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клисенко М.А., Лебедева Т.А., Юркова З.Ф. Химический анализ микроколичеств ядохимикатов. М., Медицина, 1972.

Поступила 08.X.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 664.83:664.854

«ՀԱՍ» ՍՊԸ-Ի ԲՆԱԿԱՆ ՉՈՐԱՆՈՑՆԵՐԻ ՏԵԽՆԻԿԱԿԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ ՃՇԳՐՏՈՒՄ

Ա.Չ. ՄԵՐՈՒԲՅԱՆ*, Ժ.Գ. ԱՂԱԶԱՆՅԱՆ**

* «ՀԱՍ» ՍՊԸ, 375012, Երևան

** Հայաստանի Գյուղատնտեսական Ակադեմիա, 375009, Երևան

It is shown, that the natural ceramic roof dryer of "HAM" Ltd., as well as the roof of the processing edifice can be used for the drying of the herbal raw materials. This is an established fact, that there are no difficulties arise on regulation of drying processes, because of a natural intensive convection in case of natural ceramic roof drying process is being performed with the regulation of a convective air-blast.

*Կղմինդրածածկ - արևային ճառագայթներ - ջերմաստիճան - հարաբերական
խոնավություն - չորացման գոտի*

Բուսական թյերի և համեմունքների «Համ» ՍՊԸ-ի վերամշակման արտադրամասը իրենից ներկայացնում է 20մ երկարություն և 6մ լայնություն ունեցող տարածք, որում տեղաբաշխված են տեխնոլոգիական շինությունը և ծածկով արևային բնական չորացման տեղամասը: Տեխնոլոգիական շինությունը իր մեջ ընդգրկում է ավտոմատ կառավարման համակարգով աշխատանքը վերահսկվող արհեստական (կոնվեկտիվ) չորացման խուց, հումքի նախնական վերամշակման բաժանմունք և պատրաստի արտադրանքի մշակման բաժանմունք:

Արտադրամասում չորացման եղանակների հետազոտությունները տարվել են երեք տարբերակով. միայն բնական եղանակով, արևի էներգիայի և բնական կոնվեկցիայի կիրառմամբ, արհեստական չորացման խցում, էլեկտրական էներգիայով ստացված ջերմության և հարկադրական կոնվեկցիայի և եղանակների համակցված կիրառմամբ [1]:

Վերջին տարբերակը իրականացվում է հումքի նախնական չորացումը (թառամեցում) բնական, իսկ վերջնական չորացումը արհեստական եղանակներով:

Արևային (բնական) չորացման տեղամասը իրենից ներկայացնում է կղմինդրածածկ տարածք, որի ծածկը հորիզոնի նկատմամբ ունի դեպի հարավ ուղղված 45° թեքություն: Այն ապահովում է արևի ճառագայթների առավել ուղղահայաց տանիքին ընկնելուն և բացառում արևի ճառագայթների ամմիջական ազդեցությունը չորացվող բուսական հումքի վրա, ապահովելով բավարար ակտիվ բնական կոնվեկցիա [4]:

Տեխնիկական նման լուծումը թելադրված է այն հանգամանքով, որ արևի

ճառագայթների անմիջական ազդեցության դեպքում տեղի է ունենում հումքի արժեքավոր բաղադրիչների (վիտամիններ, բույրանյութեր) կորուստ, ներկանյութերի քայքայում, որոնք բերում են պատրաստի մթերքի որակական ցուցանիշների անկում [6]:

Արտադրամասում բնական չորացում է իրականացվում նաև տեխնոլոգիական շինության երկնիստ կղմինդրածածկ տանիքում, որտեղ բնական կոնվեկցիայի ապահովման համար թողնված են խոռոչներ (կարգավորող բացվածքներով դռնակներ) [5]:

Աշխատանքի նպատակն է պարզել «ՀԱՍ» ՍՊԸ-ի բնական ջերմոցների տեխնիկական ցուցանիշների ճշգրտումը բուսական հումքի առավել արդյունավետ չորացման նպատակով:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտվել են կղմինդրածածկ բաց բնական կոնվեկցիայով չորանոցը և շինության կղմինդրածածկ տանիքը: Այդ տարածքներում բուսական հումքը (դառձ, սրոհունդ) չորացվել են փնջերով, որոնք գլխավայր կախվել են բազմաառարկ լարային կախիչներից: Կղմինդրածածկ չորանոցում վերահսկվել է ջերմաստիճանը և հարաբերական խոնավությունը դատարկ և բեռնավորված վիճակներով: Նման ուսումնասիրություն կատարվել է նաև բեռնավորված տանիքում [2]:

Տանիքի խոռոչները օրվա տարբեր ժամերին բացվել կամ փակվել են կախված օդի ջերմաստիճանի և հարաբերական խոնավության տատանումներից: Ընդ որում, խոռոչների դռնակները բացվել են, երբ տանիքում օդի և հարաբերական խոնավության ցուցանիշները գերազանցել են սահմանային թուլատրելի արժեքները $t = 45^\circ$, $\varphi = 60-65\%$ և փակվել, երբ այդ ցուցանիշների արժեքները ցածր են եղել [3]:

Արդյունքներ և քննարկում: Ուսումնասիրությունները կղմինդրածածկ չորանոցում ցույց են տալիս, որ ինտեսիվ բնական կոնվեկցիայի շնորհիվ դատարկ և բեռնավորված վիճակներում ջերմաստիճանային և հարաբերական խոնավության եական տատանումներ չեն գրանցվել: Շինության տանիքային չորանոցում չորացման օպտիմալ պայմաններ հնարավոր է եղել ստեղծել խոռոչները պարբերաբար բացելով և փակելով:

Կատարված հետազոտություններից պարզվեց, որ ներկայացված բնական չորացման գոտիներում գործընթացների ճիշտ կառավարման շնորհիվ հուլիս ամսի ցերեկային ժամերին օդի ջերմաստիճանը չի գերազանցել $45-48^\circ$, իսկ հարաբերական խոնավությունը տատանվել $55-60\%$ -ի սահմաններում:

Գիշերային ժամերին այդ ցուցանիշների տատանման սահմանները կազմել են $t = 15-25^\circ$ և $\varphi = 45-65\%$:

Ստացված արդյունքներից ակնհայտ է, որ նշված պարամետրերը լիովին բավարարում են թեյահամեմունքային հումքի չորացման գործընթաց իրականացնելու համար:

Այսպիսով, կղմինդրածածկ չորանոցում ստեղծվում է բնական ինտեսիվ կոնվեկցիա և հարաբերական խոնավության կարգավորման խնդիրներ



Նկ. 1. բույսերի չորացման պրոցեսը կղմինդրածածկ չորանոցում:

չեն առաջանում:

Շինության տանիքում հնարավոր է իրականացնել չորացման գործընթացներ, օդի կոնվեկտիվ հոսանքների պարբերական կարգավորման ճանապարհով:

Չորացրած հումքի փորձնական քանակների որակական գնահատումը օգնեց տեղակայանքների աշխատանքային օպտիմալ ռեժիմների ընտրության ճշգրտման խնդրում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Бурч О., Берки Ф.* Сушка плодов и овощей. М., Пищ. Пром., 278 стр., 1978.
2. *Барнина И.* Чай. Изд-во Жигульского, М., 127 стр., 2002.
3. *Дакуорт Р.Б.* Вода в пищевых продуктах, перевод с английского. М., Пищ. Пром., 375 стр., 1980.
4. *Роллов А.Х.* Дикорастущие растения Кавказа. Тифлис, 57 стр., 1908.
5. *Шретер А.И.* Правила сбора и сушки лекарственных растений под редакцией. М. “Медицина”, 327 стр., 1985.
6. *Lee k.G., Shilbamoto* Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and species. J. of Agriculture Food Chemistry, 50 (17), 2002.

Поступила 11.IV.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 577.23

К ИСТОРИИ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ В АРМЕНИИ

Ю.Т. АЛЕКСАНЯН

*НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии им.
А.Б.Алексяна МЗ РА*

Датой основания молекулярной биологии принято считать 1953г., когда Д.Уотсон и Ф.Крик предложили модель двуспиральной структуры ДНК. Интересно отметить, что другая основополагающая работа в области молекулярной биологии, тоже относящаяся к 1953г. и также удостоенная Нобелевской премии - открытие Ф.Сэнгером первичной структуры молекулы белка инсулина [17]. Примерно десятилетие спустя в Ереванском государственном университете (ЕрГУ) и некоторых научных учреждениях Армении стали проводиться первые исследования по молекулярной биологии [1, 24]. Биофизический аспект в данных исследованиях был доминирующим, однако в эти работы включились и другие специалисты в области генетики, биохимии и микробиологии, хорошо подготовленные в ведущих научных учреждениях бывшего Союза. Вопросы молекулярной биологии изучались в основанной в 1962г. лаборатории (зав. С.С.Оганесян) биофизики и биохимии миокарда (переименованной впоследствии в лабораторию молекулярной кардиологии) Института кардиологии им. Л.А.Оганесяна МЗ Армянской ССР, на основанных в 1963г. кафедре биофизики (зав. Г.А.Паносян) биологического факультета и в 1967 г. кафедре молекулярной биофизики (зав. В.М.Асланян) физического факультета ЕрГУ [1, 24].

В лаборатории молекулярной кардиологии (зав. С.С.Оганесян) Института кардиологии им. Л.А.Оганесяна МЗ Армянской ССР было обнаружено аллостерическое регулирование сократительных белков, в основе которого лежит кооперирование более чем двух частиц миозина. Важную роль в этом процессе играют ионы Са, способные вызывать конформационные изменения миозина и служить лигандами в процессе тримеризации частиц белка. Это позволило по-новому объяснить молекулярный механизм мышечного сокращения. Выдвинуто новое представление, согласно которому генетические популяции белковых макромолекул мышечных клеток при перегрузке сердца в результате дерепрессии соответствующих генов заменяются эмбриональными изоформами белков миофибрилл, характеризующихся ослаблением силы и повышением скорости их сокращения, что приводит к ухудшению биомеханической функции мышечных

клеток сердца. Полученные данные имеют важное значение для понимания природы сокращения сердечной мышцы в норме и при различных патологиях [20, 27]. С.С.Оганесян был избран по специальности «молекулярная биология» в 1990г. членом-корреспондентом, а в 1996 г. - академиком НАН РА.

В 1972 г. в Институте биохимии АН Армянской ССР была организована лаборатория физической химии белков (зав. Р.М.Налбандян), в которой проведены исследования по выяснению структуры активных центров ряда металлосодержащих белков [1, 24].

Значительный интерес представляют проведенные в течение ряда лет в отделе биохимии нейрого르몬ов (зав. - член-корреспондент, а с 1986 г. - академик АН Армянской ССР А.А.Галоян) Института биохимии АН Армянской ССР работы по изучению химической природы, биологических свойств, механизма образования и действия гормонов гипоталамо - нейрогипофизарной системы [10].

В 1965г. для развития исследований по молекулярной биологии в республике и координации этих исследований в системе Академии наук Армянской ССР был организован Институт экспериментальной биологии (ИЭБ). Первым директором института (до августа 1972г.) был доцент С.А.Чшмаритян. Его активная организаторская деятельность во многом обусловила успешное становление и развитие ИЭБ в трудный период его создания. Вскоре лучшие научные и научно-педагогические кадры, подготовленные к тому времени в Армении и за ее пределами (целевая аспирантура, длительные научные командировки в ведущие научные центры Советского Союза) для разработки вопросов молекулярно-клеточной биологии, влились в состав этого научно-исследовательского учреждения. Направленное привлечение научных кадров и целевая подготовка новых специалистов в перспективных направлениях генетики, биофизики и биохимии определили дальнейшую деятельность ИЭБ как главной базовой организации для развития молекулярной биологии в Армении. К данному периоду относится и организация Совета по биофизике и молекулярной биологии, под эгидой которого ряд научных подразделений (кафедра молекулярной биофизики физического факультета ЕрГУ, кафедра биофизики биологического факультета ЕрГУ, лаборатория молекулярной генетики при кафедре генетики и цитологии ЕрГУ, лаборатории ИЭБ и др.) успешно работали в области разработки молекулярно-биологических проблем.

Работы в области молекулярной генетики в ИЭБ были начаты в лаборатории молекулярной генетики (зав. М.Г.Оганесян) в 1966г. Была изучена роль мутаций генов транспортных РНК в функционировании белок - синтезирующей системы бактериальной клетки. Установлено, что ультрафиолетовые лучи и ряд химических мутагенов могут индуцировать мутации генов т-РНК. Изменения в структуре т-РНК могут существенно повлиять на многие свойства бактериальной клетки, в том числе и на радиочувствительность. Показано, что вследствие рибосомных мутаций *E.coli* претерпевает целый ряд изменений (плейотропный эффект). Мутации, обуславливающие стрептомицинрезистентность, приводят к характерным изменениям структуры рибосом, которые находят отражение в процессе проявления их функции. Такая измененная рибосома при трансляции допускает ошибки в результате изменения специфичности кодон - антикодонного взаимодействия [1, 12, 13].

Изучение механизмов взаимоотношений вируса и клетки-хозяина является

одной из важных проблем молекулярной биологии. В лаборатории микробиологии (зав. Б.П.Карабеков) ИЭБ проводилась широкомасштабная работа, направленная на выяснение различных вопросов взаимоотношений бактериофагов и бактериальных клеток (получение фагорезистентных мутантов бактериальных клеток, особенности фагорезистентности и молекулярно-генетические аспекты этого процесса, биологические свойства фагов, феномен ограничения и модификации бактериофагов, вызванных клеткой бактериального хозяина, и т. д.) [12, 13].

В 1970г. на базе лабораторий молекулярной генетики и микробиологии ИЭБ был организован филиал Всесоюзного научно-исследовательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов Главмикробиопрома СССР. В ряде вновь организованных лабораторий филиала были продолжены работы, начатые в ИЭБ. Ввиду специфики нового научного учреждения молекулярно-генетические исследования приобрели выраженную прикладную направленность, в основном в области селекции продуцентов лизина и других аминокислот [1].

Сотрудниками ИЭБ выполнены работы и по изучению ряда актуальных вопросов взаимодействия вирусов и культивируемых клеток [12, 13].

В лаборатории биофизики (зав. В.М.Асланян) ИЭБ и на кафедре молекулярной биофизики (зав. В.М.Асланян) ЕрГУ проводились работы по исследованию физических принципов организации макромолекул синтетических и биологических полимеров, выяснению природы сил, стабилизирующих структуру ДНК. Было обнаружено явление значительной дестабилизации молекул ДНК в концентрированных солевых растворах и изучен его механизм, получено экспериментальное доказательство решающей роли гидрофобных взаимодействий в стабилизации нативной структуры нуклеиновых кислот, развита теория влияния молекулярных взаимодействий на оптическую активность, теоретически и экспериментально установлены различия в способности нуклеотидов к стопкообразованию [12, 24].

На базе лаборатории внутриклеточной регуляции (зав. Г.А.Паносян) ИЭБ и кафедры биофизики (зав. Г.А.Паносян) ЕрГУ были проведены оригинальные исследования по выяснению роли гистонов в структурировании и функционировании хроматина нормальных и патологически измененных (опухолевых) клеток. Значительный интерес представляют также работы по изучению влияния различных биологически активных соединений (в том числе гормонов животных и растительных организмов) на структуру и функцию хроматина [1, 21-25].

В 1969г. ИЭБ посетил и ознакомился с проводимыми научными разработками по молекулярной биологии директор Института молекулярной биологии АН СССР академик В.А.Энгельгардт. В 1970г. с научно-исследовательскими работами института ознакомился также посетивший его академик Н.П.Дубинин. Оба крупнейших ученых одобрили направление научных исследований, положительно отозвались о результатах деятельности института и высказали ряд ценных замечаний по новым перспективным направлениям исследований.

Основные результаты начального периода разработки в ИЭБ вопросов молекулярной биологии обобщены в сборниках научных работ [12, 13].

В августе 1972г. исполняющим обязанности директора ИЭБ был назначен профессор Л.С.Гамбарян, который одновременно являлся заведующим

лабораторией нейробионики. Глубокое удивление вызывали стиль и методы работы Л.С.Гамбаряна, всей своей деятельностью разрушавшего налаженные и плодотворно развиваемые направления исследований по молекулярной биологии. Например, в октябре 1972г. в Цахкадзоре состоялся международный симпозиум «Молекулярно - генетические основы образования антител». ИЭБ числился в составе организаторов симпозиума, однако Л.С.Гамбарян, став директором института, категорически воспротивился его участию в организации симпозиума. В беседе со мной академик В.А.Энгельгардт, курировавший проведение симпозиума, сказал, что готовится важное постановление Правительства по развитию молекулярной биологии. В это же время в ИЭБ явно наметилась и начала реализовываться тенденция к реорганизации и перепрофилированию института с целью его превращения в научное учреждение нейробиологического профиля (фактически во второй институт нейрофизиологического направления в системе АН Армении). Вопреки решению Президиума АН Армянской ССР от 31 января 1973г., определившего молекулярную биологию в качестве первого из двух направлений исследований ИЭБ, Л.С.Гамбарян, предварительно изменив состав Ученого совета института (с явным доминированием в его новом составе сотрудников лаборатории нейробионики), в феврале - марте 1973г. провел путем конкурса реорганизацию института, в результате которой десятки сотрудников были сокращены. Автор этих строк случайно остался в институте, будучи избранным на должность старшего научного сотрудника (Л.С.Гамбаряном заранее было решено, что заведующим реорганизованной лаборатории природы и биосинтеза антител с группой биосинтеза интерферона избирается один из сотрудников института - специалист по клинической медицине) с перевесом лишь в 1 голос, хотя до этого в течение 5 лет был избранным по конкурсу заведующим лабораторией иммунологии (переименованной в лабораторию молекулярной иммунологии решением Президиума АН Армении от 28 июля 1971г.). Как по своему научному профилю, так и по личным качествам Л.С.Гамбарян не подходил на должность руководителя ИЭБ и его деятельность нанесла большой урон развитию молекулярной биологии в Армении.

Решением Президиума АН Армянской ССР от 27 февраля 1974г. Л.С.Гамбарян был освобожден от исполнения обязанностей директора ИЭБ. Новым директором ИЭБ был назначен приглашенный из Москвы доктор биологических наук Ж.И.Акопян. Тем же решением Президиум АН Армении обратился с просьбой к Отделению биохимии, биофизики и химии физиологически активных соединений АН СССР оказать необходимое содействие и помощь ИЭБ в деле организации и повышения уровня научно-исследовательских работ по молекулярной биологии. В марте 1974г. академик-секретарь этого отделения академик А.А.Баев направил в ИЭБ комиссию в составе членов-корреспондентов АН СССР Г.П.Георгиева, М.В.Волькенштейна и профессора Я.М.Варшавского. Учитывая рекомендации комиссии, Президиум АН Армянской ССР 30 октября 1974г. принял постановление о направлениях научных исследований и структуре научных подразделений ИЭБ. Одно из направлений исследований в постановлении - «молекулярные основы иммуногенеза». Соответственно в структуре института была представлена лаборатория молекулярных основ иммуногенеза. Решением от 18 марта 1975г. Президиум АН Армянской ССР разрешил ИЭБ провести конкурс на замещение вакантных должностей и автор этих строк

единогласно был избран заведующим лабораторией молекулярных основ иммуногенеза (решением Президиума АН Армянской ССР от 30 мая 1984г. лаборатория молекулярных основ иммуногенеза была переименована в лабораторию молекулярно-клеточной иммунологии).

В 1977г. член-корреспондент АН СССР Г.П.Георгиев проверил научную деятельность ИЭБ. На основании результатов проверки Президиум АН СССР 23 февраля 1978г. принял постановление рекомендовать развивать в ИЭБ 4 направления исследований, в том числе «молекулярные основы иммуногенеза». В 1978г. ИЭБ посетил и с его деятельностью ознакомился вице-президент АН СССР академик Ю.А.Овчинников. Проводимая институтом работа была им одобрена и даны соответствующие советы и рекомендации.

В ноябре 1979г. Ж.И.Акопян был освобожден от обязанностей директора ИЭБ и в январе 1980г. новым директором института был назначен член-корреспондент АН Армянской ССР А.А.Галоян. Решением Президиума АН Армянской ССР от 19 марта 1980г. был одобрен установившийся научный профиль ИЭБ – молекулярно-клеточная биология, а молекулярная биология вновь была утверждена в качестве основного направления научных исследований института.

В мае 1981г. А.А.Галоян был назначен директором Института биохимии АН Армянской ССР, однако некоторое время продолжал работать также в должности директора ИЭБ. Будучи одним из организаторов Четвертого двустороннего симпозиума СССР-ФРГ «Структура и транскрипция генома», проведенного в октябре 1981г. в Ереване, ИЭБ принял активное участие в работе этого представительного научного форума [26]. После завершения симпозиума исполнение обязанностей директора ИЭБ было временно возложено на заместителя директора по научной работе института, доктора биологических наук Б.А.Казаряна.

В августе 1983г. директором ИЭБ был назначен профессор Г.А.Паносян. Решением Президиума АН Армянской ССР от 30 мая 1984г. было признано необходимым продолжать выполнение комплекса научно-исследовательских работ по 4 направлениям исследований, рекомендованным для ИЭБ постановлением Президиума АН СССР от 23 февраля 1978г. В ноябре 1985г. в Ереване под руководством академика Р.В.Петрова состоялся объединенный пленум правления Всесоюзного научного общества иммунологов, Научного совета по иммунологии АМН СССР и проблемной комиссии «Общая и прикладная иммунология». Принимавшие участие в работе пленума профессор Г.И. Абелев (позже избранный членом-корреспондентом АН СССР) и другие ведущие иммунологи страны посетили ИЭБ и ознакомились с научными разработками лаборатории молекулярно-клеточной иммунологии, подчеркнув актуальность проводимых работ. В апреле 1986г. ИЭБ организовал республиканскую конференцию с международным участием «Макромолекулы и функционирование клетки» [18].

В августе 1986г. Г.А.Паносян возвратился на должность заведующего кафедрой биофизики ЕрГУ. В ноябре 1986г. директором ИЭБ стал профессор К.Г.Карагезян, который был избран по специальности «биохимия» в 1986г. членом-корреспондентом, а в 1994г. - академиком НАН РА.

Постановление ЦК КПСС и Совета Министров СССР от 19 апреля 1974г. «О мерах по ускорению развития молекулярной биологии и молекулярной генетики и использованию их достижений в народном хозяйстве» сыграло огромную

роль и для утверждения научного профиля ИЭБ, расширения и углубления научно-исследовательских работ в институте по основным направлениям молекулярной биологии. При АН Армянской ССР был организован Междудеятельственный совет по молекулярной биологии и молекулярной генетике, впоследствии, после принятия в 1981г. Постановления ЦК КПСС и Совета Министров СССР о развитии физико-химической биологии и биотехнологии, преобразованный в Междудеятельственный совет по физико-химической биологии и биотехнологии. Молекулярная биология продолжала занимать ведущее место и в программах работ этого совета.

Общеизвестно, что молекулярная биология - наука о структуре и функциях биологических макромолекул. Молекулярная биология - современный раздел в различных биологических науках и определенный уровень исследований биологических явлений. Однако для интенсивной разработки важнейших областей современной биологии было сочтено целесообразным в союзном координационном плане объединить молекулярно-биологические исследования в отдельную проблему. И проблема 2.23.2 «Молекулярная биология» с ее важнейшими разделами (структура и физико-химические свойства нуклеиновых кислот и белков в связи с их функциями; ферментативный катализ; механизмы биосинтеза нуклеиновых кислот, регуляция активности генетического аппарата; молекулярные основы генетической инженерии; молекулярная организация вирусов и их взаимодействие с клеткой; молекулярно-генетические основы канцерогенеза, онковирусология; молекулярно-биологические основы иммуногенеза) в течение многих лет постоянно была ведущей в планах научно-исследовательских работ ИЭБ.

Со времени основания ИЭБ осуществлял плодотворное сотрудничество с ведущими научными центрами СССР - Институтом молекулярной биологии АН СССР, Институтом цитологии АН СССР, Институтом органической химии СО АН СССР, Всесоюзным онкологическим научным центром АМН СССР, Институтом вирусологии им. Д.И.Ивановского АМН СССР, Институтом эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи АМН СССР и др. Этот аспект научной деятельности института заслуживает высокой оценки.

Результаты проведенных в ИЭБ во второй половине 70-х и первой половине 80-х годов прошлого века научно-исследовательских работ в области молекулярно-клеточной биологии нашли отражение в материалах научных конференций института [14, 15, 18].

В лаборатории молекулярно-клеточной иммунологии (зав. Ю.Т.Алексанян) ИЭБ в течение ряда лет (1968-1985гг.) проведен цикл работ, посвященных комплексному иммунологическому и иммунохимическому анализу длительно культивируемых опухолевых клеток и их гибридов. С использованием модели клеток мышинной гепатомы выяснен антигенный состав длительно (8 лет) культивируемых опухолевых клеток и их внутри- и межвидовых гибридов. Показана возможность использования различных антигенов в качестве маркеров культивируемых опухолевых и гибридных клеток для изучения генетики соматических клеток, экспериментальной онкологии, клеточной дифференцировки и других важнейших вопросов молекулярной биологии клетки. Установлены закономерности синтеза белков-альбумина, трансферрина и альфа-фетопротеина длительно культивируемыми опухолевыми клетками и их гибридами.

С использованием моделей иммунологической толерантности и аллотипической супрессии молекул иммуноглобулинов выяснены некоторые молекулярно-клеточные механизмы иммунного ответа [2-8, 14, 15]. Ю.Т.Алексанян был избран по специальности «молекулярная биология» в 1986г. членом-корреспондентом, а в 1996г. - академиком НАН РА. В феврале 1986г. Ю.Т.Алексанян был назначен директором Научно-исследовательского института эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии им. А.Б.Алексаняна Минздрава Армении, который он возглавляет до настоящего времени.

В лаборатории цитологии и эмбриологии (зав. Ю.А.Магакян) ИЭБ исследовались количественные аспекты кинетики биосинтеза ДНК и ее роль в процессе дифференцировки клеток. Установлено, что в процессе развития различных клеточных популяций происходит дополнительный синтез ДНК, приводящий к значительному увеличению ее количества в клеточном ядре, что создает дополнительный матричный материал для обеспечения увеличения количества специфического продукта. На основании экспериментальных данных впервые описана гиперрепликация ДНК, разработана концепция, согласно которой гиперрепликация ДНК является важным условием клеточной дифференцировки. Эта лаборатория впервые в республике внедрила методы количественной цитофотометрии белков и нуклеиновых кислот [1, 14, 15].

Основным направлением деятельности организованной в 1975г. лаборатории нуклеиновых кислот (зав. Р.А.Захарян) ИЭБ являлось изучение структуры и метаболизма нуклеиновых кислот. В этой лаборатории исследованы некоторые физико-химические свойства плазмидных ДНК *Bacillus thuringiensis*. Из мутантного штамма *B. thuringiensis* были выделены две эндонуклеазы, одна из которых гидролизовала ДНК по ГЦ-основаниям, а вторая - напоминала по своим свойствам топоизомеразу, переводя суперспирализованную форму ДНК последовательно в открытую и линейную формы. В результате совместных работ этой лаборатории с Институтом микробиологии АН Армянской ССР была впервые выявлена возможная внехромосомная детерминация биосинтеза энтомоцидного токсина у этих бактерий. Был изучен также экстрахромосомальный генетический аппарат бактерии *Pseudomonas putida*, деградирующей циклические углеводороды.

У *Salmonella derby* К-89 и ее радиочувствительных мутантов показано наличие R-плазмиды, придающей бактериальным клеткам устойчивость к антибиотикам. Осуществлен конъюгационный перенос R-плазмиды от клеток *S. derby* К-89 к реципиентным клеткам роГ [1, 14, 15].

Лабораторией молекулярной энзимологии (зав. Ж.И.Акопян) ИЭБ совместно с Институтом органической химии СО АН СССР проведены работы по изучению молекулярной биологии ферментов с целью расшифровки топографии активных центров ряда важнейших ферментов метаболизма нуклеиновых кислот. Из мутантного штамма гриба *Aspergillus oryzae* выделена новая S₁-подобная нуклеаза, которая практически не расщепляет H³-ДНК, а также H³-ДНК, входящий в состав гибридной молекулы H³-ДНК-РНК. Совместно с Институтом молекулярной биологии АН СССР и ВОИЦ АМН СССР проведено молекулярное клонирование фрагментов ДНК вируса саркомы Рауса в плазмиде рBR 322, получены субклоны, содержащие ряд генов в непермутированной форме [1, 9, 11, 14-16, 19]. В начале 1980-х годов в лаборатории молекулярной энзимологии

была организована группа и созданы соответствующие условия для проведения исследований по генной инженерии и трансгенезу. Рядом сотрудников этой лаборатории были защищены кандидатские диссертации по молекулярной биологии, а Ж.И.Акопян в 1988г. стал единственным в Армении профессором по специальности «молекулярная биология».

Таким образом, до 1986г. в течение продолжительного (20 лет) периода в ИЭБ, переименованном в 1991г. в Институт молекулярной биологии, был выполнен большой комплекс научно-организационных работ по определению научного профиля и основных направлений научной деятельности института, осуществлена подготовка высококвалифицированных научных кадров, создана необходимая материально-техническая база и проведена разработка ряда актуальных проблем молекулярно-клеточной биологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Акопян Ж.И., Паносян Г.А.* Молекулярная биология. В кн.: Достижения науки в Советской Армении (1920-1980), под общей редакцией академика В.А.Амбарцумяна, Ереван, 195-199, 1984.
2. *Александрян Ю.Т.* Иммунология, там же, 199-203.
3. *Александрян Ю.Т.* Бюлл. exper. биол. и мед., 7, 76-78, 1979
4. *Александрян Ю.Т.* Цитология, 24, 12, 1458-1460, 1982.
5. *Александрян Ю.Т.* Иммунобиология культивируемых опухолевых и гибридных клеток. Ереван, 1985.
6. *Александрян Ю.Т., Басмаджян М.Е., Мовсесян К.С., Манукян Л.А., Геворкян С.К.* Бюлл. exper. биол. и мед., 5, 94-95, 1972.
7. *Александрян Ю.Т., Игнатова Т.Н.* Бюлл. exper. биол. и мед., 8, 77-79, 1982
8. *Александрян Ю.Т., Игнатова Т.Н.* Цитология, 26, 1, 97-101, 1984
9. *Амбарцумян Н.С., Татосян А.Г., Ениколопов П.Н.* Молекулярная биология, 16, 6, 1183-1194, 1982
10. *Априкян Г.В.* Биохимия. В кн.: Достижения науки в Советской Армении (1920-1980), под общей редакцией академика В.А.Амбарцумяна, Ереван, 186-195, 1984.
11. *Безирджян Х.О., Кочарян Ш.М., Акопян Ж.И.* ДАН СССР, 258, 5, 1236-1238, 1981.
12. Вопросы молекулярно-клеточной биологии и иммунологии. Сборник научных работ ИЭБ АН Армянской ССР, Ереван, 1970.
13. Вопросы молекулярно-клеточной биологии. Сборник научных работ ИЭБ АН Армянской ССР, Ереван, 1971.
14. Вопросы молекулярно-клеточной биологии. Сб. матер. науч. конф. ИЭБ АН Армянской ССР, Ереван, 1979.
15. Вопросы молекулярно-клеточной биологии. Сб. матер. науч. конф. ИЭБ АН Армянской ССР, Ереван, 1983,
16. *Кочарян Ш.М., Кочарян А.М., Мелкумян М.А., Безирджян Х.О., Акопян Ж.И.* Генетика, 20, 9, 1463-1471, 1984.
17. *Ленинджер А.* Основы биохимии, 1, 146, М., 1985.
18. Макромолекулы и функционирование клетки. Тез. респуб. конф., Ереван, 1986.
19. *Невинский Г.А., Газарянц М.Г., Мкртчян З.С.* Биоорганическая химия, 9, 4, 487-495, 1983.
20. *Оганесян С.С.* В сб.: Механизмы мышечного сокращения, 50-57, М, 1972.
21. *Паносян Г.А.* Вopr. онкологии, 18, 11, 76-79, 1972.

22. *Паносян Г.А.* Бюлл. exper. биол. и мед., 12, 67-70, 1973.
23. *Паносян Г.А.* Структура и функция гистонов. Ереван, 1978.
24. *Паносян Г.А.* Биофизика. В кн.: Достижения науки в Советской Армении (1920-1980), под общей редакцией академика В.А.Амбарцумяна, 182-186, Ереван, 1984.
25. *Паносян Г.А., Тамразян Е.Е.* Генетика, 9, 5, 36-42, 1973.
26. Структура и транскрипция генома. Тез. докл. и стенд. сообщ. Четвертого двустороннего симпозиума СССР – ФРГ, Ереван, 1981.
27. *Oganessyan S., Zaminian T., Bay N., Petrosian V., Koschkarian A., Martirosian I., Eloyan M.* Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 5, 1, 1-24, 1973.

Поступила 15.XII.2004

Բանալե՛ծ • Дискусси • Discussion

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 577.27:007:008

Посвящается памяти матери

**ИММУННАЯ СИСТЕМА КАК УПРАВЛЯЮЩИЙ ИНТЕРФЕЙС С
ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДОЙ И ПРОБЛЕМА ИСКУССТВЕННОГО
ИНТЕЛЛЕКТА**

И.А. ВАРДАНЯН

НПО "Computers for Saving the Earth", 375019, Аձձձձ

В поиске новых форм информационных технологий в статье осуществляется попытка переноса ключевой способности естественного интеллекта самообучаться, которой обладает иммунная система позвоночных, как система, выдержавшая испытание эволюцией, на человеко-машинные системы, рассматриваемые как организмы. При этом при разработке таких систем важным признается соблюдение принципа единства организма и среды и для человеко-машинных систем, как в интерфейсе "человек-машина", так и в интерфейсе "человек-машина" – окружающая среда. Такой подход, по нашему мнению, не только создает основы для иммунитета человеко-машинных систем, создавая тем самым качественно новые системы искусственного интеллекта, но и создает предпосылки для порождения естественных биологических информационных технологий, а значит и для порождения эволюционного канала развития человечества.

Որպես տեղեկատվական տեխնոլոգիականների նոր ձևերի որոնում, հողվածում փորձ է արվում բնական ինտելեկտի ինքնաուսուցման հանգուցային ունակությունը, որով օժտված է էվոլյուցիան քննությունը բռնած ողնաշարավորների իմունային համակարգը, տեղափոխել իբրև օրգանիզմներ դիտարկվող մարդ-մեքենա համակարգերի վրա: Ընդ որում, այդպիսի համակարգերի մշակման ընթացքում կարևոր է համարվում օրգանիզմի և միջավայրի միասնության սկզբունքը նաև մարդ-մեքենա համակարգերի համար ինչպես «մանրդ-մեքենա» ինտերֆեյսում, այնպես էլ «մարդ-մեքենա» շրջակա միջավայր ինտերֆեյսում: Այդպիսի մոտեցումը մեր կարծիքով ստեղծում է ոչ միայն իմունիտետի հիմքեր մարդ-մեքենա համակարգերի համար, այդ կերպ ստեղծելով արհեստական բանականության որակապես նոր համակարգեր, այլև նախադրյալներ է ստեղծում բնական կենսաբանական տեղեկատվական տեխնոլոգիաների շարունակության համար, նշանակում է, նաև մարդկության զարգացման էվոլյուցիոն ուղու համար:

In searching new forms of information technology this paper is tried to transfer the ability of self-learning of immune system - the key ability of natural intelligence, which has the immune system of vertebrates that overcome the evolution, on the man-machine systems, which are considered as organisms. It is acknowledged the importance by the design of such systems to adhere to the principle of unity of organism and environment in interface «man-machine» as well in interface «man-machine» - environment. Such an approach, we think, creates not only ability of immunity of man-machine system, thus building qualitative new systems of artificial intelligence, but also is producing preconditions for creation a natural biological information technologies, and so for creation a channel of evolution of humanity.

Иммунитет человеко-машинных систем - опережающее обучение - естественные биологические информационные технологии - канал эволюции человечества

1. Введение

Даже поверхностный взгляд на развитие человечества показывает, что вызовы, которые оно испытывает в настоящее время, настолько серьезны, что предъявляют к системе науки и образования особые, можно сказать, чрезвычайные требования. Нет никакого сомнения в том, что будущее существование человечества под вопросом. Человечество находится на перепутье или, выражаясь в терминах синергетики, человечество как самоорганизующаяся система находится на грани бифуркации. Либо ему суждено будет подняться на эволюционно более устойчивый уровень развития, либо оно погибнет. Ранее автору удалось показать, что именно культура управляет качеством и количеством человеческой популяции, а точнее, устойчивое развитие человечества зависит от того, насколько оно в состоянии эффективно, т.е. с минимумом потерь, собирать и использовать знания – ценную информацию с целью управления своим развитием [2, 3].

Однако рост человеческой популяции в настоящее время свидетельствует, что современная культура уже не в состоянии справляться со сложностью возникающих проблем. Прежде всего, это связано с использованием базовых манифестаций современной культуры – существующих человеко-машинных систем и сопутствующих им неэффективных информационных технологий. Становится ясным, что продолжающееся воспроизведение существующих технических систем и их использование может быть губительным для человечества.

Надо признать, что общие тенденции развития техники таковы, что многие операционно-технические, в том числе интеллектуальные функции стали уходить от человека. Наметилась такая тенденция развития техники, когда машина перестает быть средством деятельности в системах человек-машина, а в это средство превращается сам человек. История техники знает периоды, когда человек выступал в роли придатка к машине. Сейчас, уже на другом витке развития техники, вновь возникает опасная ситуация, когда не человек, а машина может оказаться подлинным субъектом деятельности. Соответственно социотехнические или человеко-машинные системы теряют свойства «социо» и «человеко» и становятся чисто техническими системами [6].

Более того, это зафиксировано уже теоретически в положениях так называемой «информатики». Так, например, в учебнике для вузов по информатике [9] под редакцией С.В.Симоновича можно прочесть: “Информатика – это техническая наука, систематизирующая приемы создания, хранения, воспроизведения, обработки и передачи данных средствами вычислительной техники, а также принципы функционирования этих средств и методы управления ими” (стр.34). Откуда с необходимостью следует, что “Для информатики как технической науки понятие информации не может основываться на таких антропоцентрических понятиях как знание” (Там же стр.13). Из процитированного легко понять какую чудовищную опасность представляет техника, которая создается на таких представлениях, по сути игнорирующих человека, а значит и жизнь вообще. Здесь как раз к месту вспомнить мысль выдающегося биолога эволюциониста Н.И.Вавилова, который утверждал, что заблуждения, как и знания, также обладают способностью накапливаться.

Все возрастающий с каждым годом рост чрезвычайных ситуаций, отмечаемых страховыми компаниями, а также ожидаемое тотальное внедрение компьютеров во все области человеческой жизни и деятельности (**ubiquitous computing, pervasive computing, embedded intelligence**), позволяют предполагать, что положение будет усугубляться.

Мы уже достаточно давно указывали на явные недостатки такого подхода к созданию информационных технологий [4]. И недостаток этот коренится в том, что этот подход основан на логико-математической модели обучения. Вот, например, как трактуют обучение авторы главы «Обучение» в книге: Справочник. Искусственный интеллект, кн.2, М.: Радио и связь, 1990, А.А.Мартirosян и Э.М.Погосян. Обучение, полагают они, это “способность к приобретению ранее неизвестных умений и навыков”. Ссылку при этом они делают на это определение, как на якобы принятое в психологии. Чего не может быть, поскольку любой даже слегка знакомый с психологией человек знает, что обучение это процесс, а не способность. Более того, обучение это процесс передачи знаний.

Однако, раскрывая далее это определение для интеллектуальных систем (ИС), они пишут: “Говорят, что ИС обучилась чему-либо, если она стала способной к выполнению некоторых процедур и решению некоторых задач, которые до этого была выполнить неспособна”. И тут же вынуждены оговориться, поскольку столь упрощенное понимание процесса восприятия и запоминания информации, позволяет считать обучением и случай, ”когда в памяти ИС закладывается готовая программа, которой в ней не было”.

Такое упрощенное понимание процесса рецепции информации, а также игнорирование смысла и значения понятия знание, можно объяснить лишь жгучим желанием уйти от обсуждения и не касаться истинных процессов, носящих воистину творческий характер. На что уже давно обратил внимание специалистов по искусственному интеллекту Зинченко [7], который, определяя эту ситуацию, подчеркивал мысль, высказанную, правда, в другой статье, но по тому же поводу: “о неистребимости наивных попыток обыденного сознания “искать не там, где потеряли, а там, где светлее” [8, с.109].

Казалось, что рассмотренный нами ранее вышеприведенный случай [4] и предложенная нами система обучения [5], а также определение понятия знания как ценной информации, определяющей устойчивость самоорганизующихся систем [2], исчерпали тему обсуждения вопроса недостатков, присущих логико-математическому подходу к проблеме обучения. Однако совсем недавно появившаяся статья [11], еще раз подтверждает мысль Н.И.Вавилова о стойкой живучести заблуждений. Из статьи можно понять, что авторы “в упор не видят” и не желают видеть, что пользователь обучающей системы обладает психикой, которая воспринимает информацию совсем не так, как это делает машина.

Как можно понять, возникающее положение с особой серьезностью ставит проблему поиска более эффективных методов построения человеко-машинных систем, в особенности связанных с процессом обучения, передачей знаний. Все это заставляет обратить внимание на информационные технологии, выработанные живыми существами – естественные биологические технологии [12], т.е. такие, которые прошли испытание временем, эволюцией, а значит обладающие большей устойчивостью и в свою очередь вносящие минимум возмущения в окружающую среду, т.е.сопряженные с окружающей средой.

Одной из таких технологий, как мы полагаем, является естественная биологическая технология иммунной системы позвоночных [20]. Наш особый интерес к этой технологии объясняется еще и тем, что, как известно, идея Интернета разрабатывалась министерством обороны США с целью обеспечения устойчивой коммуникации в ситуации поражения коммуникационных систем ядерным ударом. Однако даже программные вирусы, создаваемые и запускаемые в сеть программистами-любителями, часто парализуют интернет на

продолжительное время. Так что ожидающие человечество в будущем сложные и трудно предсказуемые ситуации делают проблему создания технологии иммунитета человеко-машинных систем одной из актуальных, если не актуальнейшей, из всех существующих современных проблем в области информационных технологий.

Наряду со сказанным выше надо отметить, что в настоящее время все еще существует много неясностей относительно роли и функционирования самой иммунной системы. Так, в последнее время все чаще и чаще подвергается критике как устаревшая теория клональной селекции Бернета: Айрун Коэн [16], рассматривая роль аутоиммунитета, пишет: “Прогресс в иммунологии кажется, все больше и больше выявляет незавершенность парадигмы клональной селекции, если не указывает на ее устарелость”. А Поли Матцингер идет еще дальше, объявляя классические взгляды Бернета, которые господствовали в иммунологии на протяжении многих лет, опровергнутыми самим ходом развития иммунологии [19].

В этом смысле нам представляется справедливым заметить, что наша интерпретация иммунной системы как управляющего интерфейса с окружающей средой позволяет иначе объяснить многие явления и процессы, имеющие место в иммунной системе. Это в свою очередь делает возможным рассматривать предлагаемый механизм управляющего интерфейса в качестве базового механизма функционирования иммунной системы.

Между тем, как справедливо утверждает Сильверштейн [21], идеи толерантности и распознавания “Я” – “не-Я” не являются центральными для теории клональной селекции, а точнее, являются идеями вспомогательными или идеями второго уровня этой теории, отказ от которых не угрожает теории клональной селекции, претендующей на описание основного механизма функционирования иммунной системы. Однако следует думать, что теория функционирования иммунной системы должна, прежде всего, выработать четкие представления именно о механизме распознавания “Я” – “не-Я”, поскольку эти представления являются основополагающими в работе иммунной системы.

Как это ни странно для настоящего времени, омраченного атаками террористов всех мастей, проблема “Я” – “не-Я”, т.е. иммунитета технических систем, как проблема взаимоотношения человека и машины и человеко-машинной системы и окружающей среды не рассматривается вовсе. Однако, как мы уже отмечали выше, способность самообучаться на процессах взаимодействия в системе человек-машина и в системе человек-машина и окружающая среда, а также строить стратегии, препятствующие возникновению состояний, когда эти системы теряют свою устойчивость, делают проблему иммунитета человеко-машинных систем одной из актуальных, если не актуальнейшей, в ряду исследований в области информационных технологий.

В этом смысле наше исследование, посвященное роли и механизму иммунной системы, проведенное нами с точки зрения информатики и теории управления, оказывается актуальным не только с технической точки зрения, но уточняет представления, сложившиеся в иммунологии, так как позволяет со всей определенностью утверждать, что ядром теории функционирования иммунной системы, прежде всего, должна быть именно теория, способная объяснить смысл феноменов иммунитета и толерантности, т.е. распознавания типа “Я” – “не-Я”. При этом механизм клональной селекции должен рассматриваться всего лишь как одна из сторон механизма иммунной системы. Но самым важным выводом нашего исследования является то, что механизмом иммунной системы является

механизм управляющего интерфейса с окружающей средой, подчиняющийся сформулированному нами закону управления-обучения, а, следовательно, если быть точнее, и сформулированному нами закону эволюции.

Это означает, что организм строго следит за процессами, происходящими в окружающей среде. Однако при этом не адаптируется к ней, так как для адаптирования достаточно иметь лишь жестко “защитую”, “запаянную” в памяти системы программу [4], а строит свои отношения с внешней средой посредством построения в своей внутренней среде сопряжения с внешней средой – своего управляющего интерфейса – механизма с минимальными потерями, поскольку в этом случае системе необходимо иметь в наличии более гибкий механизм самообучения [4], так как только наличие такого механизма может обеспечить системе эффективность ее поведения в достижении единства с окружающей средой, что, естественно, скорее свидетельствует в пользу справедливости положения об универсальном эволюционизме системы и окружающей среды, принадлежащих единому (одному и тому же) пространственному феномену, нежели к их коэволюции.

Как мы полагаем, сказанное выше позволяет совершенно иначе увидеть решение проблемы создания искусственного интеллекта, а значит и проблемы создания высокоэффективных эволюционирующих самообучающихся систем. А именно создание технологии, сопряженной с естественными биологическими технологиями, т.е. так, как работает все живое на Земле. Этим подходом мы обозначаем направление исследований в области информационных технологий, способных не разрушать окружающую среду, а строить сопряжение с ней, т.е. таких информационных технологий, которые способны строить системы с минимальными потерями, а значит и с Моралью [3].

Здесь следует сказать заранее, что настоящая статья отнюдь не претендует на раскрытие всех сторон функционирования иммунной системы и выдачу исчерпывающих рекомендаций по созданию новых информационных технологий, а скорее имеет целью обратить внимание специалистов на крайнюю необходимость развития именно этой стороны человеко-машинных систем и намечает подходы, которые автору кажутся особенно актуальными на сегодняшний день в области знания о построении человеко-машинных систем и связанных с ними информационных технологий.

2. Иммунная система как система самообучения

Иммунная система позвоночных не локализована в каком-либо одном месте нашего тела, а также не контролируется каким-либо одним центральным органом, таким как мозг. Она состоит из огромного количества отдельных клеток – армии защитников, которые обмениваются друг с другом информацией так, что иммунная система в действительности представляет собой информационную сеть клеток, которые как только получают информацию о вторгнувшихся в тело инородных веществ, бактериях, а также о возникновении переродившихся клеток, спешат к месту инфекции или перерождения, чтобы вступить с ними в борьбу [20]. Такая сеть находится в гомеостатическом равновесии.

Попавший в эту сеть антиген – инородное вещество (возмущающее воздействие) распознается, по крайней мере, в два приема. Сначала метаболизирующие ферменты (например, цитохром P-450) мультиплицируют антиген (порождают разнообразие), т.е. из исходного вещества извлекается множество производных соединений. Таким образом, иммунная система получает

целую гроздь веществ, имеющих общее происхождение. Как отмечается в [10], “это чрезвычайно интересное явление не привлекало к себе внимание” (выделено мною И.А.В.). Оказывается, что в организме одно конкретное вещество буквально размножается в различных вариантах: у антигена появляется как бы семья мутантов, имеющих свои собственные новые свойства. Так ферментативная подсистема иммунной функциональной системы гомеостаза сопрягает попавший в организм инородный антиген с ее иммунной подсистемой.

Между тем, говоря о функциональной системе вообще, необходимо помнить, что “обязательным положением для всех видов и направлений системного подхода являются поиск и формулировка системообразующего фактора: эта ключевая проблема определяет как само понятие системы, так и всю стратегию его применения в исследовательской работе” [1].

В связи с этим, в противоположность мнению, высказанному в [10], что в данном случае системообразующим фактором является исключительно только вещество, поступившее в систему, мы считаем, что таким системообразующим фактором для любой самоорганизующейся системы с одной стороны, прежде всего, является цель самоорганизующейся системы, точнее ее аттрактор, что определяет ее самость, ее индивидуальность, ее самосохранность, наконец, ее “Я”, а с другой стороны возмущающее воздействие на систему, в данном случае в виде чужеродного или переродившегося собственного вещества – антигена, проникшего в систему, нарушившего ее гомеостаз, т.е. ее “не-Я”, для которого ей надо будет найти внутренние ресурсы – управляющие воздействия, чтобы обеспечить самоорганизующейся системе ее устойчивость, сохранность ее самости, ее индивидуальности, другими словами, обеспечить сохранность ее “Я”, поскольку именно это делает ее действенной, живой, жизнеспособной. В этом, на наш взгляд, проявляется диалектика существования всего живого – диалектика “Я” – “не-Я”. “Я” не может существовать без “не-Я”, что и находит свое принципиальное выражение в одном из основных положений теоретической биологии о единстве организма и среды.

В ответ на поступление в систему “не-Я” и генерацию его разнообразия иммунная функциональная система гомеостаза организует иммунный ответ собственного “Я” – генерацию Т и В лимфоцитов с использованием механизма соматической мутации – генной рекомбинации их рецепторов для порождения их разнообразия. Причем так, что при этом не происходит порождения Т и В лимфоцитов с рецепторами, обращенными против собственных тканей, т.е. иммунная система не обращается против самой себя, что имеет место лишь в патологических случаях выхода иммунной системы за зону собственной устойчивости, выражающейся в явлениях, именуемых аутоиммунностью. Устойчивая иммунная система обладает свойством, известным как “Я”-толерантность. Как известно, в результате успешного иммунного ответа возникают клетки памяти, готовые в случае вторичного поступления в систему чужеродного антигена запустить вторичный, более ускоренный иммунный ответ. Когда же опасность заболевания для организма устранена, то иммунная система вырабатывает специальные сигналы, которые резко уменьшают воздействие лимфоцитов, редуцируя их количество путем запрограммированной гибели.

В свое время на особое свойство механизма порождения разнообразия рецепторов лимфоцитов обратил внимание лауреат Нобелевской премии Нильс Эрне, который подчеркивал общность в механизме порождения разнообразия рецепторов лимфоцитов и порождения разнообразия предложений человеческого языка.

2.1. Язык иммунной системы и язык человеческий

В наших работах [2, 4, 23] мы уже отмечали, что и восприятие, и генерация текстов, речи (как ценной информации) самообучающимися системами тесно связаны с порождающей природой языка самообучающихся систем. Какова же порождающая природа языка иммунной системы?

В своей нобелевской лекции Нильс Эрне отмечал, что “наследственная “глубинная структура” иммунной системы теперь известна: определенные хромосомы всех позвоночных содержат сегменты ДНК, которые кодируют переменные области пептидов. Более того, экспериментально показана порождающая способность этой врожденной системы: в пролиферирующих В-лимфоцитах эти сегменты ДНК являются мишенями для соматических мутаций, которые приводят к формированию переменных областей антител, отличающихся аминокислотной последовательностью от изначального кода рецепторов тех стволовых клеток, от которых произошли данные В-клетки” [18].

Эти идеи Эрне возникли под впечатлением от работ известного американского лингвиста Ноэма Хомского, который, отталкиваясь от трансформационных идей своего учителя Зелига Хариса, совершил революцию в лингвистике [17]. Сам Хомский начало идей трансформационной или порождающей грамматики относит к началу 19-го столетия, а именно, к идее фон Гумбольдта о бесконечности человеческого языка в том смысле, что при наличии в языке некоторого, но все же конечного числа слов, в нем нет пределов возможного количества порождаемых им предложений.

Осознание этого факта побудило Хомского выдвинуть гипотезу, что должна существовать строгая система правил, отличающая предложения языка от произвольной строки из слов. Он предположил, что точно так же, как несколько аксиом математической теории и правила вывода порождают бесконечное число теорем теории, правила грамматики должны порождать предложения языка.

Оспаривая справедливость различных моделей грамматики для описания естественных языков, Хомский выдвинул свою теорию, известную как трансформационная грамматика. Согласно Хомскому, трансформационная грамматика состоит из двух частей: базовой грамматики, которая генерирует набор абстрактных структур, называемых “глубинными структурами” предложения, т.е. существующими в семантическом коде содержательными основами предложения и набором трансформаций и распространения, которые прилагаются к ним, что в результате дает реальные “поверхностные структуры”.

При этом Хомский термин “грамматика” использовал как ментальное представление говорящим знания языка, защищая при этом довольно сильную версию врожденности этого знания, утверждая, что единственный способ объяснить быстроту и простоту, с которой дети осваивают язык, это признать, что то, что им удастся усвоить, является генетически обусловленным. А так как любой нормальный ребенок усваивает любой язык, в среде которого он растет, то Хомский с неизбежностью делает вывод, что все человеческие языки имеют общую ядерную семантическую структуру и цель порождающей грамматики как научной дисциплины определить эту ядерную структуру – “универсальную грамматику”, “грамматику Хомского”.

Как можно понять, по Хомскому, человеческая способность воспринимать и порождать язык генетически запрограммирована внутри человеческого организма. Между тем, от него как бы ускользает то обстоятельство, что именно семантика как раз и связывает, сопрягает выражения языка с предметами и

состояниями внешней среды. Таким образом, получается, что теория Хомского рассматривает язык исключительно как проявление индивидуальной психологии и, таким образом, игнорирует вариативность в использовании языка различными классами, расами, общественными слоями. Иными словами, теория Хомского отказывается объяснить язык влиянием внешних факторов, в частности, влиянием на него социальных институтов. Между тем, язык является не просто буквальным набором слов и предложений, а его структура в значительной степени определяется его коммуникативными функциями. Именно коммуникативность языка является критерием его эффективности [17].

С учетом всего этого начинаешь понимать ошибочность предложений Эрне о необходимости проявить особый интерес к генам оригинальных стволовых клеток, подверженных этим мутациям, как носителям семантики врожденных генных структур и смысла базового лексикона. Как говорит Эрне [18], такие исследования, если их выразить в лингвистических терминах, он относит к этимологии иммунной системы. Напомним, что этимология — это область языкознания, исследующая происхождение слов, их первоначальную структуру и семантические связи, т.е. связи между символами и кодируемыми ими предметами.

Как можно видеть, влияние Хомского на Эрне так сильно, что и Эрне не замечает того, что семантика — это то, что называется связью, сопряжением символов с кодируемыми ими предметами внешней среды и говорит лишь о семантике врожденных генных структур, чего, по сути, не может быть.

В противоположность взглядам Хомского и Эрне, мы особо хотим подчеркнуть характер процесса поступления информации в иммунную систему. Поступает эта информация через посредство ферментативной системы, сопрягающей иммунную систему с внешней средой (выражаясь в терминах психологии, с предметами внешней среды). Именно ферментативная система, благодаря крупному блоку функциональной иммунохимической системы гомеостаза — системы цитохрома Р-450 печени, обеспечивает метаболизм неограниченного круга антигенов, порождая целую гроздь веществ, имеющих общее происхождение. Вот откуда, на наш взгляд, начинается процесс порождения образа внешней среды, который в свою очередь запускает второй этап процесса распознавания антигена, направленный навстречу первому процессу, т.е. как процесс движения навстречу друг другу «не-Я» и «Я». Причем, процесс порождения лимфоцитов, направленный навстречу первому процессу как бы редуцируется первым процессом, выделяя из всего многообразия порожденных лимфоцитов только те, которые способны нейтрализовать поступившие в систему инородные антигены. Именно таким образом осуществляется сопряжение ферментативной и иммунной подсистем целостной иммунохимической системой гомеостаза.

Откуда, если следовать эволюционным представлениям, можно заключить, что и для механизма распознавания образов, осуществляемых человеческой психикой, должен существовать аналогичный механизм и в центральной нервной системе. Механизм, который, впрочем, на первом этапе поступления информации осуществляется благодаря действию в форме движения (как-то: обследовательскому движению руки, обследовательскому повороту головы и т.п.).

Как можно видеть, в действительности оказывается, что механизм иммунной системы представляет собой единый механизм, описываемый как бы в виде синтеза двух механизмов, которые в отдельности исторически последовательно были теориями функционирования иммунной системы:

инструкционной теорией и теорией клональной селекции Ф.М. Бернета.

Таким образом, в результате иммунного ответа организм позвоночных оказывается способным опознать в качестве чужеродной практически любую “не-свою” молекулу, представленную ему для опознания, т.е. буквально миллионы различных антигенов. Это осуществляется благодаря особому языку, используемому иммунной системой.

Итак, слово “язык”, которым, как мы считаем, организм ведет “диалог” с окружающей средой это не просто метафора, а вполне реальное явление. Как известно, этот аминокислотный язык определяется кодом нуклеиновых кислот. Именно поэтому авторы книги «Язык жизни», подчеркивая исключительно высокую степень подобия систем генерации генетической и языковой информации, писали: “Расшифровка ДНК-кода выявила, что мы обладаем языком, который гораздо старше иероглифики, языком, который так же стар, как сама жизнь, языком, являющимся самым главным из всех языков” [15].

В связи с этим, мы хотели бы еще раз подчеркнуть факт поразительного сходства между иммунохимическим и человеческим языками. Это сходство заключается в том, что человек понимает огромное количество предложений, которые он никогда не слышал и не произносил, а также создает в соответствии с ситуацией новые предложения. Что в функциональной иммунохимической системе гомеостаза соответствует способности распознавать образы неограниченного круга химических соединений, с которыми она никогда ранее не взаимодействовала, и создавать в соответствии с ситуацией новые пептидные структуры и их сочетания.

2.2. Закон управления-обучения и механизм функционирования иммунной системы

Так с чем же в таком случае взаимодействует организм? Как можно видеть, получая одно вещество, организм взаимодействует с гроздьё веществ, которую он сам смог извлечь из этого вещества. Если это так, то синтезируемые при этом антитела и анти-антитела также должны быть разнообразны по своей специфичности, хотя и родственны (инвариантны) в какой-то степени. Как подчеркивает здесь Ковалев [10]: “в ходе сложного иммунохимического анализа организм анализирует внутреннюю суть вещества”, т.е. инвариант вещества, как сказали бы мы [2, 3, 5].

Итак, мы видим, что в распознавании чужеродных химических соединений участвует сеть, а не отдельные клетки. Эта сеть и представляет собой интегральный образ окружающей среды, так как позволяет организму реагировать не только на конкретное вещество, но и на различные соединения с общим принципом действия. С точки зрения информатики это означает, что сеть реагирует на разнообразие веществ, построенных на ядре-инварианте. Это означает, что если в будущем в организм поступит мутант с тем же ядром инвариантом, то организм уже будет готов нейтрализовать его воздействие.

Так иммунная система запасает впрок информацию для будущего распознающего управляющего воздействия. В этом, как нам представляется, и заключается феномен **опережающего отражения**, то что в англоязычной литературе называется “**predictive learning**”, т.е. способность предсказывать будущие события на основе информации о прошлом, что и определит поведение живой системы в будущем. Так организм готовит себя к будущим испытаниям.

В свое время именно эту способность заметил сельский врач Дженнер,

когда начал делать прививки против черной оспы, используя для этого материал оспы коровьей. Сейчас мы уже знаем, что черная оспа вызывается вирусом, называемым вариолой, а коровья оспа вызывается другим вирусом, однако подобным, т.е. имеющим аналогичную ядерную (инвариантную) структуру. Пациенты Дж Jennera, которым была сделана прививка коровьей оспы, становились иммунными не только против нее, но и против черной оспы. Последующий опыт показал, что иммунная система при инъекции того же или подобного вещества “переключается” именно на него: антитела и рецепторы становятся более гомогенными (что свидетельствует о процессе редукции, как, например, возрастание аффинности иммуноглобулинов при повторном иммунном ответе). Как справедливо заключает Ковалев [10]: “По-видимому, система отфильтровывает все те варианты, которые либо не позволяют достичь “поставленной цели”, либо неэффективны”. Другими словами, так иммунная система выделяет инвариант

Как можно видеть, такой процесс распознавания идет как бы с двух сторон: с одной стороны, как процесс поступления антигена в систему, как возмущающее воздействие (т.е. как поступление в систему инородного вещества “не-Я”), так и с другой стороны, как процесс организации управляющих воздействий со стороны системы (т.е. со стороны “Я”), нейтрализующих это возмущающее воздействие посредством генерации необходимого количества соответствующих лимфоцитов, в чем и проявляется единство организма и окружающей среды.

Таким образом, иммунная система организма, осуществляя распознавание конкретных химических соединений, познает, прогнозирует и корректирует образ окружающей среды. Здесь нам не остается ничего другого, как признать, что этот механизм работы иммунной системы есть нечто иное, как механизм подчиняющийся сформулированному нами закону управления-обучения:

Управление – это диалектическое единство процессов создания свобод (избыточности-разнообразия информации) и их редукции (устранения избыточности-разнообразия - выделения ценной информации – инварианта) в соответствии с целью управления [2, 3, 4, 5, 23].

Как можно видеть, система работает с учетом цели управления, а именно сохранения собственного “Я”, т.е. сохранения своей устойчивости при действии на нее возмущающих воздействий, что находится в полном соответствии с одним из основных кибернетических законов, сформулированных У.Р.Эшби - законом необходимого разнообразия [14], являющегося важнейшим законом сохранения устойчивости системы, сохранения ценной информации, содержащейся в памяти системы, или сохранения ее гомеостаза.

Ведь именно вторая половина формулировки нашего закона, а именно редукции – устранения избыточности-разнообразия и есть реализация закона необходимого разнообразия, сформулированного Эшби. В комментарии к этому закону, профессор Урсул, ведущий специалист в этой области, в свое время писал [13]: “Закон необходимого разнообразия имеет двойной аспект. С одной стороны, кибернетическая система должна усваивать полезное разнообразие, а с другой стороны – избегать вредного разнообразия. Эта двойственность реализуется в виде ценностного отношения системы к разнообразию среды. Вряд ли можно сводить все функции закона необходимого разнообразия лишь к ограничению вредного разнообразия (как это иногда получается у Эшби): если так узко понимать смысл этого закона, то неясно, каким образом объяснить саморазвитие, накопление внутреннего разнообразия кибернетическими системами”.

Как можно видеть, в формулировке нашего закона управления-обучения

это обстоятельство как раз и преодолевается. Таким образом, в нашем законе присутствует как порождение разнообразия информации, так и его редукция, что и приводит к ценностному отношению системы к накоплению разнообразной информации, к отбору ценной информации из накопленного разнообразия. Более того, в нашем законе сформулировано положение о диалектическом единстве этих двух процессов, что делает закон динамично работающим, живо откликающимся на возмущающие воздействия. Нет ничего удивительного и в том, что он с дополнением к нему второго закона термодинамики становится “сквозной эволюционной закономерностью”, т.е. законом, способным описать поведение любых самоорганизующихся систем и живых, и неживых [2]. Как нет ничего удивительного и в том, что иммунная система позвоночных работает в полном соответствии со сформулированным нами законом эволюции. Так как иммунная система призвана отражать процессы, происходящие в окружающей среде, вести диалог с окружающей средой, иными словами, призвана быть сопряжением с окружающей средой, т.е. быть управляющим интерфейсом организма.

Что означает для нас необходимость, вопреки мнению многих исследователей, которые определяют процесс формирования такой сети как процесс адаптации к окружающей среде, утверждать, что такой процесс есть процесс построения управляющего интерфейса с окружающей средой и его области устойчивости с целью управления своей устойчивостью, сохранения системой самой себя, своего “Я”, т.е. как процесс преодоления окружающей среды для достижения необходимого единства. Как мы показали в [4], это же делает рецепторная система центральной нервной системы (ЦНС) организма, как в процессе филогенеза, так и онтогенеза. Что опять же не удивительно, поскольку так же как центральная нервная система призвана сохранять индивидуальность духовную, иммунная система призвана сохранять индивидуальность телесную. Это и есть механизмы сохранения “Я”, которые, однако, немислимы без “не-Я”, что находит свое выражение в положении о единстве организма и среды.

3. Заключение

Итак, функциональная иммунохимическая система гомеостаза – это не только система защиты от чужеродных антигенов и некачественных клеток самого организма, но и, благодаря построению управляющего интерфейса с окружающей средой, она является системой получения огромной информации из окружающей среды, что определяет ее единство с окружающей средой, гарантирующей ее устойчивость. Однако вплоть до сегодняшнего дня это не осознается многими учеными, а функционирование иммунной системы воспринимается, как правило, так, как это делает канадский иммунолог Так Мак [23], привлекая к иллюстрации функционирования иммунной системы в качестве метафоры эпическую поэму Мильтона “Потеря рая”, в которой атака патогенов сравнивается с атакой Сатаны, а иммунный ответ сравнивается с ответом Бога, как генератора разнообразия (GOD – generation of diversity), в результате которого патогены уничтожаются.

Такое представление означает, что канадский иммунолог не учитывает принципа единства организма и среды, а воспринимает организм и среду, как находящихся в состоянии антагонизма по отношению к друг другу. А значит, исходит из ложного представления о дополнительности информации и энтропии, что постулирует идею, что для существования живой системы ей необходимо

экспортировать энтропию в окружающую среду. А, следовательно, не разделяет идеи, что все живые организмы и в конечном счете система Жизни на Земле, как взаимодействующая совокупность этих систем, это системы с минимальными потерями, т.е. с минимальной энтропией. А именно, что самое главное в механизме функционирования живых систем это не экспорт энтропии, а структуризация ценной информации для поддержания собственной устойчивости (и только неэффективное структурирование ценной информации, т.е. структурирование с потерями ведет к росту энтропии в системе, что находится в полном соответствии со вторым законом термодинамики). Другими словами, подход иммунолога Так Мака к пониманию механизма функционирования живых систем означает согласие с принципом: "Чтобы жить, надо убивать". Что противоречит существованию самого феномена Жизни. Несостоятельность его и была показана в нашей статье [2]. Понимание этого вынуждает нас признать, что патогенность внешней среды возникает лишь тогда, когда мы загрязняем ее так, что в ней невозможно уже существовать. То есть так, как это делают существующие человеко-машинные системы, которые, не будучи системами с минимальными потерями или энтропией, настолько загрязняют среду, что существующим в этой среде живым системам грозит потеря устойчивости. Тогда вот и происходит то, что канадский иммунолог называет "потерей рая" коллапс самой живой системы.

Думается, что нам удалось в нашей статье преодолеть столь упрощенное представление о роли и принципах работы иммунной системы. В действительности механизм иммунной системы значительно сложнее. Однако вышеизложенное не оставляет сомнений в том, что если создатели человеко-машинных систем не хотят оставить после себя "пустыню", то они обязаны найти способ перенести на человеко-машинные системы принцип, присущий биологическим системам - принцип "Я" - "не-Я", и строго соблюдать его при проектировании таких систем. Именно это будет критерием, который позволит именовать эти системы интеллектуальными и всерьез говорить о создании систем искусственного интеллекта, что позволит не только осуществить прорыв в создании новых информационных технологий, но и минимизировать разрушительное воздействие человеко-машинных систем на окружающую среду. Позволит человеку через посредство человеко-машинных систем предвидеть угрозы стремительно меняющегося мира и с опережением осуществлять управляющие воздействия, не позволяя глобальной системе выходить за пределы зоны своей устойчивости, обеспечивая тем самым реализацию принципа управляемого развития, а не ложного принципа направляемого развития.

По своей сути направление исследований, которое предлагается в настоящей статье, это путь согласования бесконечных степеней свободы человеческого мышления [7] со стремительно меняющейся и все возрастающей сложностью окружающей среды. Как можно видеть, резервы для такого управления более чем имеются. Нужна только добрая воля. Мы не случайно эпиграфом к статье взяли мудрые слова из Талмуда, которые с необычайной ясностью выражают положение о единстве организма и среды, но уже для социального организма. Нам думается, что факт этот даст нам основание для вывода, что культуры, также как и организмы, представляют собой феномены, обладающие свойствами иммунитета и толерантности, а традиции, ими выработанные, как социальные формы ценной информации, являют собой социальную форму "антител", выработанных и отобранных культурным организмом в процессе эволюции для построения своей зоны устойчивости и ее сохранения. Очевидно, что забвение

подобных традиций прошлого, которые восприняты христианством в обобщающей и усиленной синтетической традиции стремления к Истине и Любви (недаром Христианство восприняло иудейскую традицию “возлюби ближнего как самого себя”: Левит 19:18, усилив ее любовью к врагу: Матфей 6:44), как благоговения перед Жизнью, подобно потере памяти иммунной системы или иммунодефицитному синдрому, означающему, что отказ от них может привести к потере устойчивости и культурных систем.

Как мы полагаем, сказанное выше позволяет совершенно иначе увидеть решение проблемы создания искусственного интеллекта, а значит и проблемы создания высокоэффективных самообучающихся систем. А именно, как создание технологии, сопряженной с естественными биологическими технологиями, т.е. так, как работает все живое на Земле. Этим подходом мы обозначаем направление исследований в области информационных технологий, способных не разрушать окружающую среду, а строить сопряжение с ней, т.е. таких информационных технологий, которые способны строить системы с минимальными потерями, а значит и с **Моралью** [3].

Именно это свойство человеко-машинных систем, определяющих новую информационно-технологическую революцию, способно обеспечить плавную эволюцию человечества к новому, более устойчивому уровню развития. Таким образом, на наш взгляд, технология человеко-машинных систем с минимальными потерями или моралью как революционная технология может стать каналом эволюции человечества, так, как это произошло с человечеством, но отнюдь не плавно, во время Неолитической технологической революции. Это и будет свидетельством зрелости homo sapiens - человека разумного.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Анохин П.К.* Избранные труды. Философские аспекты теории функциональных систем. М., стр.59, 1978.
2. *Вардамян И.А.* Принцип всеобщности информации, экологический императив и человеко-машинные компьютерные системы. Биолог. журн. Армении, 3-4, 52, 1999.
3. *Вардамян И.А.* Вестник общественных наук НАН Армении, 2, 2002.
4. *Вардамян И.А.* Функционирование рецепторной системы и интерфейс человек-компьютер. Биолог. журн. Армении, 3-4, 2002.
5. *Вардамян И.А.* Информатика и образование, 1, 1992.
6. *Зинченко В.П.* Вопросы философии, 7, 1986.
7. *Зинченко В.П.* Природа, 2, 1986.
8. *Зинченко В.П., Мамардашвили М.К.* Вопросы психологии, 7, 1977.
9. Информатика. Базовый курс. Учебник для вузов под ред. С.В.Симоновича: СПб.: Питер, 2002.
10. *Ковалев И.Е.* Механизм адаптации организма к окружающей среде. Природа, N2, 1991.
11. *Саркисян С.Г., Овакимян А.С., Бархударян С.В., Тоноян К.* Мат-лы конф. "Компьютерные науки и информационные технологии 2003", Ереван, Армения, Сентябрь 22-26, 2003.
12. *Уголев А.И.* Естественная технология биологических систем Л.: Наука, 1987.
13. *Урсул А.Д.* Природа, 5, 1972.
14. *Эшби У.Р.* Введение в кибернетику М.:1959.

15. *Beadle G., Beadle M.* The Language of Life. An introduction to the Science of Genetics. N.Y., 1966.
16. *Cohen I.R.* Immunol. Today 13, 441-444, & 490-494, 1992.
17. International Encyclopedia of Communications. Vol.1, Oxford University Press, New York, Oxford, Grammar, 234-238, 1989.
18. *Jerne N.* Biosci.Rep. 439-451, 1985.
19. *Matzinger P.* Annu.Rev.Immunol. 12, 991-1045, 1994.
20. *Raven P.H., Johnson G.B.* Biology, Times Mirror/Misby College Publishing, 1989.
21. *Silverstein A.* Nature Immunology 3, 793-796, 2002.
22. *Tak W. Mak* Phil.Trans.R.Soc. Lond. A. 361, 1235-1250, 2003.
23. *Vardanyan I.H.* 9th International Conference "Speech and Computer", 20-22 September 2004, Saint-Petersburg, Russia, Publishing house "Anatolya".

Проступила 25.11.2005

Ըրիւտի • Хроника • Chronics

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

Эврик Гегамович Африкян



Исполнилось 80 лет Эврику Гегамовичу Африкяну – известному ученому-микробиологу, академику Национальной Академии наук, профессору, доктору биологических наук, заслуженному деятелю науки Республики Армения. В течение многих лет он бессменно возглавлял в Армении Институт микробиологии. С 1993г. он – директор Республиканского Центра депонирования микроорганизмов НАН Армении (РЦДМ), где сейчас сосредоточен основной микробиологический потенциал Республики.

Э.Африкян родился 14 мая 1925г. в Ереване, в семье врачей. Он рос в среде крупных специалистов, приехавших в Армению из России и европейских стран, прививших ему интерес к науке. Среди них был Н.Н.Простосердов – основоположник российского виноделия, сосланный в Армению за вольнодумство, который подарил ему микроскоп и привил интерес к микробиологии. Уже в студенческие годы в Ереванском медицинском институте он выполнил ряд научных работ по изучению пенициллина, в том числе монографию «Пенициллин и его применение в медицине», опубликованную издательством АН Арм.ССР в 1947г. в объеме 25 печ.л. Переломным в его творческой жизни явилось поступление в 1947г. в аспирантуру Института микробиологии АН СССР в Москве под руководством Н.А. Красильникова, с которым была связана вся его творческая жизнь. После окончания аспирантуры и защиты диссертации Э.Африкян работал в Институте микробиологии АН Армении, который возглавил в 1963г. и руководил в течение более 35 лет, став его почетным директором в 2000 году. Благодаря его большой научно-организационной деятельности Институт стал в СССР крупным научным центром общей и прикладной микробиологии, особенно после его перевода в 1972г. в новый научно- производственный комплекс зданий в г.Абовяне. Э.Г. внес большой вклад в создание в Армении микробиологической промышленности, - завода лизина в Чаренцаване дрожжевого завода и завода биохимических препаратов в Абовяне, проектирование и строительно-монтажные работы которых осуществлялись усилиями республиканских организаций. Указанные предприятия создавались на заре развития промышленности микробиологического синтеза, и в процессе их строительства и ввода в эксплуатацию пришлось преодолеть немалые трудности, послужившие в определенной степени основой развития промышленного производства в СССР аминокислот, бактериальных инсектицидов и других микробных препаратов.

Основным объектом исследований Э.Г. явились аэробные спорообразующие бактерии, в особенности их энтомопатогенные формы. Его ранние работы были посвящены изучению микробного антагонизма и антибиотиков. Круг прорабатываемых им вопросов охватывает экологию, систематику, метаболизм различных групп бацилл, характеристику их инсектицидного действия, изучение энтомоцидных токсинов, а также организацию производства новых инсектицидных препаратов.

В СССР на основе новой разновидности *B.thuringiensis subsp.caucasicus* было организовано крупнотоннажное производство препарата БИП для борьбы с вредоносными чешуекрылыми, с использованием нового высокоактивного штамма этого вида — нового москитоцидного ларвицидного препарата БЛП. В последние годы Э.Африкяном и его сотрудниками получены и подробно изучаются новые перспективные штаммы энтомопатогенов, активных к жесткокрылым и особо опасным вредоносным насекомым. Коллекция изученных культур энтомопатогенных бацилл, поддерживаемая в руководимом им Центре, насчитывает более 2000 хорошо изученных штаммов.

Изучение энтомопатогенных бацилл проводилось Э.Африкяном в период его длительных (по одному году и более) работ в зарубежных научных центрах. В Институте Пастера в Париже (1964) им проводилось сравнительное изучение разновидностей *B.thuringiensis*, их токсичности к теплокровным (К.А.Туманов, М.Рейно), а также распространения явления лизогении (Ф.Жакоб, М.Восель). В результате этих исследований, продолженных в последующие годы, им было выделено большое количество вирулентных и умеренных фагов из указанных групп бактерий, исследована специфика их литического действия и возможности их использования для систематики и трансдукции биосинтеза энтомоцидных токсинов. В Институте белка Университета Осака (1965) Э.Г. были впервые получены индивидуально чистые фракции кристаллоидного токсина некоторых разновидностей *B.thuringiensis* и исследован их аминокислотный состав. Работы по энтомопатогенным бациллам были продолжены и в ведущих научных центрах в этой области в Канаде и США. Наряду со штаммами *B.thuringiensis subsp. israelensis*, были подробно изучены москитоцидные культуры *Bacillus sphaericus*. Существенно важным результатом этих исследований явилось установление у культур последнего вида трех типов москитоцидного токсина: растворимого, кристаллоидного включения отдельно от споры и прикрепленного (или включенного) к споре. В Сельскохозяйственном Центре в Бельтсвилле и Региональной лаборатории в Пеории в США Э.Африкян выполнил комплекс исследований с новой группой энтомопатогенных бацилл *Bacillus popilliae-lentimorbus* — возбудителей так называемых молочных болезней японского жука. Были выявлены их характерные физиолого-биохимические особенности, в частности специфическая зависимость от биотина и тиамина. В дальнейшем, совместно с сотрудниками Института микробиологии АН СССР на основе комплексного тотального биохимического анализа динамики вегетативного роста *B.popilliae* было установлено наличие диауксии, являющейся причиной блокирования процесса споруляции этих бактерий.

Под руководством Э. Африкяна в Институте микробиологии был организован широкий комплекс исследований в области микробного повреждения и деградации синтетических полимерных материалов космической техники, который продолжается и в настоящее время. В результате этих работ,

продолженных в РЦДМ, создана обширная Коллекция культур микробных биодegradантов с Базами данных.

Круг интересов Э.Г. необычайно широк и охватывает многие проблемы общей и прикладной микробиологии. Он – автор 4-х монографий и более 300 научных статей. Благодаря его усилиям, в Армении были созданы новые направления и укреплена материально-техническая и кадровая базы.

Особенно много забот взвалилось на плечи Э.Г. в период развала СССР и последовавшего экономического кризиса, усугубленного в Армении блокадой, катастрофическим землетрясением и большой иммиграцией. Им было вложено много труда в продолжение выполняемых работ Института. Несмотря на выезд за рубеж многих сотрудников и недостаточное финансирование, основная тематика была сохранена, а благодаря руководимым им грантам и контрактам удалось поддержать деятельность учреждения. Исключительно важным явилось создание в 1993 г. РЦДМ, где был депонирован и сохранен богатый фонд оригинальных культур микроорганизмов, выделенных и изученных в течение многих лет большим коллективом микробиологов Армении. В настоящее время этот Центр включен во Всемирную федерацию коллекций культур микроорганизмов и является базовой организацией для создания Регионального Центра биологических ресурсов. Он выполняет также большой комплекс научно-производственных работ в актуальных областях микробиологии.

Э. Африкяна всегда отличала активная научно-организационная работа и участие во многих международных организациях, которые он плодотворно продолжает, несмотря на возраст. Он был избран членом Совета ученых Европейской ассоциации ИНТАС и в течение 1993-98 гг. внес существенный вклад в финансирование значительного объема перспективных исследований стран СНГ. Он возглавляет Научный Совет общей и прикладной биологии НАН Армении, многие годы – главный редактор «Биологического журнала Армении», председатель Диссертационного Совета по микробиологии и биотехнологии.

Коллектив редакции «Биологического журнала Армении» присоединяется к многочисленным приветствиям Э.Г. с пожеланиями доброго здоровья и новых творческих успехов.

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Գրիգորյան Յ.Ա., Համբարձումյան Ա.Ա., Սկրտչյան Ս.Վ., Թոփուզյան Վ.Օ., Հալեբյան Ղ.Պ.
 α,β-դեհիդրոամինաթթուների ամինաէթիլ էսթերները որպես խոլինէսթերազների
 դարձելի նոր արգելակիչներ 3

Արծրունի Գ.Գ., Բատիկյան Թ.Բ., Թաղևոսյան Յ.Վ. Թաղանթային ֆոսֆատիդիլխոլինների
 վերաացիլացումը արտաքին էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունից հետո 8

Ավետիսյան Յ.Ա., Մաթևոսյան Ս.Բ., Հովհաննիսյան Վ.Ա., Էլբակյան Ե.Գ. Նոր սերնդի
 ներկանյութերի ազդեցությունը *Drosophila melanogaster* վրա 13

Քոչարյան Ն.Ի., Բարսեղյան Ա.Ա., Ջիրոյան Ա.Ն., Մատինյան Ի.Գ. Արարատյան
 հարթավայրի հալոֆիտների ֆիզիոլոգիական առանձնահատկությունները 18

Գաբրիելյան Լ.Ա., Ջավրչյան Ջ.Ս. Բարձր ջերմաստիճանների և ուլտրամանուշակագույն
 ճառագայթների ազդեցությունը միկրոօրգանիզմների ֆոտոսինթետիկ ապարատի
 կառուցվածքի և ֆունկցիայի վրա 27

Ղավթյան Վ.Ա., Հարությունյան Ռ.Յ., Առուստամյան Ա.Վ. Ծառային ինտրոդուցենտների
 արդյունավետության կախվածությունը նյութափոխանակությունից և հորմոնալ
 հաշվեկշիռից Հայաստանի տարբեր անտառաբուսական զոտիներում 33

Մելիքյան Վ.Ա. Երկակարմիր տառետի *Ardea purpurea* L., 1766 էկոլոգիան Արարատյան
 հարթավայրի Արմաշի ձկնաբուծական տնտեսության պայմաններում 37

Միրզոյան Վ.Ս. Տարագույզ մետաքսագործի նյութափոխանակության և ֆիզիոլոգիական
 վիճակի առանձնահատկությունները կերաբույսի փոփոխության դեպքում 48

Միրումյան Լ.Ս. Գալամլակները Հայաստանի լանդշաֆտում տեսակային կազմը,
 տարածվածությունը և տնտեսական նշանակությունը 56

Ջախարյան Ա.Ա. Պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների ակտիվության կարգավորումը
 իշխանի *Parasalmo mikiss* տարբեր օրգաններում 61

Ստեփանյան Ա.Ա., Մանուկյան Կ.Գ., Լևոնյան Կ.Լ., Ղազարյան Տ.Ի., Կիրակոսյան Լ.Գ.
 Առնետի գլխուղեղի պրոտեոլիպիդների սպիտակուցային և լիպիդային
 կոմպոնենտների առանձնահատկությունները 66

Ստեփանյան Ա.Յու. Համակարգչային լաբորիինթային խնդրի կատարման ուղեղային
 ապահովման առանձնահատկությունները ձախիկների և աջիկների մոտ 72

Մարգարյան Ա.Ս. Առնետների լյարդի փորձարարական ցիռոզը և
 հակաօքսիդանտային գործոնների կարգավորիչ ազդեցությունը
 ԱՏՖ ֆոսֆոհիդրոլազի ակտիվության վրա 77

Անտոնյան Լ.Գ., Գոգիկյան Վ.Բ., Գևորգյան Ա.Ա. Բարձրակարգ ուտելի սնկերի աճեցման
 համար արտադրական թափոնների օգտագործման վերաբերյալ 82

Անտոնյան Լ.Գ. Մեթանային խմորման օգտագործումը խմորող արդյունաբերության
 թափոնների վերամշակման համար 88

Կարապետյան Մ.Ա. Մարդու հերպես վիրուս-1 ինֆեկցիան և տուբերկուլոզային
 մենինգոէնցեֆալիտի առաջացումը 93

Հակոբյան Լ.Գ. Բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայից և կաթնամթերքներից ֆագակայուն
 կաթնաթթվային բակտերիաների ստացումը 100

Վարդանյան Ն.Ս. *Leptospirillum* sp. ցեղին պատկանող ֆակուլտատիվ ավտոտրոֆ
 բակտերիա Հայաստանի սուլֆիդային հանքավայրերից 107

Համառոտ հաղորդումներ

Սիմոնյան Ռ.Կ. Արագած լեռան տարբեր բարձրություններում աճող որոշ բարձրլեռնային
 բույսերի մոխրային տարրերի պարունակության փոփոխության մասին 113

Նիկողոսյան Վ.Գ. *Azotobacter vinelandii*ն առվույտի ռիզոլանում 116

| | |
|--|-----|
| Կարապետյան Ս.Ս., Թամրազյան Ա. Դ., Պետրոսյան Լ.Ս., Դավթյան Ս.Ս. <i>Paramecium multimicronucleatum</i> ինֆուզորիաների միտոքոնդրիալ գլյուտամինազայի իզոնուկլեոմերի կարգավորումը | 119 |
| Աղաջանյան Ա.Խ., Չախարյան Ա.Ս., Աղաջանյան Ա.Ս., Սարտիրոսյան Ս.Ս. Պրոլիների կենսասինթեզի ֆերմենտների առանձնահատկությունները իշխան ձկան տարբեր օրգաններում | 123 |
| Թադևոսյան Դ. Դ. Ծանր մետաղների աղերի կարծածամկետ ազդեցությունը քլորելայի պիզմենտների վրա | 127 |
| Միրզոյան Վ.Ս., Աճեմյան Լ. Դ., Ստեփանյան Ա.Ս. Սատչ ինսեկտիցիդի մնացորդային քանակների որոշման մեթոդը | 130 |
| Ավետիսյան Կ. Կ. Ինսեկտիցիդ ակտարայի միկրոքանակների որոշման նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայի մեթոդը | 133 |
| Սեհրաբյան Ա. Չ., Աղաջանյան Վ. Գ. «ՀԱՍ» ՍՊԸ ի բնական չորանոցների տեսնիկական ցուցանիշների ճշգրտում | 135 |

Գիտության պատմություն

| | |
|---|-----|
| Ալեքսանյան Յու.Թ. Հայաստանում մոլեկուլային կենսաբանության կազմավորման և զարգացման պատմության վերաբերյալ | 138 |
|---|-----|

Բանալեն

| | |
|--|-----|
| Վարդանյան Ի. Գ. Իմունային համակարգը որպես կարգավորող ինտերֆեյս արտաքին միջավայրի հետ և արհեստական ինտելեկտի հիմնահարցը | 147 |
|--|-----|

Լրատու

| | |
|-----------------------------|-----|
| Էվրիկ Գեղամի Աֆրիկյան | 161 |
|-----------------------------|-----|

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

| | |
|--|----|
| ✓ Григорян А.А., Амбарцумян А.А., Мкртчян М.В., Топузян В.О., Алебян Г.П. Новые обратимые ингибиторы холинэстераз на основе аминоэтиловых эфиров α,β -дегидроаминокислот | 3 |
| Арицруни Г.Г., Батикян Т.Б., Тадевосян Ю.В. Реацилирование мембранных фосфатидилхолинов после действия внешнего электростатического поля | 8 |
| ✓ Аветисян А.А., Матевосян М.Б., Оганесян В.А., Элбакян Е.Г. Фотодинамическое действие красителей нового поколения | 13 |
| ✓ Кочарян Н.И., Барсесян А.М., Зироян А.Н., Матинян И.Г. Физиологические особенности галофитов Араратской равнины | 18 |
| ✓ Габриелян Л.С., Джаваршян Дж.М. Воздействие высоких температур и ультрафиолетового излучения на структуру и функции фотосинтетического аппарата микроводорослей | 27 |
| ✓ Давтян В.А., Арутюнян Р.Г., Арустамян А.В. О зависимости продуктивности древесных интродуцентов от обмена веществ и гормонального баланса в различных лесорастительных зонах Армении | 33 |
| ✓ Меликян К.А. Экология рыжей цапли <i>Ardea purpurea</i> L., 1766 - в условиях армашского рыбноводного хозяйства Араратской равнины | 37 |
| Мирзоян В.С. Особенности обмена веществ и физиологическое состояние непарного шелкопряда при смене кормовой породы | 48 |

| | | |
|---|--|-----|
| ✓ | Мирумян Л.С. Галлицы (<i>Diptera, Cecidomyiidae</i>) в ландшафте Армении: видовой состав, распространение и хозяйственное значение | 56 |
| ✓ | Захарян А.А. Регуляция активности ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели (<i>Parasalmo mikiss</i>) | 61 |
| ✓ | Степанян А.А., Манукян К.Г., Левонян К.Л., Казарян Т.И., Киракосян Л.Г. К характеристике белковых и липидных компонентов протеолипидов головного мозга крысы | 66 |
| ✓ | Степанян А.Ю. Особенности мозгового обеспечения выполнения компьютерной лабиринтной задачи у левшей и правшей | 72 |
| ✓ | Маргарян А.С. Экспериментальный цирроз печени крыс и регулирующее действие антиоксидантных факторов в активности АТФ-фосфогидролаз | 77 |
| ✓ | Антонян Л.Г., Гогинян В.Б., Геворкян С.А. Об использовании отходов производств для выращивания высших съедобных грибов | 82 |
| ✓ | Антонян Л.Г. Использование метановго брожения для переработки отходов бродильного производства | 88 |
| ✓ | Каралян М.А. Роль вируса простого герпеса человека в развитии туберкулезного менингоэнцефалита | 93 |
| ✓ | Акопян Л.Г. Получение фагоустойчивых молочнокислых бактерий из эпифитной микрофлоры растений и кисломолочных продуктов | 100 |
| ✓ | Варданян Н.С. Факультативно автотрофные <i>Leptospirillum sp.</i> бактерии из сульфидных месторождений Армении | 107 |

Краткие сообщения

| | | |
|---|--|-----|
| ✓ | Симонян Р.К. Об изменении содержания зольных элементов у некоторых высокогорных растений на разных высотах произрастания горы Арагац | 113 |
| ✓ | Никогосян В.Г. <i>Azotobacter vinelandii</i> в ризоплане люцерны | 116 |
| ✓ | Карапетян С.А., Тамразян А.А., Петросян Л.А., Давтян М.А. Регуляция изоферментов митохондриальной глутаминазы аэробных инфузорий <i>Paramecium multimicronucleatum</i> | 119 |
| ✓ | Агаджанян А.Х., Захарян А.А., Агаджанян А.А., Мартиросян М.С. Особенности ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели <i>Parasalmo mikiss</i> | 123 |
| ✓ | Тадевосян А.Г. Кратковременное действие солей тяжелых металлов на пигменты хлореллы | 127 |
| ✓ | Мирзоян В.С., Аджемян Л.А., Степанян А.С. Метод определения остаточных количеств инсектицида матча | 130 |
| ✓ | Аветисян К.В. Тонкослойно-хроматографический метод определения микроколичеств инсектицида актары | 133 |
| ✓ | Меграбян А.Ч., Агаджанян Ж.Г. Уточнение технических показателей природных сушилок ООО "Гам" | 135 |

История науки

| | |
|---|-----|
| Алексян Ю.Т. К истории становления и развития молекулярной биологии в Армении | 138 |
|---|-----|

Дискуссии

| | |
|---|-----|
| Варданян И.А. Иммунная система как управляющий интерфейс с окружающей средой и проблема искусственного интеллекта | 147 |
|---|-----|

Хроника

| | |
|-------------------------------|-----|
| Эврик Гегамович Африкан | 161 |
|-------------------------------|-----|

CONTENTS

Original articles

Grigoryan H.A., Hambardzumyan A.A., Mkrtchyan M.V., Topuzyan V.O., Halebyan G.P. New reversible inhibitors of cholinesterases on basis of aminoethylesters of α,β -dehydroaminoacids 3

Artsruni G.G., Batikyan T.B., Tadevosyan Yu.V. Reacylation of membrane phosphatidylcholines after the influence of electrostatic field 8

Avetisyan A.A., Matevosyan M., Hovhannisyan V., Elbakyan E. The influence of new generation dyes to *Drosophila melanogaster* 13

Kocharyan N.I., Baghramyan A.M., Ziroyan A.N., Matinyan I.G. Physiological peculiarities of halophytes of the Ararat plain 18

Gabrielyan L.S., Javrshtyan J.M. Effects of high temperatures and ultraviolet light on structure and functions of microalgae photosynthetic apparatus 27

Davtyan V.A., Harutunyan R.H., Arustamyan A.V. On depending of the introduced trees productivity from the metabolism and hormonal balance in the different forest vegetable zones of Armenia 33

Melikyan K.A. The ecology of purple heron *Ardea purpurea* L., 1766 in the conditions of Armash's fish-farm on the Ararat level 37

Mirzoyan V.S. Metabolism peculiarities and physiological state of gypsy moth 48

Mirumyan L.S. Gall mides (*Diptera, Cecidomyiidae*) in landscape of Armenia: specific composition distribution and economical importance 56

Zakharyan A.A. Regulation of the activity of the proline biosynthesis in the different organs of Ichkhan 61

Stepanian H.A., Manukian K.H., Levonian K.L., Kazarian T.I., Kirakosian L.G. Specific features of protein and lipid moieties of proteolipids from rat brain 66

Stepanyan A.Yu. Features of brain mechanisms of the maze-model task solving in right- and left-handed examinees 72

Margaryan A.S. Experimental liver cirrhosis of rats and coppelating action of antioxidant factors in the activity of ATP-phosphohydrolases 77

Antonyan L.G., Goginyan V.B., Gevorgyan S.A. On the use of industrial by-products for cultivation of edible mushrooms 82

Antonyan L.G. On the use of methane fermentation for treatment of by-products of fermentation industry 88

Karalyan M.A. The infection of human herpes virus and tuberculos meningoencephalitis development 93

Hakobyan L.G. Obtention of phagostable lactic and bacteria from epiphytic microflora of plants and acido-lactic products 100

Vardanyan N.S. Facultatively autotroph *Leptospirillum* sp. bacteria from sulfide ores of Armenia 107

Short communications

Simonyan R.K. On the change of ash elements content of some highmountainous plants growing on different height of mountain Aragats 113

Nikoghosyan V.G. *Azotobacter vinelandii* in the rhizoplan of the lucerne 116

Karapetyan S.A., Tamrazyan A.H., Petrosyan L.A., Davtyan M.A. Regulation of *Paramecium multimicronucleatum* mitochondrial glutaminase isoenzymes 119

Aghajanyan A.Kh., Zakharyan A.A., Aghajanyan A.A., Martirosyan M.S. The peculiarities of enzymes of proline biosynthesis in different organs of Ichkhn 123

| | |
|--|-----|
| <i>Tadevosyan H.H.</i> Short-term effect of heavy metals salts on pigments of <i>Chlorella</i> | 127 |
| <i>Mirzoyan V.S., Ajemyan L.A., Stepanyan A.S.</i> Method for residue analytical determination of Match | 130 |
| <i>Avetisian K.V.</i> Thin layer chromatographic method for analytical Determination of the residues of Actara insecticide | 133 |
| <i>Mehrabyan A.Ch., Agajanyan Zh.G.</i> Refinement of technical indices of natural dryers of "HAM" Ltd. | 135 |

History of science

| | |
|---|-----|
| <i>Aleksanyan Yu.T.</i> To the history of establishment and development of molecular biology in Armenia | 138 |
|---|-----|

Discussion

| | |
|--|-----|
| <i>Vardanyan I.H.</i> Immune system as controlling interface with environment and the problem of artificial intelligence | 147 |
|--|-----|

Reviews

| | |
|--------------------------------|-----|
| <i>Evrik G. Afrikian</i> | 161 |
|--------------------------------|-----|