

ISSN 0366-5119

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՏՐԱԼՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
АРМЕНИИ

BIOLOGICAL JOURNAL
of ARMENIA

Выходит с 1948 года на армянском, русском и английском языках

«Հայաստանի կենսաբանական հանդեսը» հրատարակվում է Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիայի կողմից և պատկանում է հոգևածներ բուսաբանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաքիմիայի, կենսաֆիզիկայի, կենսաֆիլոսոֆիայի, 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), Մ.Մ.Ավագյան, Մ.Ա.Դավթյան, Ժ.Ի.Նակոբյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Ռ.Մ.Նարոտյոնյան, Կ.Գ.Ղարապետյան, Ս.Խ.Մայրապետյան, Ս.Ն.Մուկիսյան, Ն.Տ. Ապինյան (պատասխանատու քարտուղար)

Խմբագրական խորհուրդ՝ Է.Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Ա.Ս.Աղսրալյան, Յու.Թ.Ալեքսանյան, Է.Ծ.Գարրինյան, Ա.Ա.Գալոյան, Ա.Լ.Թախտաճյան, Բ.Տ.Ղարիբջանյան, Կ.Ս.Պողոսյան, Գ.Ա.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.Давян, К.Г.Карагезян, С.Х.Майрапетян, С.О.Молсесян, Н.А. Апинян (ответственный секретарь)

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

Օրիգինալ հոդվածներ • Оригинальные статьи • Original articles

Биол. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 577.155.3, 577.112.4

ВЛИЯНИЕ ЭДТА И ДИАЛИЗА НА АКТИВНОСТЬ И
ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ БЫКА

М.Л. ГЕВОРКЯН, М.А. ДАВТЯН

*Ереванский государственный университет,
научно-исследовательская лаборатория биохимии, 375025*

Инактивация аргиназы печени быка под действием ЭДТА наиболее эффективно происходит при pH 6-7. Изучение спектров ФЛ аргиназы в растворах с разными pH при $\lambda_{\text{вх}}$ 280 и 297 нм показало, что в результате удаления катиона Mn^{2+} в щелочной среде происходят значительные изменения конформации гидрофобных участков молекулы аргиназы, в которых локализованы остатки триптофана и тирозина. Инкубация с ЭДТА и последующий диализ растворов фермента приводят к красному смещению положений максимумов спектров ФЛ аргиназы (на 10-14 нм) при pH 9,4. Полученные данные свидетельствуют о том, что в поддержании нативной конформации аргиназы важную роль играют электростатические взаимодействия.

Ցուլի լարդի արգինազի ինակտիվացումը ԷԴՏՍ-ի հետ փոխազդեցության արդյունքում առավել էֆեկտիվ տեղի է ունենում рН-ի 6-7 պայմաններում: Ֆերմենտի լուծույթների ֆլուորեսցենցիայի (ՖЛ) սպեկտրների ուսումնասիրությունը 280 և 297 նմ գրգռման ալիքների երկարությունների դեպքում ցույց տվեց, որ Mn^{2+} իոնների բացակայությունը հիմնային միջավայրում առաջացնում է կոնֆորմացիայի զգալի խախտումներ արգինազի մոլեկուլի այն հատվածներում, որտեղ գտնվում են տրիպտոֆանի և տիրոզինի մնացորդները: Ֆերմենտի ԷԴՏՍ-ի հետ փոխազդեցության և դրան հաջորդող դիալիզի արդյունքում (рН 9,4) տեղի է ունենում ՖЛ սպեկտրների մաքսիմալ ինտենսիվությունների դիրքերի կարմիր շեղում (10-14 նմ): Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ արգինազի մոլեկուլի նատիվ կոնֆորմացիայի պահպանման գործում կարևոր դեր են կատարում էլեկտրոստատիկ փոխազդեցությունները:

The inactivation of bovine liver arginase in the presence of EDTA is more effective at pH 6-7. The fluorescence emission spectra of arginase solutions at different pH values upon excitation 280 and 297 nm were studied. The removing of Mn^{2+} from the enzyme molecule by EDTA led to significant conformational changes in hydrophobic regions of arginase molecule, where tryptophanyl and tyrosyl residues are buried. The red shift (by 10-14 nm) in the fluorescence emission peak of EDTA-treated and then dialysed enzyme solutions (pH 9.4) is observed. The received data suggest that electrostatic interactions play an important role in conformational stability of arginase.

Аргиназа - ЭДТА - флуоресценция - конформация

Аргиназа (ЕС 3.5.3.1.) катализирует реакцию расщепления аргинина на мочевины и орнитин. Уреотелическая форма фермента участвует в цикле

мочевины, а неуротелическая аргиназа играет важную роль во многих других процессах, происходящих в живых организмах (биосинтез полиаминов и пролина, лимитирование биосинтеза гистонов и однозамещенных гуанидиновых соединений и т. п.) [5, 6]. В последнее десятилетие обнаружено, что аргиназа регулирует образование в тканях окиси азота, конкурируя с синтазой окиси азота за общий субстрат [10, 18]. Она используется в медицине для лечения аргинин-зависимых болезней [16], а также для снижения темпов роста опухолевых тканей [11, 20].

Как известно, аргиназа - металлотермостойкий фермент. Роль катионов двухвалентного марганца (Mn^{2+}) в нативной аргиназе, выделенной из тканей различных организмов, изучается уже давно [14, 17]. Эти катионы участвуют в поддержании активной конформации и четвертичной структуры фермента, регулируют оптимум pH, влияют на термостабильность, чувствительность к протеолизу и т.д. [12-14]. Изучение влияния хелатирующего агента ЭДТА на аргиназу печени быка показало, что в отличие от аргиназ из печени других млекопитающих, инактивация в присутствии этого соединения не сопровождается распадом на субъединицы [9, 12, 13], т.е. катионы Mn^{2+} не участвуют в формировании четвертичной структуры этого фермента. Как показано в ряде работ [15, 21], расположенные в области активного центра аргиназы печени крыс катионы Mn^{2+} координационно неэквивалентны. Один из них сравнительно слабо связан с окружающими его функциональными группами и легко удаляется при диализе. Согласно нашим [3], а также литературным данным [12], в результате диализа аргиназа печени быка частично теряет активность, которая восстанавливается при добавлении ионов марганца или замене их на ионы кобальта или кадмия. Инактивация этого фермента при диализе, возможно, также связана с удалением из молекулы одного из катионов Mn^{2+} . Для более подробного изучения роли ионов Mn^{2+} в стабилизации конформации и проявлении активности аргиназы печени быка в данной работе было проведено исследование влияния ЭДТА и диализа на активность и флуоресценцию растворов этого фермента.

Материал и методика. В работе использовали лиофилизированный препарат аргиназы печени быка фирмы "Reanal" (Венгрия). Растворы аргиназы на 0,05 М глициновом, трис-НСI и фосфатном буферах при разных значениях pH в концентрациях 10^{-4} - 10^{-5} М инкубировали при комнатной температуре (20°) в присутствии ЭДТА, затем определяли аргиназную активность и измеряли спектры флуоресценции (ФЛ). Активность аргиназы определяли по методу Ратнер, как описано ранее [7]. Спектры флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре марки Cary Eclipse фирмы "Varian" при комнатной температуре (20°) в 1-сантиметровой кювете в диапазоне 300-500 нм при длинах волн возбуждения 280 и 297 нм. Ширина щелей монохроматоров 5 и 10 нм при возбуждении и испускании соответственно. Диализ ЭДТА-обработанных растворов фермента проводили при 4° в течение 20 ч при постоянном перемешивании с помощью магнитной мешалки. Растворы аргиназы $4,7 \times 10^{-5}$ М на 0,01 М глициновом буфере (pH 7,6) после взаимодействия с ЭДТА (12,5 mM) в течение 60 мин диализовали против 280-300 объемов того же буфера. Затем пробу разбавляли соответствующим буфером в 4 раза и измеряли спектры ФЛ.

В работе использовали L-аргинин, глицин фирмы "Reanal" (Венгрия), ЭДТА динатриевую соль фирмы "Merck" (Германия), остальные реактивы с маркой х.ч. или ч.д.а.

Результаты и обсуждение. Инкубация растворов аргиназы с ЭДТА приводит к инактивации фермента. На рис. 1А показано снижение активности аргиназы при концентрациях реагента 7 и 3,6 мМ, pH 6,2 и 8. Из рисунка видно, что кинетика инактивации двустадийна. Основное снижение активности происходит в начальные 10-15 мин, а дальнейшая инкубация в тех же условиях приводит к дополнительной инактивации лишь на 5-8%. Изменение значений pH раствора существенно влияет на степень инактивации аргиназы. Если в растворах с pH 6,2 в течение 30 мин в присутствии ЭДТА происходит полная инактивация фермента, то при pH 8 активность снижается только на 50% (рис. 1А). Инактивация аргиназы печени быка в присутствии ЭДТА в кислой и нейтральной средах изучалась в ряде работ [12, 13, 19]. В наших экспериментах с ростом значений pH степень инактивации уменьшается, и при pH 9,2 и выше при используемой концентрации ЭДТА активность снижается на 10-15% (рис. 1Б).

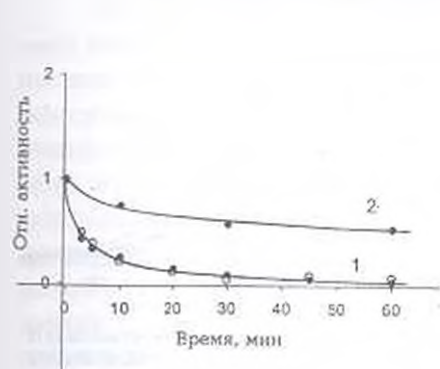


Рис. 1. А. Кинетика инактивации аргиназы в присутствии 7 мМ ЭДТА, (pH 6,2) /1/, 3,6 мМ ЭДТА, (pH 6,2) /а/ и 7 мМ ЭДТА (pH 8) /2/. Концентрация аргиназы $4,7 \times 10^{-6}$ М.

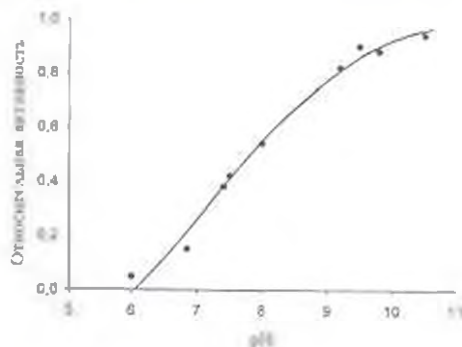


Рис. 1. Б. Влияние pH раствора на инактивацию аргиназы ($4,7 \times 10^{-6}$ М) при взаимодействии с 7 мМ ЭДТА в пробе. Время инкубации 1 час.

Таким образом, в щелочной среде даже при сравнительно высоких концентрациях ЭДТА активность фермента в значительной степени сохраняется. Можно предположить, что происходящее в кислой среде протонирование карбоксилатных лигандов функциональных катионов Mn^{2+} приводит к ослаблению координационных связей, что облегчает их удаление из молекулы белка. Принимая во внимание, что при значениях pH ниже 6,5 активность нативной аргиназы существенно снижается, изучение влияния концентрации ЭДТА на активность фермента проводилось при pH 7,5. Степень инактивации аргиназы растет с увеличением концентрации реагента (рис. 2). Полная инактивация фермента при инкубации в течение 60 мин достигается при концентрации ЭДТА 25 мМ в пробе.

С целью выяснить как влияет взаимодействие с ЭДТА на конформационное состояние молекулы аргиназы были измерены спектры ФЛ растворов фермента до и после инкубации с этим реагентом (рис. 3). Максимум спектра ФЛ растворов исследуемого нами препарата фермента (pH 6-7) при λ_{max} 297 нм находится при 338 нм, что было показано ранее [4,

8]. Такое положение максимума ФЛ аргиназы согласно теории, предложенной Веденкиной и Буриштейном [2], означает, что остатки триптофана этого белка расположены в гидрофобных участках молекулы и только небольшая часть из них частично экспонирована к растворителю. При $\lambda_{\text{возб}}$ 280 нм максимум смещен на 1–2 нм в коротковолновую область, что свидетельствует об участии остатков тирозина в процессах ФЛ этого белка. Интенсивность ФЛ при $\lambda_{\text{возб}}$ 280 нм выше, чем при $\lambda_{\text{возб}}$ 297 нм. Это связано, очевидно, с разницей в коэффициентах поглощения остатков триптофана при этих длинах волн, а также с ФЛ остатков тирозина. Таким образом, хотя тирозиновые остатки вносят определенный вклад в процессы ФЛ аргиназы печени быка, основными центрами ФЛ этого фермента, как для большинства белков, являются остатки триптофана.

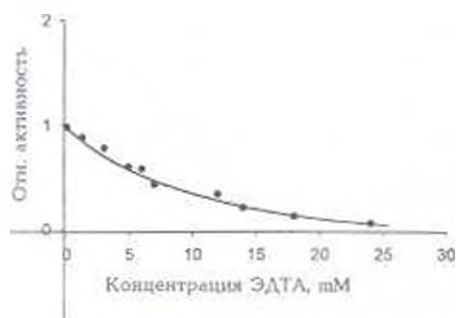


Рис. 2. Зависимость ингибирования аргиназы от концентрации ЭДТА (рН 7,5). Концентрация аргиназы — 5×10^{-4} М. Время инкубации 1 час.

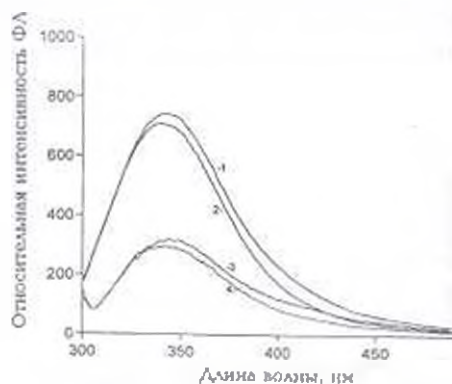


Рис. 3. Спектры ФЛ растворов аргиназы (рН 9,4) при $\lambda_{\text{возб}}$ 280 нм /1, 2/ и 297 нм /3, 4/ до /2, 4/ и после /1, 3/ взаимодействия с ЭДТА.

При различных значениях pH раствора параметры ФЛ аргиназы несколько изменяются. В табл. 1 приведены положения максимумов спектров ФЛ при указанных длинах волн возбуждения, величины отношений относительной интенсивности ФЛ в максимуме [$I_{\text{max}} 280/I_{\text{max}} 297$] и величины отношений относительных квантовых выходов ФЛ [q_{280}/q_{297}] растворов аргиназы в различных условиях. При pH 9,4, где фермент проявляет наибольшую активность, максимум ФЛ растворов аргиназы смещается на 2–3 нм в длинноволновую область (табл. 1). В щелочной среде, по-видимому, происходит некоторое изменение конформационного состояния молекулы фермента, что влияет на микроокружение флуоресцирующих аминокислотных остатков этого белка. Величины $I_{\text{max}} 280/I_{\text{max}} 297$ и q_{280}/q_{297} несколько уменьшаются с ростом значений pH. Это можно объяснить уменьшением вклада остатков тирозина в процессы ФЛ при конформационных изменениях фермента в щелочной среде. Необходимо учитывать, что в растворах белков имеет место тушение ФЛ хромофоров находящимися вблизи группами, обладающими тушающими свойствами, в числе которых карбоксильные и аминогруппы, имидазол, пептидная и амидная группы и др. [1]. Небольшие изменения конформации аргиназы, по-видимому, влияют на взаимное расположение функциональных групп, что и отражается на параметрах ФЛ фермента.

Таблица 1. Влияние pH, ЭДТА и диализа ЭДТА-обработанного фермента (Э+Д) на некоторые параметры ФЛ растворов аргиназы

Условия	$\lambda_{\text{max}} \text{ ФЛ [нм]}$ $\lambda_{\text{max}} = 280 \text{ нм}$ $\pm 1 \text{ нм}$	$\lambda_{\text{max}} \text{ ФЛ [нм]}$ $\lambda_{\text{max}} = 297 \text{ нм}$ $\pm 1 \text{ нм}$	$I_{\text{max}} 280/I_{\text{max}} 297$	q_{280}/q_{297}
РН 6	337	338	2,46	2,31
РН 8,6	339	341	2,33	2,38
РН 9,4	340	343	2,39	2,24
ЭДТА pH 6	337	338	2,4	2,4
ЭДТА pH 8,6	339	342	2,39	2,26
ЭДТА pH 9,4	343	348	2,34	2,1
Э+Д pH 6	337	338	2,41	2,02
Э+Д pH 8,6	345	348	2,46	2,23
Э+Д pH 9,4	347	351	2,4	2,62

Были измерены спектры ФЛ растворов фермента при тех же длинах волн возбуждения после взаимодействия с 12,5 мМ ЭДТА. Изменений в положении максимумов спектров ФЛ аргиназы после взаимодействия с этим реагентом в растворе с pH 6 не наблюдается (табл. 1), хотя активность, как показано выше, снижается. Это свидетельствует о том, что удаление катионов Mn^{2+} из активного центра аргиназы в растворе с pH 6 не влияет на конформацию гидрофобных участков молекулы фермента, в которых локализованы остатки триптофана и тирозина. Согласно литературным данным [19], при взаимодействии аргиназы печени быка с ЭДТА (pH 7.5) вместе с некоторым увеличением относительной интенсивности ФЛ происходит красное смещение на 2 нм, однако изменений во вторичной и третичной структурах фермента в этих условиях авторами обнаружено не было. В наших экспериментах в слабкокислой и нейтральной средах существенных изменений параметров ФЛ после взаимодействия с ЭДТА не обнаружено. На существование кислотоустойчивых гидрофобных участков, в которые погружены остатки триптофана аргиназы печени быка, указывалось также в работах [7, 19]. В растворах же аргиназы с pH 8,6 и 9,4 после взаимодействия с этим хелатором наблюдается красный сдвиг положения максимумов спектров ФЛ (рис. 3, табл. 1). При $\lambda_{\text{max}} = 280$ и 297 нм максимумы спектров ФЛ аргиназы (pH 9,4) смещаются до 343 и 348 нм соответственно, что указывает на значительные изменения в конформации тех участков молекулы аргиназы, в которых расположены остатки триптофана и тирозина. Интенсивность ФЛ после взаимодействия с ЭДТА при pH 9,4, как видно из рис. 3, несколько возрастает, что можно объяснить перестройкой боковых цепочек аминокислот, расположенных вблизи от флуоресцирующих центров белка. Величина $I_{\text{max}} 280/I_{\text{max}} 297$ почти не меняется, несколько снижается величина q_{280}/q_{297} после взаимодействия аргиназы с ЭДТА в щелочной среде (табл. 1). Следует отметить, что участие остатков тирозина в процессах ФЛ аргиназы в этих условиях становится более заметным. По-видимому, разворачивание свернутых участков макромолекулы аргиназы приводит к контакту части флуоресцирующих остатков тирозина с тушащими группами.

а также, возможно, затрудняет перенос энергии возбуждения внутри молекулы фермента. Однако, как показано выше, после взаимодействия аргиназы с ЭДТА в щелочной среде активность фермента частично сохраняется. В условиях данного эксперимента ферментативная активность аргиназы после взаимодействия с 12,5 мМ ЭДТА при pH 9,4 снижается на 75-80%. Таким образом, в щелочной среде при удалении, по-видимому, одного из катионов Mn^{2+} из активного центра под действием ЭДТА активность фермента частично сохраняется, а в гидрофобных участках белковой молекулы происходит значительные конформационные изменения. Тот факт, что при pH 6 параметры ФЛ аргиназы после взаимодействия с ЭДТА не меняются, свидетельствует о том, что в стабилизации гидрофобных участков фермента важную роль играют электростатические взаимодействия. В щелочной среде в результате депротонирования функциональных групп, участвующих в образовании ионных связей, в отсутствие катионов марганца, по-видимому, изменяется электростатическое равновесие, нарушается компактная структура белковой глобулы и флуоресцирующие аминокислотные остатки переходят в более гидрофильное микроокружение.

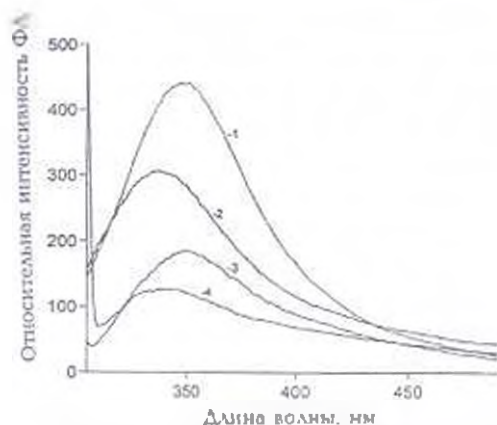


Рис. 4. Спектры ФЛ ЭДТА-обработанной и затем диализованной аргиназы при $\lambda_{\text{возб.}}$ 280 нм /1,2/ и 297 нм /3,4/ в растворах с pH 6 /2,4/ и 9,4 /1,3/

Далее были измерены спектры флуоресценции предварительно обработанной ЭДТА (12,5 мМ) при pH 7,6, а затем диализованной в течение 20 ч аргиназы. Ферментативной активности в растворах аргиназы после такой обработки обнаружено не было. После диализа растворы фермента разбавляли в 4 раза буферными растворами с разными значениями pH и измеряли спектры ФЛ. Как видно из рис. 4 и табл. 1, положения максимумов ФЛ и величины $I_{\text{max } 280}/I_{\text{max } 297}$ при pH 6 и в этом случае не меняются. Несколько снижается величина q_{280}/q_{297} , что, очевидно, связано с изменением формы спектров ФЛ аргиназы в данных условиях.

Однако при pH 8,6 и 9,4 в растворах ЭДТА-обработанного и затем диализованного фермента величины смещений положений максимумов ФЛ в длинноволновую область увеличиваются (рис. 4, табл. 1). При $\lambda_{\text{возб.}}$ 280 и 297 нм максимумы спектров ФЛ в растворе фермента с pH 9,4 находятся при 347 и 351 нм соответственно. Это свидетельствует о том, что флуоресцирующие аминокислотные остатки фермента полностью экспонированы к растворителю. Величина $I_{\text{max } 280}/I_{\text{max } 297}$ почти не меняется. Заметно увеличивается только величина q_{280}/q_{297} в щелочной среде (табл. 1), что связано с изменением формы спектров ФЛ. Таким образом, взаимодействие с ЭДТА и последующий диализ приводят к инактивации

фермента и значительному нарушению вторичной и третичной структур аргиназы, происходящими в щелочной среде, и катионы марганца, кроме участия в функционировании активного центра или обеспечения его активной конформации, играют важную роль в поддержании электростатического равновесия в структуре этого фермента. Полученные данные позволяют предположить возможность существования в молекуле аргиназы структурных доменов, обладающих разной конформационной стабильностью при различных значениях pH.

Дальнейшее изучение структурных и функциональных особенностей аргиназы печени быка с использованием современных физико-химических методов исследования позволят прояснить вопросы, связанные с локализацией Mn^{2+} в структуре фермента, и их ролью как в стабилизации активной конформации, так и в обеспечении оптимальных условий для протекания каталитического процесса.

Авторы выражают благодарность Ш. А. Маркарян и А. Г. Хосеяну (кафедра физической химии ЕГУ) за содействие и помощь при измерении спектров ФЛ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурштейн Э.А. Молек. биол., 17, 3, 455-467, 1983.
2. Веденкина Н.С., Бурштейн Э.А. Молек. биол., 4, 5, 743, 1970.
3. Геворкян М.Л., Давтян М.А. Ученые записки ЕГУ, 2, 51-54, 1997.
4. Геворкян М.Л., Давтян М.А. Ученые записки ЕГУ, 3, 85-90, 2002.
5. Давтян М.А. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 3, 273-278, 1967.
6. Давтян М.А. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 4, 237-266, 1968.
7. Давтян М.А., Геворкян М.Л. Ученые записки ЕГУ, 1, 40-47, 1997.
8. Burshstein E.R., Vedenkina N.S., Ivkova M.N. Photochem. Photobiol., 18, 263-279, 1973.
9. Carvajal N., Martinez J., De Oca F.M., Rodriguez J., Fernandez M. Biochim. Biophys. Acta, 527, 1, 1-7, 1978.
10. Chang Ch.I., Liao J.C., Kuo L. Amer. J. Physiol., 274, 1, Pt 2, 342-348, 1998.
11. Chen P.C., Broome J.D. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 163, 3, 354-359, 1980.
12. Dahlig E., Porembska Z. Acta biochim. Polon., 24, 3, 187-196, 1977.
13. Harell D., Sokolovsky M. Eur. J. Biochem., 25, 1, 102-108, 1972.
14. Hirsh-Kolb H., Kolb H. J., Greenberg D.M. J. Biol. Chem., 246, 2, 395-341, 1971.
15. Kanyo Z.F., Scolnick L.R., Ash D.E., Christianson D.W. Nature, 383, 6600, 554-557, 1996.
16. Kern B.M., Klela D., Dochos A.E., Wissmann P.B., Banky S. Amer. J. Hum. Genet. 47, 3, Suppl.-C.A 157, 1990.
17. Muszynska G., Ber E. Int. J. Biochem., 9, 10, 757-759, 1978.
18. Perozich J., Hempel J., Morris S.M.Jr. BBA, 1382, 1, 23-37, 1998.
19. Rossi V., Grandi C., Dalzoppo D., Fontana A. Int. J. Peptide Protein Res., 22, 239-250, 1983.
20. Scallan C., Clynes M., Joyce P. Biochem. Soc. Trans., 9, 4, 317, 1981.
21. Scolnick L.R., Kanyo Z.F., Cavalli R.Ch., Ash D.E., Christianson D.W. Biochemistry, 36, 34, 10558-10565, 1997.

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 612.8.015.547.953

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИСТЕИНА НА ПРОЦЕСС ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ И ОБМЕНА ФОСФОЛИПИДОВ ПРИ ГИПОКСИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И СЕРДЦА

Л.М. ОВСЕЯН, Е.Г. ДЖАНПОЛАДЯН, С.П. КАЗАРЯН, Г.В. ЗАХАРЯН,
А.В. ЗАХАРЯН, И.В. АВИТИСЯН

Институт молекулярной биологии НАН РА, 375064, Ереван

Изучалось содержание продуктов перекисного окисления липидов и метаболизм фосфолипидов при гипоксии в мозговой и сердечной тканях, а также при введении производного аминокислоты - цистеина. Обнаружен нормализующий эффект указанного соединения, что проявляется уменьшением количества продуктов свободнорадикального окисления липидов и стабилизацией мембран в мозговой и сердечной тканях. Антигипоксическое действие препарата обусловлено наличием в фармакологической структуре никотиновой кислоты и серы.

Ռիսունմախրվել է լիպիդների գերօքսիդացման արդյունքների բանակը և ֆոսֆոլիպիդների մյութափոխանակությանը գլխուղեղի և սրտի հյուսվածքներում հիպոքսիայի ժամանակ և ցիստեինի ածանցյալների ներմուծման դեպքում: Ակատվել է կարգավորող էֆեկտ վերը նշված միացության կողմից, որը գլխուղեղի և սրտի հյուսվածքներում բերում է լիպիդների ազատ-ռադիկալային օքսիդացման արդյունքների քչացմանը և թաղանթների կայունացմանը: Պրեպարատի հակահիպոքսիային գործունեությունը պայմանավորված է նրա ֆարմակոլոգիական կառուցվածքում նիկոտինաթթվի և ծծմբի առկայությամբ:

The content of lipid peroxidation products and phospholipids metabolism in both brain and heart tissues during the hypoxia and influence of cysteine derivatives was studied. This study revealed, that cysteine derivatives have normalizing effect. It is displayed by decreasing of free radicals oxidation level and stabilization of brain and heart cell membranes. The antioxidant effects are conditioned by presence of nicotinic acid and sulphur in the chemical structure of these substances.

Гипоксия - ишемия - ПОЛ - фосфолипиды

Общей реакцией клеток на гипоксию является интенсификация свободнорадикальных процессов и подавление одной из важнейших реакций клетки - антиоксидантной активности. Возмещение активных форм кислорода в метаболические реакции в условиях недостаточности эндогенной антиокислительной активности оказывает прямое повреждающее действие на клетку, способствуя нарушению энергообразования, а именно АТФ-синтетической функции митохондрий и связанным с этим нарушением кальциевого гомеостаза, активацией фосфолипаз, накоплением неэстерифицированных жирных кислот, изменением фосфолипидного содержания в мембранных структурах клеток [1, 5]. В этой связи проблема поиска фармакологических веществ, проявляющих себя как антигипоксанты,

является весьма актуальной. Задачей настоящей работы явилось изучение влияния препарата, синтезированного в Институте тонкой органической химии и представляющего собой литиевую соль аминокислоты цистеина, содержащую в своей структуре никотиновую кислоту, на процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) и обмена фосфолипидов (ФЛ) при гипоксических состояниях головного мозга и сердца.

Материал и методика. Опыты поставлены на беспородных белых крысах, разделенных на 3 группы: 1 – интактные; 2 – животные с воспроизведенной гипоксией; 3 – животные с гипоксией, получавшие препарат.

Гипоксию головного мозга создавали одномоментной двусторонней перевязкой общих сонных артерий под эфирным наркозом (20 мин). Гипоксию сердца создавали 15-минутной окклюзией левой коронарной артерии.

Об активности ПОЛ судили по количеству первичных (диеновые конъюгаты), промежуточных (гидроперекиси) и конечных (малоновый диальдегид МДА) молекулярных продуктов ПОЛ. Содержание диеновых конъюгатов оценивали по характерному для них поглощению при 233 нм [6]. Гидроперекиси определяли по цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм [7], МДА – по реакции с тиобарбитуровой кислотой [2].

Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методом одномерной хроматографии в тонком слое силикагеля (фирмы Мерк, Германия) с использованием системы растворителей: хлороформ – метанол – аммиак 65:35:5. Фосфолипидные пятна идентифицировали с помощью соответствующих реагентов. Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде серной и азотной кислот с последующим расчетом количества неорганического азота в мкг на 1 мг сухой массы [3].

Результаты и обсуждение. В головном мозге и сердце интактных животных нами обнаружен определенный стационарный уровень интенсивности свободнорадикальных реакций (табл. 1). Гипоксия сопровождается активированием процесса ПОЛ, что выражается в увеличении содержания диеновых конъюгатов, гидроперекисей, МДА.

Таблица 1. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в головном мозге и сердце в норме, при гипоксии и при лечении (n=7)

Показатели ПОЛ	МОЗГ			СЕРДЦЕ		
	контроль	гипоксия	лечение	контроль	гипоксия	лечение
		1	2		1	2
Диеновые конъюгаты, нмоль/мг белка	1,63 ± 0,2	3,8 ± 0,23*	2,0 ± 0,15*	1,2 ± 0,11	4,0 ± 0,15*	1,5 ± 0,3*
Гидроперекиси, E ₅₄₀ нмоль/мг белка	0,55 ± 0,02	0,91 ± 0,03*	0,65 ± 0,03*	0,43 ± 0,03	0,86 ± 0,05*	0,52 ± 0,02*
МДА, нмоль/мг белка	5,8 ± 1,2	10,3 ± 1,4*	6,5 ± 1,8*	3,2 ± 0,5	7,8 ± 0,7*	4,4 ± 0,6*

1 – приводится достоверность отличий по сравнению с контролем

2 – приводится достоверность отличий от данных, полученных при изучении животных с гипоксией, не получавших препарат. * P<0,001

Первичный механизм зарождения свободных радикалов при ишемии сердца остается проблематичным, однако в литературе имеются данные относительно существования в патологически измененных тканях определенных факторов, оказывающих стимулирующее влияние на течение реакций радикалообразования [2]. Введение производных цистеина приводит

к заметному уменьшению содержания продуктов ПОЛ в головном мозге и сердце животных с экспериментальной гипоксией. Известно, что серосодержащие сульфгидрильные соединения активно разрушают гидроперекиси как в ФЛ, так и в свободных жирных кислотах [1]. Кроме того, цистеин участвует в синтезе глутатиона, одного из основных компонентов ферментов антирадикальной защиты клетки — глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы [4]. Нам представляется, что введение производных цистеина приводит к увеличению эндогенного глутатиона, в результате чего может повышаться содержание указанных ферментов, оказывающих антиоксидантное действие.

Таблица 2. Количественное содержание ФЛ в головном мозге и сердце в норме, при гипоксии и при лечении, % от суммы (n=7)

Фосфолипиды	МОЗГ			СЕРДЦЕ		
	контроль	гипоксия 1	лечение 2	контроль	гипоксия 1	лечение 2
ЛФХ	6,87 ± 0,85	15,82 ± 1,3 [*]	8,87 ± 1,2 [*]	4,13 ± 0,63	15,26 ± 0,71 [*]	6,28 ± 0,62 [*]
МФИФ	8,52 ± 0,8	6,79 ± 0,7	9,41 ± 0,8 p < 0,05	4,36 ± 0,52	7,72 ± 0,44 [*]	5,37 ± 0,32 [*]
СФМ	10,45 ± 0,9	16,85 ± 1,0 [*]	11,78 ± 1,2 ^{**}	6,26 ± 0,64	8,83 ± 0,62	7,36 ± 0,73
ФХ	35,13 ± 1,4	29,54 ± 1,3 ^{***}	33,88 ± 1,5 ^{***}	34,4 ± 1,5	28,86 ± 1,4 ^{***}	33,72 ± 1,2 ^{***}
ФХ	12,53 ± 1,2	11,84 ± 0,9	11,67 ± 1,2	8,66 ± 0,43	7,26 ± 0,55	9,63 ± 0,63
ФЭ	16,35 ± 0,9	12,86 ± 1,1 ^{***}	14,98 ± 0,9 ^{**}	26,33 ± 0,9	21,42 ± 0,71 [*]	25,72 ± 0,59 [*]
К	9,83 ± 1,2	6,31 ± 1,3 [*]	10,0 ± 1,2 ^{**}	15,88 ± 0,82	10,63 ± 0,6 [*]	12,27 ± 0,5 ^{***}

1 - приводится достоверность отличий по сравнению с контролем

2 - приводится достоверность отличий от данных, полученных при изучении животных с гипоксией, не получавших эти препараты. * - P<0,001; ** - P<0,01; *** - P<0,05.

ПОЛ неразрывно связано с изменением состава липидов мембран-ФЛ. Изучение спектра ФЛ в мозговой и сердечной тканях при гипоксических состояниях позволило обнаружить определенные закономерности, а именно и в мозговой, и в сердечной наблюдается увеличение содержания лизофосфатидилхолинов (ЛФХ). Существует несколько путей метаболизма ЛФХ, нарушение которых может привести к накоплению этих ФЛ. Первой ферментативной реакцией является гидролиз фосфатидилхолинов (ФХ) при участии фосфолипаз А₁ и А₂, увеличение активности которых может привести к накоплению ЛФХ. При гипоксических состояниях в условиях недостаточности АТФ нарушается активность Na, K- АТФ-аз, в результате чего в клетках накапливаются ионы Ca²⁺, которые являются активаторами фосфолипаз. Второй причиной накопления ЛФХ в тканях при гипоксии является ингибирование активности лизофосфолипазы, участвующей в превращении ЛФХ в глицерофосфохолин и жирную кислоту. Активность этого фермента в сердечной мышце в несколько раз выше таковой фосфолипазы [8].

Заслуживает внимания уменьшение содержания кардиолипидов (КЛ) при гипоксии в мозговой и сердечной тканях. Известно, что АТФ-АДФ-синтетаза находится в окружении КЛ. Было установлено, что каждая

молекула АТФ-АДФ-синтетазы образует комплекс с шестью молекулами КЛ [9], нарушение липидного окружения фермента может привести к изменению его активности.

Выявлено уменьшение содержания ФХ, ФЭ. Существует взаимосвязь между указанными ФЛ и Са-насосом. Установлено, что активность Са-насоса может регулироваться процессом метилирования ФЭ, приводящим к образованию ФХ [9]. Введение животным с гипоксией производных цистеина приводит к частичной нормализации изученных процессов. Необходимо подчеркнуть, что наличие в фармакологической формуле препарата никотиновой кислоты и лития способствует проявлению более выраженных антигипоксикантных и противоишемических свойств, что выражается в стабилизации фосфолипидного спектра. Исследование препарата, обладающего низкой токсичностью, может представлять определенный научно-практический интерес.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И.* Свободные радикалы в живых системах, М., ВИНТИ, 1991.
2. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов и биологических мембранах, М., Наука, 1972.
3. *Зубер В.Л.* В кн: Методы биохимических исследований Л., изд-во ЛГУ, 1982.
4. *Кулинский В.И., Колесниченко А.С.* Успехи современ.биологии, 113, вып. 1, 107-122, 1990.
5. *Осипов А.П., Азизова О.А.* Успехи биол.химии, 31, 180-208, 1990.
6. *Романова Л.А., Стальная И.Д.* В кн: Современные методы и биохимии, М., Наука, 1977.
7. *Стальная И.Д.* там же.
8. *Gross R.W., Sobel B.E.* J.Biol. Chem. 257, 6702-6708.
9. *Strittmatter W.J., Hirata F.* Biochem. biophys. Res. Commun, 88, 147-153, 1973.

Поступила 03.IV.2006

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 577.354.2 : 611.843.1

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ СВЕТОПОВРЕЖДЕНИЯ В СЕТЧАТКЕ ГЛАЗА БЕЛЫХ КРЫС

Л.А. ПОГОСЯН

Институт биохимии им. Бунятяна НАН РА, 375014, Ереван

Изучались морфологические изменения, возникающие при светоповреждении в различных участках сетчатки глаза белых крыс. Выявлено, что сильнее всего поражаются центральная часть сетчатки, что выражалось в полной деструкции наружных сегментов палочек, а также уменьшении толщины наружного ядерного слоя сетчатки (НЯС). В периферической сетчатке изменения были выражены в меньшей степени. В дальнейшем методика может быть применена для моделирования дегенеративных процессов в сетчатке.

Անվտանգ առնետների աչքի ցանցաթաղանթում հետազոտվել են կառուցվածքային փոփոխությունները, որոնք առաջանում են լույսով վնասման հետևանքով: Բացահայտվել է, որ առավել վնասվում էր ցանցաթաղանթի կենտրոնական հատվածը. ինչը արտահայտվում էր ցուպիկների արտաքին սեգմենտների լրիվ քայքայմամբ. ինչպես նաև բարակում էր արտաքին կորիզային շերտը (ՍԿՇ): Պերիֆերիկ ցանցաթաղանթում փոփոխություններն արտահայտված են ավելի քիչ: Հետազոտում լուսավնասման տվյալ մեթոդը կարելի է կիրառել ցանցաթաղանթում դեգեներատիվ պրոցեսների մոդելավորման համար:

The structural changes after light induced damage in different parts of albino rat retina have been studied. It has been revealed, that mostly was damaged the central part of retina which is visible by full destruction of rod outer segments as well by reduction of the outer nuclear layer (ONL) of the retina. In peripheral parts degenerative changes were less extensive. In further this method can be used for modeling of retinal degeneration.

Сетчатка глаза - фоторецепторы - светоповреждение

Свет в зрении может выступать двояко: и как носитель сенсорной информации, и как потенциально опасный повреждающий фактор.

Свет, оказывая влияние на молекулярные и клеточные механизмы, приводит к изменениям в структуре и физиологии сетчатки глаза [13]. Длительное действие света повышенной интенсивности на сетчатку приводит к светоповреждению ее зрительных клеток.

В основе механизмов светового повреждения сетчатки лежат процессы фотосенсибилизированного свободнорадикального окисления полиненасыщенных жирных кислот, белков и ДНК [1, 4, 5, 7]. Фотосенсибилизаторами могут служить как экзогенные, так и эндогенные хромофоры и, в первую очередь, ретиналь и продукты его превращения [2].

Также активизируется ферментативный ряд каспаз и происходит экспрессия некоторых генов, которые активируют механизмы апоптоза клеток

[6]. Нарушается процесс фототрансдукции, фотоокисленный родопсин теряет способность к регенерации [2]. В результате происходит апоптоз и некроз фоторецепторных клеток. Наиболее опасным для зрительного аппарата является излучение в диапазоне 320–550 нм, что соответствует максимуму поглощения основных хромофоров [1, 11].

Существует мнение, что воздействие света играет определенную роль в старении сетчатки и возникновении старческой макулярной дегенерации [4]. Экспериментальное светоповреждение широко используется в исследовательской практике для воспроизведения некоторых патологий и дегенеративных заболеваний сетчатки, в частности, пигментного ретинита [6]. Нами поставлена задача получить приемлемую модель светоповреждения у беспородных белых крыс, а также исследовать и оценить морфологические изменения в различных отделах сетчатки, возникающие при светоповреждении.

Материал и методика. В эксперименте использовались белые беспородные крысы-самки массой 150–180 г, находившиеся на обычном рационе со свободным доступом к воде. Животных содержали при освещенности 30–50 лк. Световое повреждение вызывали следующим образом. Крыс помещали в ящик из прозрачного органического стекла, разделенный на 4 отсека металлическими решетками (по одной крысе в каждый отсек). Был обеспечен постоянный доступ к воде и корму. Источником света служили 4 люминесцентные лампы дневного света, мощностью 20 Вт, которые располагались снаружи ящика: 2 лампы на высоте 15 см от дна ящика и на расстоянии 7–8 см от боковых стенок, а две лампы – на высоте 70 см от дна непосредственно над верхним краем ящика. Освещенность внутри ящика составляла 2500 лк (измерено люксметром Ю 116). Такое расположение ламп было выбрано с тем, чтобы облучение крыс было равномерным, и интенсивность повреждения не зависела от местоположения животного. Перед экспериментом крыс подвергали темновой адаптации в течение 12–14 ч. Затем следовала световая экспозиция в течение 24 или 48 ч. Температура воздуха внутри ящика в течение облучения не превышала комнатную температуру и находилась в пределах $20 \pm 2^\circ$. По окончании световой экспозиции животных помещали в клетки, где они содержались в обычных условиях. Крыс забивали на 10-й день путем удушения углекислым газом. За этим следовали быстрая декапитация и извлечение глазных яблок из глазниц. Для исследования брали только один глаз. Препарирование глазных яблок состояло из разрезания по экваториальной линии и удалении роговицы, радужной оболочки, хрусталика и стекловидного тела. Полученные глазные бокалы фиксировали в 10%-ном формалине на бикарбонатном буфере (pH 7.2) в течение 20–22 ч. После соответствующей проводки образцы заливали в парафин. Бокал резали на сиюм микротоме МС-2 в вертикальном направлении (толщина срезов 10–13 мкм), для исследования брались срезы, проходящие через диск зрительного нерва. Срезы окрашивали эозинном и гематоксилином. Исследование срезов проводили на световом микроскопе (Carl Zeiss Jena, Nu – 1) при увеличении $\times 150$ –300. Морфометрическую оценку проводили с помощью откалиброванной микрометрической насадки к микроскопу (Carl Zeiss

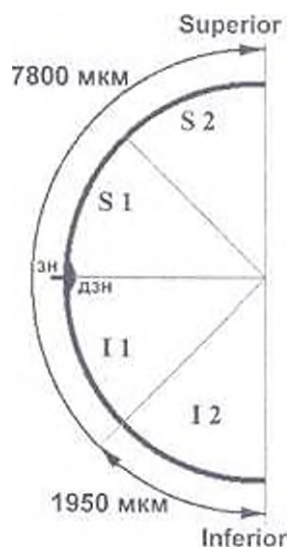


Рис. 1. Схематическое расположение квадрантов в глазном бокале

Лепя), при увеличении $\times 150$, по модифицированной нами методике, предложенной La Vail с соавт. [8].

Всю сетчатку условно делили на 4 равных квадранта. Толщину НЯС измеряли отдельно в каждом квадранте (по 5-6 измерений в каждом): в двух квадрантах, находящихся выше зрительного нерва (*superior* 1. *superior* 2), и двух квадрантах, находящихся ниже зрительного нерва (*inferior* 1. *inferior* 2) (рис. 1). Рассчитывали среднее арифметическое для каждого квадранта.

Замеры делали в среднем через каждые 300 мкм, одним замером измеряли участок длиной 100-150 мкм. Также оценивали состояние наружных сегментов фоторецепторов.

Результаты и обсуждение. Белые крысы являются удобным объектом для подобного рода исследований из-за повышенной чувствительности их сетчатки к повреждающему действию света. Это обусловлено отсутствием пигментации в радужной оболочке и пигментном эпителии, а также преобладанием в сетчатке палочек, которые гораздо легче повреждаются от света, чем колбочки. Последние в сетчатке глаза крысы составляют 1,5% [3].

Одним из наиболее явных морфологических признаков светового повреждения является уменьшение толщины или исчезновение наружного ядерного слоя сетчатки (НЯС) [13].

Считается, что уменьшение толщины НЯС является количественным показателем дегенеративных изменений в фоторецепторах [15].

Принято во внимание то, что способность фоторецепторов к восстановлению задействована тогда, когда в повреждении затронуты только наружные и внутренние сегменты, а при повреждении ядер фоторецепторов изменения необратимы [10, 14].

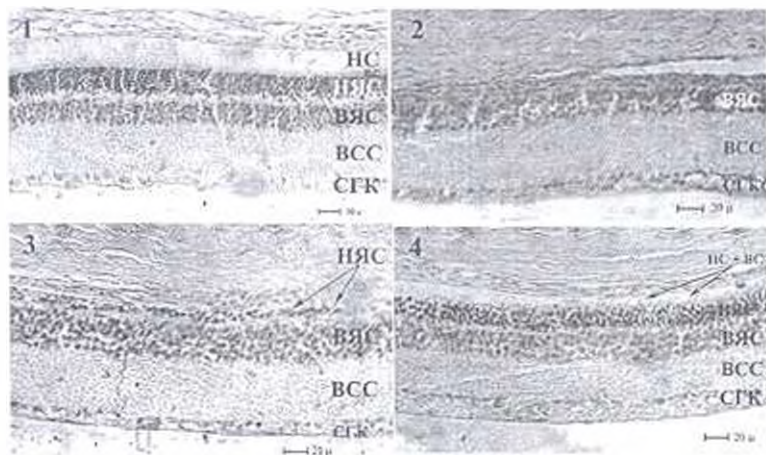


Рис. 2. Микрофотографии сетчатки. 1 - неповрежденная, нормальная сетчатки крысы. 2 - центральная часть сетчатки крысы, после 48 ч световой экспозиции. Заметно полное исчезновение слоев наружных и внутренних сегментов, а также наружного ядерного слоя, фактически полный некроз фоторецепторов. 3 - центральная часть сетчатки. Наблюдается полное исчезновение наружных и внутренних сегментов, наружный ядерный слой представлен 3 слоями. Такая морфологическая картина типична для 24-часовой экспозиции. 4 - периферическая часть сетчатки. Наружный ядерный слой незначительно утолщен. Видны фрагменты наружных и внутренних сегментов.

Условные обозначения: НС - наружные сегменты; ВС - внутренние сегменты; НЯС - наружный ядерный слой; ВЯС - внутренний ядерный слой; ВСС - внутренний синаптический слой; СГК - слой ганглиозных клеток. Метка - 20 мкм.

В нормальной, неповрежденной сетчатке (рис. 2-1) слой наружных сегментов палочек ровный, располагается строго вертикально и очень плотный, зазоры между отдельными сегментами очень маленькие. Средняя толщина слоя - 31 мкм. Слой внутренних сегментов тоже плотный, располагается под небольшим наклоном, хорошо окрашивается в красно-розовый цвет, чем и отличается от слоя наружных сегментов, который менее контрастен. НЯС состоит из 7-9 рядов ядер, которые плотно прилегают друг к другу. Фоторецепторная клетка имеет только одно ядро, диаметр которого около 5 мкм.

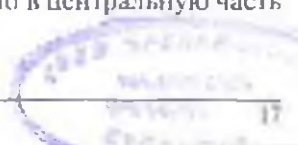
И при 24- и при 48-часовой экспозициях при освещенности 2500 лк в сетчатках крыс, забитых на 10 день, наблюдались глубокие деструктивные изменения в фоторецепторных клетках. В первую очередь повреждаются наружные и внутренние сегменты, которые сильно укорачиваются, но чаще полностью исчезают. При более глубоких повреждениях наблюдалось уменьшение количества ядер в НЯС, что проявляется в изменении ее толщины. Результаты замеров толщины наружного ядерного слоя в исследованных препаратах представлены в табл. 1.

Таблица 1. Толщина наружного ядерного слоя сетчаток, мкм ($M \pm m$), у контрольной и опытных групп животных и динамика изменения

Квадрант	S_1		S_2		I_1		I_2	
Контроль n = 6	27,7 ± 3,9		33,4 ± 4,9		32,5 ± 3,5		27,5 ± 1,6	
2500 лк/48 ч n = 10	16,9 ± 2,9	39 %	6,4 ± 4,7	81 %	10,1 ± 3,7	69 %	16,8 ± 3,4	39 %
2500 лк/24 ч n = 8	16,1 ± 4,0	42 %	8,5 ± 4,9	74 %	17,8 ± 3,4	45 %	22 ± 2,3	20 %

Примечание: n - количество подсчитанных образцов. $P < 0,1$

Согласно полученным данным, при экспозиции 48 ч толщина НЯС снижается на 75% в центральной части сетчатки (квадранты S_1, I_1) и на 39% в периферической ее части (S_2, I_2). При экспозиции 24 ч эти цифры соответствуют 60% и 31% по сравнению с толщиной НЯС в сетчатке необлученных крыс. При обоих режимах экспозиции картина изменений в центральной части сетчатки была идентичной. Сильнее всего поражался квадрант S_1 , при этом максимум поражения приходился на его центр. Наблюдалось полное исчезновение наружных и внутренних сегментов фоторецепторов. НЯС при этом представлен одним рядом ядер или полностью отсутствовал (рис. 2-2). Такая закономерность наблюдалась во всех исследованных препаратах и при обоих режимах светоповреждения. Подобные изменения свидетельствуют о апоптозе фоторецепторов, и их регенерация в этом квадранте маловероятна. Полученные данные сходны с результатами других исследований [3, 15], в которых также показано, что при светоповреждении наиболее сильно поражается центральный верхний квадрант. Возможно, это обусловлено тем, что именно в центральную часть фокусируется большая часть световых лучей.



В центральном нижнем квадранте (I_1) слои наружных и внутренних сегментов чаще всего отсутствовали или были сильно укорочены. а НЯС состоял из 1-3, реже 4 рядов ядер (рис. 2-3).

На периферии деструктивные изменения выражены меньше. В целом характер изменений в квадрантах S_1 и I_1 при обоих режимах экспозиции совпадает. Нижний периферический квадрант значительно меньше подвержен дегенеративным изменениям, что более заметно при 24-часовой экспозиции. В периферических квадрантах НЯС состоял из 4-6 рядов ядер. Ближе к центру квадрантов заметны слои сильно укороченных наружных сегментов (рис. 2-4). Лишь по краям сетчатки наблюдались участки с «нормальной» морфологической структурой.

Следует отметить некоторые морфологические особенности. Ядра располагались рыхло, межъядерные промежутки увеличены. Наружные сегменты при световом повреждении, если даже не укорачиваются, то сильно искривляются и слипаются друг с другом. Слой наружных и внутренних сегментов в поврежденной сетчатке слипаются и неразличимы, окрашиваются одинаково неколптрастно. Чаще наружные сегменты укорачивались пропорционально уменьшению толщины НЯС, в других случаях толщина слоев менялась непропорционально. Деструктивные изменения в нижележащих слоях сетчатки не выражены. Можно отметить лишь утолщение внутреннего синаптического слоя на тех участках, где фоторецепторы полностью отсутствовали, что может быть результатом воспалительного отека [13].

Для развития дегенеративных процессов необходимо время. Так, при исследовании сетчаток крыс, забитых на 3-й день после облучения 2500 лк / 48ч, заметных морфологических изменений обнаружено не было. Примечательно только небольшое укорачивание наружных сегментов палочек, наблюдаемое в центральных квадрантах.

Таким образом, при освещенности 2500 лк и экспозиции 24 ч в сетчатке белых крыс возникают глубокие дегенеративные изменения, которые несколько усиливаются при 48-часовой экспозиции. Данная методика светоповреждения и морфометрический метод его оценки можно применять для моделирования дегенеративных процессов в сетчатке и изучения протективного действия различных веществ и лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каламкаргов Г.Р., Островский М.А. Молекулярные механизмы зрительной рецепции, М., Наука, 2002.
2. Островский М.А., Федорович И.Б. Биофизика, 39, 1, 13-25, 1994.
3. Aonuma H., Yamazakia R., Watanabea I. Japanese Journal of Ophthalmology 43, 3, 171-179, 1999.
4. Boulton M., Rozanowska M., Rozanowski B. J. Photochem Photobiol. B: Biology 64, 144-161, 2001.
5. Bory D.C. Oxygen free radicals and tissue injury in Oxygen free radicals in tissue damage (eds. Tarr M. and Samson F.), Birkhauser, Boston, MA, 1993.
6. Chambers M.L., Organisciak D., Darrow R., Barsalou L., Stepczynski J., McDonald B., Lagali P.S., Wilton B.L., Wong P.W. Invest Ophthalmol Vi

Sci, 41, 4, 2000.

7. *Fridovich I.* Getting along with oxygen in Oxygen free radicals in tissue damage (eds. Tarr M. and Samson F.), Birkhauser, Boston, MA, 1993.
8. *LaVail M.M., Unoki K., Yasumura D., Matthes M.T., Yancopoulos G.D., Steinberg R.H.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 89, 11249-53, 1992.
9. *Moriya M., Backer B.N., Williams T.P.* Cell Tissue Res., 246, 607-621, 1986.
10. *Rapp L.M., Smith S.C.* Invest Ophthalmol Vis Sci., 33, 3367-3377, 1992.
11. *Reme C.E., Hafezi F., Murti A., Munz K., Reinboth J.J.* Light damage to retina and retinal pigment epithelium, in M. Marmor, T. Wolfensberger (Eds.), The Retinal Pigment epithelium, Oxford University Press, Oxford, 1998.
12. *Wyse J.P.* Can. J. Ophthalmology 15, 15-19, 1980.
13. *Zhang C., Lei B., Lam T., Yang F., Sinha D., Tsa M.* Invest Ophthalmol Vis Sci., 45, 8, 2004.

Поступила 13.11.2006

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 611.843.1-018.29+547.436

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТАУРИНА В СЕТЧАТКЕ ГЛАЗА ЯЩЕРИЦЫ, ЛЯГУШКИ И КРЫСЫ ПРИ ТЕМНОВОЙ И СВЕТОВОЙ АДАПТАЦИИ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

А.М. ПЕТРОСЯН, Л.А. ПОГОСЯН

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыяна ИАН РА, 375014, Ереван

Исследовано содержание таурина в сетчатке глаза и ретинальном пигментном эпителии (РПЭ) ящерицы (*Laudakia caucasica*), лягушки (*Rana ridibunda*), а также в сетчатке крысы в условиях темновой и световой адаптации с использованием метода тонкослойной хроматографии (ТСХ). Содержание таурина в сетчатке агам примерно 25 - 30 мМ, лягушек 1,5 мМ и крыс 3 - 4 мМ. В пигментном эпителии содержание таурина примерно на 30% ниже, чем в сетчатке. Установлено, что под воздействием света в сетчатке белых крыс концентрация таурина снижается, а в сетчатке агам и лягушек, наоборот, несколько повышается.

Հետազոտվել է տաուրինի պարունակությունը մողեսների (*Laudakia caucasica*) և գորտերի (*Rana ridibunda*) ցանցաթաղանթում և ցանցենոլ պիգմենտային էպիթելում (ՑՊԷ), ինչպես նաև սպիտակ վայրի առնետների ցանցաթաղանթում. նրբաշերտ քրոմոտոգրաֆիայի (ԼՇԶ) օգնությամբ մրնային կամ լուսային ադապտացման պայմաններում: Տաուրինի պարունակությունը կազմել է մոտ 25 - 30 մՄ, 1,5 մՄ և 3-4 մՄ համապատասխանաբար մողեսի, գորտի ու առնետի ցանցաթաղանթում համապատասխանաբար: Սողեսի և գորտի ՑՊԷ-ում տաուրինի պարունակությունը մոտ 30 %-ով ցածր էր համեմատած ցանցենոլ հետ: Լույսի ազդեցության ներքո, առնետի ցանցաթաղանթում տաուրինի քանակը նվազում է մինչդեռ մողեսի ու գորտի ցանցաթաղանթում այն հակառակը քաճրանում է:

It has been estimated taurine content in lizards (*Laudakia caucasica*) and frogs (*Rana ridibunda*) retina and retinal pigment epithelium (RPE) and in retina of wild type albino rats, under light and dark adaptation by thin layer chromatography (TLC). Content of taurine was estimated around 25 - 30 mM, 1,5 mM and 3 - 4 mM in lizard, frog and in rat retina respectively. In lizard and frog RPE taurine was around 30% lower compared with retina. Under light taurine was decreased in rat retina while in lizard and frog retina it was rather increased.

Таурин - сетчатка - пигментный эпителий - фоторецепторы

Таурин, 2-аминоэтансульфоновая кислота, простая по структуре - $\text{NH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{SO}_3\text{H}$ и химически стабильная свободная аминокислота, широко распространена в возбудимых клетках и тканях, таких как мозг, сетчатка, нервные ткани, сердце, мышцы, нейтрофилы и тромбоциты [13]. По сравнению с другими тканями и органами, в сетчатке позвоночных содержание таурина наиболее высокое и составляет 10-40 мМ [2, 4, 12]. Большая часть, 50-80 % таурина, содержащегося в сетчатке, приходится на фоторецепторные клетки [1, 8]. Таурин вместе с токоферолом и ретинолом

образуют мощную антиоксидантную систему сетчатки и пигментного эпителия [3, 6], он является также ингибиторным нейромедиатором в сетчатке. [3]. У кошек в результате таурин-дефицитной, казеиновой диеты развивается дегенерация сетчатки с последующей слепотой [14]. На ранних стадиях такая дегенерация обратима, если в рацион добавляется таурин [14]. В 1986 г. было сделано предположение, что таурин может участвовать в транспорте ретиноидов. [7,8]. Затем был синтезирован таурет - конъюгат таурина с ретинальдегидом [6]. Далее было установлено, что таурет - ретинилидентаурин-эндогенное соединение, содержащееся в сетчатке и в пигментном эпителии животных [8, 9, 10]. При конъюгировании с таурином жирорастворимые алдегиды ретинола переходят в водорастворимую форму, чем могут способствовать регенерации родопсина [8]. В данном исследовании была поставлена задача определить содержание таурина в сетчатке и ретинальном пигментном эпителии (РПЭ) животных с различным типом сетчаток в условиях темновой и световой адаптации методом тонкослойной хроматографии. В качестве объекта исследования были выбраны кавказские агамы (*Laudakia caucasica*) - ящерицы, ведущие дневной образ жизни, обладающие колбочко-доминантной сетчаткой, озерные лягушки (*Rana ridibunda*), обладающие смешанной, палочко - колбочковой сетчаткой и белые крысы, ведущие ночной образ жизни и имеющие в сетчатке в основном только палочки.

Материал и методика. Животных перед забоем подвергали темновой (18 ч в полной темноте) или световой (агам при освещенности 5000 лк в течение 2 ч, а лягушек и крыс - при 500 лк в течение 3 ч) адаптации. Животных забивали сразу же после окончания адаптации, затем декантировали, а глаза экзюлировали. Глазное яблоко разрезали по экваториальной линии, роговицу, радужную оболочку, хрусталик и стекловидное тело удаляли. Из полученного бокала сетчатку и пигментный эпителий осторожно извлекали и отделяли друг от друга. С темноадаптированными животными все процедуры проводили в темной комнате при свете красного фотофонаря. Полученные образцы сетчаток и пигментного эпителия быстро взвешивали, прибавляли 300 мкл 0,1 М перхлорной кислоты и гомогенизировали. Образцы оставляли на 2 ч для экстракции, после чего центрифугировали при 12000 об/мин в течение 15 мин (центрифуга модели К-24). Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках «Арисорб» (несуший слой силикагель), применяя в качестве подвижной фазы смесь бутанол / уксусная кислота / дистиллированная вода в пропорции 12 : 3 : 5. Заранее были приготовлены растворы стандарта таурина (Sigma Chemical Co., США) различных концентраций - 0,25; 0,5; 1; 2,5 и 5 мМ, на 0,1 М перхлорной кислоте. Растворы стандарта таурина и супернатанты проб в количестве по 1 мкл наносили с помощью автоматической пипетки на пластинки и хроматографировали, восходящим способом в течение 2 ч. Для промывки полученных пятен пластинки опрыскивали 0,1%-ным раствором нингидрина в смеси уксусной кислоты и этианола в пропорции 1:9, с последующим нагреванием пластинок в термостате при 120° в течение 5 мин. Содержание таурина в пробах определяли визуально, по интенсивности окраски полученных пятен, учитывая влажный вес проб и степень их разбавления.

Результаты и обсуждение. Во всех исследованных образцах таурин легко идентифицировался тем, что пятна стандартного и эндогенного таурина находились на одной линии и в данной системе имели тот же R_f , равный 0,33 - 0,35. Было измерено по 6 проб темно- и светоадаптированных сетчаток и РПЭ лягушек и агам, и 8 проб сетчаток крыс. Следует отметить, что динамика изменений во всех пробах совпадала. В отличие от лягушек и



Рис. 1. Хроматограмма сетчаток крысы.
I – темноадаптированные сетчатки (II и III)
C – светoadaptированные сетчатки (III и IV)

агам, у белых крыс слой РПЭ не развит и не пигментирован. Ввиду трудностей при разделении сетчатки и РПЭ у крыс эти слои гомогенизировали вместе. Толщина слоя РПЭ у крыс 1-2 мкм, а сухой вес его составляет менее 2 % от сухого веса сетчатки, средняя величина которого 11 мг. В темноадаптированной сетчатке крысы концентрация таурина оценивалась примерно в 3-4 мМ (рис. 1). При световой адаптации (500 лк / 3 ч) содержание таурина несколько снижалось (рис. 1). Снижение содержания эндогенного таурина на свету отмечено и другими авторами [5, 17]. Также установлено, что при освещении из изолированной сетчатки крысы происходит выброс эндогенного таурина [15].

Из всех изученных образцов наименьшее количество таурина

обнаружено в РПЭ лягушек. Независимо от адаптации его концентрация не превышает 1 мМ (рис. 2, III и IV). В сетчатке лягушки концентрация таурина немного выше 1,3-1,5 мМ. Заметно, что при световой адаптации (500 лк / 3 ч) концентрация таурина возрастает примерно на 30 % по сравнению с сетчаткой темноадаптированных лягушек. Наиболее высокое содержание таурина обнаружено в колбочкодоминантной сетчатке агам. В условиях темновой адаптации концентрация его в сетчатке глаза агам составляет порядка 25 мМ. На свету в их сетчатке было отмечено повышение концентрации таурина на 20-25 %. В РПЭ, наоборот, при световой адаптации содержание таурина несколько снижается. Следует отметить, что глаз агам имеет довольно оригинальное строение. Глазное яблоко имеет не шарообразную, как у других животных, а грушевидную форму. Диаметр передней камеры глаза в 3 раза меньше диаметра задней камеры. Агамы ведут дневной образ жизни и большую часть дня проводят на солнце, при освещенности несколько десятков тысяч люкс. В таких условиях скорость распада родопсина с образованием цитотоксического свободного транс-ретинала и свободных радикалов очень высока. Интересно отметить, что таурин играет важную роль в защите фоторецепторов от повреждающего действия света [6, 11].

Итак, было показано, что в зависимости от адаптации и типа сетчатки содержание эндогенного таурина изменяется. В палочкодоминантной сетчатке белой крысы при световой адаптации концентрация таурина уменьшается. У лягушек с палочко-колбочковым типом сетчатки и у агам с полностью колбочковой сетчаткой на свету содержание таурина, наоборот, возрастает. По-видимому, роль таурина в функционировании этих двух типов

фоторецепторных клеток разная. И у лягушек, и у агам в РПЭ в среднем содержание таурина ниже на 30-35 %, по сравнению с сетчаткой. Необходимо отметить, что таурин был обнаружен в омматидии (сложном глазу) кузнечика, причем на свету концентрация таурина в омматидии не изменялась и составляла 1,8 мМ, в то время как концентрация аспартата резко возрастала, с 2,6 до 5 мМ [12].

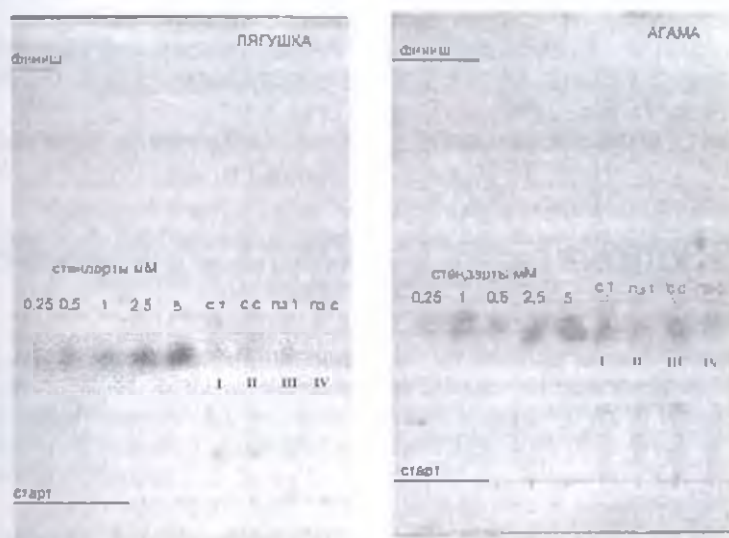


Рис. 2. Хроматограмма сетчатки и РПЭ лягушки (слева) и агамы (справа)
ст - темноадаптированная сетчатка, сс - светлоадаптированная сетчатка,
пз - темноадаптированный РПЭ, пс - светлоадаптированный РПЭ

В настоящее время в литературе рассматриваются несколько возможных функций таурина в сетчатке. Установлено, что таурин участвует в регуляции процесса фосфорилирования белков, входящих в каскад фототрансдукции, регулирует поток ионов Ca^{2+} в фоторецепторы, выступает в качестве ингибиторного нейромедиатора в синапсах сетчатки, обладает сильной антиоксидантной активностью [3, 6]. Кроме того, таурин - осмолит и участвует в поддержании нормального объема клетки [3, 6]. Таурин, конъюгируясь с ретиноидами, переводит их в водорастворимую форму и тем самым участвует в транспорте ретиноидов из сетчатки в РПЭ и обратно [8, 9]. Изменение содержания таурина в сетчатке и пигментном эпителии под воздействием света или темноты, установленное в данном исследовании, может быть по-разному связано с каждым из вышеупомянутых процессов. Вместе с тем, метод ТСХ, несмотря на свою доступность, не позволяет делать более точные измерения. Тем не менее, он позволил оценить концентрацию таурина в сетчатке и РПЭ и выяснить динамику изменений, индуцированных светом.

Эти исследования были проведены при поддержке гранта ANSEF 05-NS-biochem-821-60 и 0629 Министерства науки и образования РА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lake N., Verdon-Smith C. Curr. Eye Res. 8, 163-173, 1989.
2. Lima L., Obregon F., Rouso T., Quintal M., Benzo Z., Auladell C. Neurochem Res. 29, 247-255, 2004.
3. Militante J., Lombardini J.B. Nutr. Neuroscience, 5, 75-90, 2002.
4. Orr H.T., Cohen A.I., Lowry O.H. J. Neurochem. 26: 609-611, 1976.
5. Oraedu A., Voaden M., Marshall J. J. Neurochem. 35, 1361-1369, 1980
6. Pasantes-Morales H., Cruz C. Brain Res.330, 154-157, 1985.
7. Petrosian A.M., Haroutounian, J.E. "Taurine: Functional Neurochemistry, Physiology, and Cardiology", (Eds. Pasantes-Morales, H., et al.). Wiley-Liss, New York, 71-475, 1990.
8. Petrosian A.M., Haroutounian J.E., Zueva L.V. "Taurine-2: Basic and Clinical Aspects". (Eds. Huxtable R., Azuma J. et al.), Plenum Publ. Corp., New York and London, 333-342, 1996
9. Petrosian A.M., Haroutounian J.E., Gundersen T., Blomhoff R., Fugelli K. and Kanli H. TAURINE 4: Taurine & Excitable Tissues. (Eds. by Della Corte L. et al.) Kluwer Academic Publ., 453-460, 2000.
10. Petrosian A.M. US Patent No: 6,391,924 B1, 2002
11. Petrosian A.M., Haroutounian J.E., Poghosyan L.A., Stepanyan R.V., Topchyan H.V. Electronic journal of Natural sciences, 1 (6), 55-59, 2006.
12. Petrosian A.M., Poghosyan L.A., Haroutounian J.E. Amino Acids, 30, 2006.
13. Schuller-Levis G.B., Park E. FEMS Microbiology, Letters, 226,195-202. 2003
14. Schmidt S.Y., Berson E.L., Watson, G., Huang, C. Inves.Ophtal.Vis.Sci. 16, 673-678, 1977.
15. Schmidt S.Y. Exp. Eye Res. 26, 529-535, 1978.
16. Voaden M.J., Lake N., Marshall J., Morjaria B. Exp. Eye Res. 25, 249-257, 1977.
17. Wasowicz M., Morice C., Ferrari P., Callebert J., Versaux-Botteri C. Invest Ophtalmol Vis Sci; 43, 813-820, 2002.

Поступила 13.11.2006

Биол. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 577.112.382.3

ВЛИЯНИЕ АЭРАЦИИ НА ПОЛУЧЕНИЕ D-АЛАНИНА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ СПОСОБОМ

А.А. ВАРДАНЯН, ЯН ПИՆՅ՝, С.Ж. АРУТՅՈՅԱՆ,
А.Е. АГАДЖАՅԱՆ, А.С. САԳՅԱՆ

ЗАО "ИНИ Биотехнологии" МТЭР РА, 375056, Ереван

Институт микробиологии и вирусологии Сибирской сельскохозяйственной
академии наук, СУАР, г.Урумчи, ул. Хан Чан 38

Исследовали влияние скорости растворения кислорода и коэффициента массообмена при получении D-аланина из рацемата аланина методом биodeградации. Определены оптимальные величины данных параметров и установлено, что их отклонение как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения отрицательно сказывается на деградации L-аланина в культуральной жидкости.

Ուսումնասիրվել է օրգանի լուծման արագության և մասսափոխանակման գործակցի ազդեցությունը ալանինի ռացեմատից բիոդեգրացիոն եղանակով D-ալանինի ստացման վրա: Որոշված են տվյալ պարամետրերի օպտիմալ արժեքները և ցույց է տրված որ դրանց շեղումները օպտիմալից ինչպես դեպի փոքր, այնպես էլ դեպի մեծ արժեքները բացասաբար է անդրադառնում L-ալանինի քայքայմանը:

The influence of oxygen dissolving rate and mass-exchange coefficient on D-alanine production from racemic alanine by biodegradation has been studied. Optimal values of these parameters were determined. Their deviations, both, towards increase and decrease exhibited the negative effect on L-alanine destruction in the fermentation broth.

Аминокислоты - D-аланин - массообмен

Для жизнедеятельности штаммов при глубинном культивировании микроорганизмов важное значение имеет кислород, подводимый в клетку вместе с питательными веществами. Степень насыщенности среды кислородом во многом определяет рост и развитие аэробных организмов. Кислород является не только акцептором электронов, но выступает также в качестве регулятора активности дыхательной цепи [1, 2].

Исходя из вышесказанного, следует, что при глубинном культивировании штаммов-реструктуров L-аминокислот важным и необходимым является определение потребности культуры в кислороде. Эта потребность может меняться во времени в зависимости от фазы культивирования.

Целью настоящей работы является изучение влияния аэрации и коэффициента массообмена на деградацию L-аланина.

Материал и методика. Работу проводили со штаммом-реструктором *Proteus vulgaris* АА-5, селекционированным в "НИИ Биотехнологии".

Посевной материал для засева лабораторных ферментеров выращивали в колбах Эрленмейера емкостью 250 и 750 мл с объемом среды 20 мл и 50 мл соответственно, на качалке с числом оборотов 220-240 в мин при температуре 30° в течение 14-16 ч. Культивирование штамма-реструктора проводили на разработанной нами питательной среде в лабораторных ферментерах марки Biomat-S с рабочим объемом 7,0 л, при скорости растворения кислорода 1,0-5,0 г O_2 /л/ч, температуре 30-32°, pH 7,5 -7,8, в течение 35 ч.

Концентрацию растворенного кислорода в культуральной жидкости определяли с помощью датчика в потоке жидкости, вытекающей из пробника. По показаниям датчика оценивали величину концентрации растворенного кислорода.

Массопередачу кислорода в ферментационных средах определяли методом статической дегазации азотом. Метод заключается в регистрации кривой физической абсорбции или десорбции кислорода в расчете коэффициента массопередачи (K_L) как тангенса угла наклона в зависимости от времени по полудогарифмической шкале.

Результаты и обсуждение. Нами изучалось влияние скорости растворения кислорода и коэффициента массообмена на биодеградацию L-аланина в рацемате аланина. Исследования проводили на питательной среде, где в качестве единственного источника углерода использовали L-аланин. Скорости растворения кислорода варьировали в пределах 1,0-5,0 г O_2 /л/ч, шаг варьирования - 0,5 г O_2 /л/ч.

Исследования показали, что скорость растворения кислорода оказывает

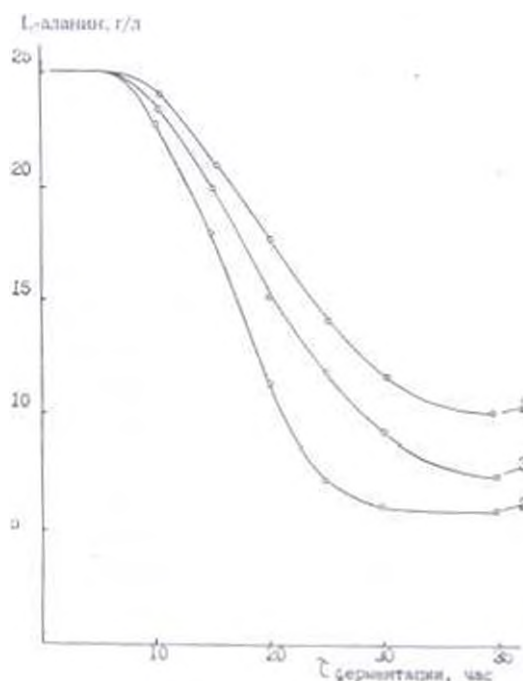


Рис. Деградация L-аланина при различных величинах скорости растворения кислорода: 1 - 1,0-2,5 г O_2 /л/ч, 2 - 3,0-3,5 г O_2 /л/ч, 3 - 4,5-5,0 г O_2 /л/ч

существенное влияние на уровень деградации L-аланина. Установлено, что максимальная деградация L-аланина (18-20 г/л) наблюдается при скорости растворения кислорода 3,0-3,5 г O_2 /л/ч. Отклонение изучаемого параметра как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения отрицательно влияет на деградацию L-аланина. Так, при скорости растворения кислорода 1,0-2,5 г O_2 /л/ч деградация L-аланина составляет 8-10 г/л. Увеличение скорости растворения кислорода от оптимального значения до 4,5-5,0 г O_2 /л/ч также приводит к снижению деградации L-аланина в культуральной

жидкости (рис.) что, по-видимому, связано с понижением активности деградирующих ферментов. Полученные результаты коррелируют с известными литературными данными о необходимости сравнительно высоких скоростей растворения кислорода на протяжении всего процесса получения D-аминокислот [3, 4].

Таблица. Характеристика потребления кислорода штамма-режруктора *Proteus vulgaris* AA-5 и степень деградации L-аланина в разных фазах его роста

Параметры	Продолжительность культивирования, ч				
	0-8	8-15	15-25	25-30	30-35
μ (мг О ₂ /д мин)	4,05	11,5	18,8	13,3	5,19
$K_L a$ (ч ⁻¹)	40	120	200	140	50
Степень деградации L-аланина, %	0	15	76	50	36

При изучении влияния аэрации на деградацию L-аланина учитывали потребность культуры в кислороде в различных фазах ее роста. В настоящее время такие сведения в литературе отсутствуют.

Исходя из этого, изучена скорость потребления кислорода для определения оптимального значения $K_L a$, необходимого для удовлетворения потребности культуры в кислороде в различных фазах ее роста.

Данные о скорости потребления кислорода культурой в динамике приведены в таблице.

Исходя из этого, вычислялись необходимые значения $K_L a$ по формуле:

$$K_L a = \frac{Q}{C^* - C_{\infty}}$$

где Q - скорость потребления кислорода популяциями микроорганизмов в i -той фазе; C^* - равновесная концентрация, которая, согласно литературным данным, при температуре 30° принимается равной 6,0 мг/л; C_{∞} - критическая концентрация кислорода. Расчетные значения $K_L a$ приведены в таблице. $K_L a$ - необходимый коэффициент массообмена на i -той стадии.

Предварительно были исследованы массообменные характеристики аппарата ($K_L a$) при помощи метода статической дегазации азотом при различных режимах аэрации и перемешивания, а затем в процессе ферментации подбирались режимы аэрации и перемешивания, обеспечивающие значения $K_L a$, приведенные в таблице.

Установлено, что максимальная степень деградации L-аланина (76%) достигается при значении $K_L a$, равной 200 ч⁻¹ при продолжительности ферментации 15-25 ч.

Таким образом, на основании изучения влияния скорости растворенного кислорода и коэффициента массопередачи ($K_L a$) можно сделать вывод, что максимальный уровень деградации L-аланина достигается и

интервале 15-25 ч роста при значении скорости растворения кислорода, равной 3,0-3,3 г О₂ /л/ч и значении $K_{La}=200$ ч⁻¹. Показано, что отклонение значений скорости растворения кислорода и коэффициента массопередачи от их оптимума отрицательно сказывается на исходе биодетоксикации L-аланина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайцева Э.М., Шильникова Н.Н. Прикл. биохимия и микробиол., 18, 3, 310-315, 1992.
2. Тома М.К., Швинка Ю.Э., Руклиша М.П. В сб.: Влияние условий культивирования на активность продуцентов.-Рига: Зинатне, 37-46, 1995.
3. Fukahashi E., Furui M., Seko H., Shibutani T. Appl. Microbiol. Biotechnol. 47, 347-351, 1997.
4. Fukahashi E., Furui M., Seko H., Shibutani T. Appl. Microbiol. Biotechnol. 47, 173-179, 1997.

Поступила 13 IV. 2006

Биол. журн. Армении. 1-2 (58), 2006

УДК 579.66:575.224:579.871.8

ПОЛУЧЕНИЕ ПРОДУЦИРУЮЩИХ L-АРГИНИН ШТАММОВ НА ОСНОВЕ *BREVIBACTERIUM FLAVUM* ATCC 14067

А.О. КОЛЯН

ЗАО «НИИ Биотехнологии», 375056, Ереван

На основе штамма дикого типа *Brevibacterium flavum* ATCC 14067 путем многоступенчатой селекции получен штамм-продуцент *Br. flavum* НК-19А (ile⁻, D-ser⁻, ArgHx⁺, TA⁺), продуцирующий в условиях колбочной ферментации до 13 г/л L-аргинина. Полученный штамм-продуцент можно использовать в качестве реципиента для молекулярного клонирования гомологичных и гетерологичных ключевых генов биосинтеза аргинина.

Brevibacterium flavum ATCC 14067 շտամի վայրի տիպից բազմափուլ սելեկցիայի ճանաչարհով ստացվել է *Br. flavum* НК-19А (ile⁻, D-ser⁻, ArgHx⁺, TA⁺) շտամ-արտադրիչ, որը սրվակային ֆերմենտացիայի պայմաններում արտադրում է մինչև 13 գ/լ L-արգինին: Ստացված շտամ-արտադրիչը կարելի է օգտագործել որպես ռեցիպիենտ արգինինի կենսասինթեզի առանցքային հոմոլոգ և հետերոլոգ գեների մոլեկուլային կլոնավորման համար:

The strain-producer НК-19А (ile⁻, D-ser⁻, ArgHx⁺, TA⁺) of *Brevibacterium flavum* producing up to 13 g/l of L-arginine in flask fermentation has been obtained via multi-step selection of the wild *Br. flavum* ATCC 14067. This strain-producer can be used as a recipient for molecular cloning of the homologous and heterologous key genes of the arginine biosynthesis.

L-аргинин - штамм-продуцент - коринеформные бактерии - мутант

Аминокислота аргинин широко используется в фармакологии, медицине, пищевой промышленности и сельском хозяйстве. Промышленное получение L-аргинина основано преимущественно на микробиологическом способе производства.

Биосинтез его у микроорганизмов начинается с L-глутаминовой кислоты и проходит восемь ферментативных стадий. Пять стадий протекают с последовательным образованием N-ацетилированных соединений. После деацетилирования N-ацетилорнитина синтезируется орнитин, превращение которого в аргинин осуществляется еще через три стадии. У прокариотов в пути биосинтеза аргинина имеется два альтернативных способа удаления ацетильной группы. Представители семейства *Enterobacteriaceae* [5] и термофильная археобактерия *Sulfolobus solfataricus* [15] используют линейный путь – деацетилирование с помощью фермента ацетилорнитиназы. Другие прокариоты и все изученные до сих пор эукариоты используют циклический путь – реакцию трансацетилирования, т.е. перенос ацетильной группы с ацетилорнитина на глутамат для её повторного использования [1,4,12].

Различие в механизме ацетилирования находит отражение в регуляции биосинтеза конечным продуктом, т.е. самим аргинином. Если для первого способа мишенью является только первый фермент — N-ацетилглутаматсинтетаза, то для второго способа мишенью является второй фермент — N-ацетилглутаматфосфотрансфераза, а в некоторых случаях первый и второй ферменты биосинтеза [3, 8].

Высокоактивные штаммы-продуценты L-аргинина у коринеформных бактерий были получены комбинированием в одном штамме мутаций устойчивости к аналогам аргинина (штаммы со снятым ингибированием конечным продуктом) и мутаций, приводящих к устойчивости к кетомалоновой, фтормалоновой, монофторуксусной кислотам или к аналогам аспарагиновой кислоты. Наиболее активный штамм *Br. flavum* продуцирует до 36 г/л L-аргинина [2].

В последнее время для усовершенствования коринеформных штаммов-продуцентов широко используется технология рекомбинантных ДНК [6, 7]. Альтернативный традиционным методам подход заключается в клонировании генов, кодирующих ферменты биосинтеза аминокислот. Экспрессия этих генов под контролем собственных или гетерологичных сильных промоторов, не подверженных регуляции конечным или промежуточными продуктами, приводит к повышению синтетической активности и улучшению технологических характеристик штаммов-продуцентов.

Целью настоящей работы являлось получение штамма-продуцента L-аргинина у *Br. flavum*, который можно использовать в качестве реципиента для молекулярного клонирования гомологичных и гетерологичных ключевых генов биосинтеза аргинина.

Материал и методика. Характеристика использованных в работе штаммов приведена в табл. 1. Для культивирования штаммов использовали жидкий и агаризованный мясо-пептонный бульон (МПБ, МПА) и минимальную среду Гловера следующего состава, %: NH_4Cl — 0,5; NH_4NO_3 — 0,1; Na_2SO_4 — 0,2; K_2HPO_4 — 0,4; KH_2PO_4 — 0,1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,01; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,001; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ — 0,001; агар — "Difco" — 1,6; глюкоза — 1,0; а также биотин — 200 мкг/л; тиамин — 100 мкг/л; L-изолейцин — 40 мкг/мл.

Для получения мутантов в качестве мутагена использовали N-метил-N'-нитрозогуанидин (НГ). Клетки культур, выращенные в мясо-пептонном бульоне, отмывали от среды и выдерживали в анистатном буфере (рН 5,6), содержащем 200 мкг/мл НГ в течение 30 мин при температуре 30°. Для получения аналогоустойчивых мутантов отмытые от мутагена клетки высевали на чашки со средой Гловера, содержащей аналоги аминокислот в минимальной концентрации, подавляющей рост исходного штамма. Через 5 — 7 дней выросшие колонии отбирали и сеяли истощением до отдельных колоний для повторной проверки.

Чувствительные к D-серину мутанты отбирали после пенициллинового обогащения мутагенизированной культуры. Для этого его в течение четырех часов инкубировали с аэрацией в среде, содержащей пенициллин (1000 мкг/мл) и D-серин (50 мкг/мл).

Способность к сверхсинтезу аргинина определяли микробиологическим методом. Для этого суспензии испытуемых культур с помощью репликатора наносили на минимальную среду Гловера, засеянную тест-культурой, ауксотрофной по аргинину. Способность продуцировать аргинин оценивали по наличию и размерам зоны роста тест-культуры вокруг капель анализируемых колоний.

Способность мутантов к накоплению аргинина определяли в ферментационной среде следующего состава, %: сахараза — 13,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 4,5; KH_2PO_4 — 0,4; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,2; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,001; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ — 0,001; CaCO_3 — 5,0; а также тиамин — 300

мкг/л; биотин – 300 мкг/л; L-изолейцин – 200 мкг/мл. Посевной материал выращивали в МПБ с аэрацией.

Ферментацию проводили в течение 72 ч в колбах Эрленмейера (500 мл), содержащих 14 мл ферментационной среды и 7 % посевного материала, на качалке со скоростью вращения 220-240 об/мин, при температуре 30°.

Оптическую плотность бактериальной суспензии измеряли на КФК-2 (при длине волны $\lambda = 540$ нм) после предварительного растворения мела в среде с помощью 2N HCl.

Содержание аргинина в культуральной жидкости (КЖ) определяли бумажной хроматографии в системе бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:1) и колориметрически по модифицированному методу Сакагучи [11].

Таблица 1. Характеристика использованных в работе штаммов

Штамм	Родительский штамм	Характеристика	Источник получения
<i>Br. flavum</i> ATCC 14067	-	Дикий тип	Музей культур НИИ Генетика
<i>Br. flavum</i> ATCC 14067-1	<i>Br. flavum</i> ATCC 14067	ile ⁻	Получен в настоящей работе
<i>Br. flavum</i> HK-1	<i>Br. flavum</i> ATCC 14067-1	ile ⁻ , D-ser ⁺	"
<i>Br. flavum</i> HK-19	<i>Br. flavum</i> HK-1	ile ⁻ , D-ser ⁺ , ArgHx ⁺	"
<i>Br. flavum</i> HK-19A	<i>Br. flavum</i> HK-19	ile ⁻ , D-ser ⁺ , ArgHx ⁺ , TA ⁺	"

Результаты и обсуждение. Как уже отмечалось, предшественником аргинина в пути биосинтеза является глутаминовая кислота, для синтеза которой необходимо значительное количество АТФ, который используется также на последующих этапах пути биосинтеза аргинина [3]. С целью повышения пула АТФ у дикого типа штамма *Br. flavum* ATCC 14067 путем мутагенеза был получен ауксотрофный по изолейцину мутант *Br. flavum* ATCC 14067-1, который был использован как исходный для получения штамма-продуцента аргинина. Сверхсинтез аргинина, так же как и других аминокислот с неразветвленным путем биосинтеза, не может быть обусловлен единичной ауксотрофной мутацией. Поэтому получение аналогустойчивых мутантов с нарушенной регуляцией синтеза является необходимым этапом для конструирования штамма-продуцента [9]. Известно, однако, что глутаматсинтезирующие бактерии природно устойчивы к высоким концентрациям аналогов аргинина. Одним из способов повышения чувствительности культур к аналогам может служить внесение в геном мутации, обуславливающей чувствительность клетки к D-серину (D-ser⁺), в результате чего увеличивается проницаемость мембраны для аргинина и его аналогов [9]. Для получения D-ser⁺ мутантов была подобрана минимальная ингибирующая доза (50 мкг/мл) и путем тотальной проверки мутагенизированных клеток на среде с D-серином и без него были отобраны 113 чувствительных мутанта. Из них один мутант – *Br. flavum* HK-1, стабильно сохраняющий чувствительность к D-серину и обладающий повышенной чувствительностью к аналогам аргинина, был использован как исходный штамм для получения продуцента.

Для определения минимальной подавляющей дозы аналогов аргинина было изучено влияние различных концентраций гидроксамата аргинина, канаванина, D-аргинина и гомоаргинина на рост штамма *Br. flavum* ATCC 14067-1 и его D-серин чувствительного мутанта *Br. flavum* НК-1 (табл.2).

Таблица 2. Чувствительность штаммов *Br. flavum* ATCC 14067-1 и *Br. flavum* НК-1 к аналогам аргинина

Штамм	Гидроксамат аргинина, мг/мл			Канаванин, мг/мл			D-аргинин, мг/мл			Гомоаргинин, мг/мл		
	1	8	10	1	2	3	5	10	15	5	10	15
<i>Br. flavum</i> ATCC 14067-1 (ile ⁻)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Br. flavum</i> НК-1 (ile ⁻ , D-ser ⁻)	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-

Примечание: "+" - рост клеток на среде с аналогом, "-" - отсутствие роста клеток на среде с аналогом.

Устойчивые к минимальным ингибирующим дозам аналогов мутанты были получены под действием нитрозогуанидина в описанных выше условиях. Было получено всего 1500 устойчивых к использованным аналогам мутантов. Предварительный отбор их с повышенной активностью синтеза L-аргинина проводили микробиологическим методом с использованием ауксотрофной по аргинину тест-культуры. Из проверенных колоний только 31 обладала способностью к сверхсинтезу аргинина. Все они были отобраны из устойчивых к 10 мг/мл гидроксамату аргинина (ArgHx) вариантов. Проверка этих мутантов в условиях колбочной ферментации показала, что они способны продуцировать от 2,0 до 8,5 г/л аргинина. Это свидетельствует о дерепрессии ферментов биосинтеза аргинина. Для дальнейшей работы был выбран мутант *Br. flavum* НК-19, продуцирующий до 8,5 г/л аргинина.

Последующие исследования показали, что отобранный мутант, кроме устойчивости к гидроксамату аргинина, проявляет устойчивость также к канаванину, D-аргинину и гомоаргинину.

Из литературы известно, что у мутантов, устойчивых к сульфогуанидину, повышается внутриклеточный пул АТФ, который может существенно повлиять на уровень синтеза аргинина [13]. Исходя из этого, у штамма *Br. flavum* НК-19 нами были получены мутанты, устойчивые к сульфогуанидину. Однако среди проверенных мутантов не было выявлено ни одного с более высоким выходом аргинина. Возможно, мутация ауксотрофности по изoleyцину у штамма *Br. flavum* НК-19 обеспечивает достаточно высокий уровень пула АТФ для реализации потенциальных биосинтетических возможностей полученного штамма-продуцента и дальнейшее его увеличение на данном этапе селекции не приводит к повышению выхода аргинина.

У штамма *Br. flavum* НК-19 была получена коллекция ауксотрофных

мутантов, нуждающихся в серине, лейцине, лизине, гистидине и уридине. Результаты колбочной ферментации показали, что у полученных мутантов не только не наблюдается повышение аргинин-продуцирующей способности, но в некоторых случаях резко (до 3,0-4,0 г/л) понижается количество синтезируемого аргинина.

Известные из литературы высокоактивные штаммы-продуценты были получены и среди устойчивых к тиазолидину (ТА) мутантов [10,14]. Поэтому у штамма *Br. flavum* НК-19 методом ИГ-мутагезиса были получены устойчивые к ТА (4 мг/мл) мутанты. Из проверенных микробиологическим методом 200 мутантов отобрано три штамма, которые в условиях колбочной ферментации продуцируют до 12-13 г/л аргинина.

Один из них, обозначенный *Br. flavum* НК-19А (ile⁻, D-ser⁻, ArgHx⁺, ТА⁻), оказался наиболее стабильным в отношении сверхсинтеза аргинина и был выбран для дальнейшей работы в качестве реципиента для молекулярного клонирования гомологичных и гетерологичных ключевых генов биосинтеза аргинина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сакарян В.А., Овсепян А.С., Метт И.Л., Кочикий А.В., Петросян П.К. Генетика, 26, 11, 1915-1925, 1990.
2. Akashi K., Nakamura Y., Tsuchida T., Yoshii H., Ikeda S. Patent FR 2490674, 1982.
3. Cunin R-In: Biotechnology series 3. Amino Acids; Biosynthesis and regulation, 53-59, 1983.
4. Davis R.H. Microbiol. Rev., 50, 280-313, 1986.
5. Glansdorff N. Cell and Molecular Biology, Washington, DC, 1, 321-344, 1987.
6. Kuwahara Y., Hashiguchi K., Nakamatsu T., Kurahashi O., Mori Y., Ito H. US Patent 6 255 086, 2001.
7. Kuwahara Y., Kurahashi O., Nakamatsu T. US Patent 20030153058 A1, 2003.
8. Leisinger T., Haas D. J. Biol. Chem., 250, 1690-1693, 1975.
9. Nakayama K., Yoshida H. Agric. Biol. Chem., 36, 1675-1684, 1972.
10. Ogawa T., Hirao N., Furukawa S., Azuma T., Kuratsu Y. Japan Patent 6 000 092 A, 1994.
11. Rosenberg H., Ennor A.H., Morrison J.F. Biochem. J., 63, 153-159, 1956.
12. Sakaryan V., Kochikyan A., Mett I., Legrain C., Charlier D., Pierard A., Glansdorff N. J. Gen. Microbiol., 1638, 125-130, 1992.
13. Tsuchida T., Kubota K., Yoshinaga F. Agr. Biol. Chem., 52, 2201-2207, 1986.
14. Tsuchida T., Ohtsuka N., Takeuchi H., Uchihori H. Japan Patent 2 186 995 A, 1990.
15. Van de Casteele M., Demarez M., Legrain C., Glansdorff N., Pierard A. J. Gen. Microbiol., 136, 1177-1183, 1990.

Поступила 09.11.2006

Биолог. журн. Армении. 1-2 (58), 2006

УДК 579.811.24

ХАРАКТЕРИСТИКА АЛКАЛОФИЛЬНОЙ СЕРНОЙ ПУРПУРНОЙ БАКТЕРИИ, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ СОЛОНЧАКОВ АРАРАТСКОЙ ДОЛИНЫ

А.Х. ПАРОНЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 2201, г. Абовян

Из промывных вод содовых солончаков Араратской долины выделена и охарактеризована алкалофильная серная пурпурная бактерия. На основании морфологических свойств бактерия отнесена к роду *Thiospirillum*. Установлено, что выделенная культура отличается от типового штамма местом обитания, температурой роста, значением pH, алкалофильностью, галотолерантностью, а также способностью окислять тиосульфат.

Արարատյան հարթավայրի սոդային աղուտների հոսքաջրերից անջատվել և բնութագրվել է ալկալոֆիլ ծծմբային պուրպուր բակտերիա, որն իր մորֆոֆիզիոլոգիական առանձնահատկությունների հիման վրա դասվել է *Thiospirillum* ցեղին: Դաստավել է, որ անջատված կուլտուրան տիպային շտամից տարբերվում է տարածման վայրով, աճման ջերմաստիճանով, pH-ի նշանակությամբ, ալկալոֆիլությամբ, հալոտոլերանտությամբ, ինչպես նաև քիսուլֆատ օքսիդացնելու ընդունակությամբ:

Alcalophilic sulfur purple bacterium from underground waters of soda salted soils of Ararat plain has been isolated and characterized. On the basis of morphological and physiological properties the culture was assigned to *Thiospirillum* Genus. The isolated culture differs from typical species by environment, growth temperature, pH range, alkaliphility, halotolerance, as well as by ability to oxidize thiosulfate.

*Пурпурные серные бактерии - алкалофилы - содовые солончаки -
Thiospirillum*

В последнее время, благодаря исследованиям различных природных содовых водоемов, установлено существование экстремофильных фотобактерий, развивающихся при высоких значениях pH [6, 9]. Однако имеются ограниченные данные об особенностях распространения и геохимической деятельности подобных организмов в содовых солончаках [2, 3]. Изучение таксономического и функционального разнообразия фототрофных бактерий содовых солончаков позволит нам глубже оценить биогеохимическую значимость этой группы микроорганизмов и использовать их для улучшения экологической обстановки солончаков.

В настоящей работе описываются свойства еще одной алкалофильной фотобактерии, выделенной из промывных вод содовых солончаков Араратской долины.

Материал и методика. Исходным материалом для выделения экстремофильных форм фототрофных бактерий служили промывные воды содовых солончаков Араратской

долины. Накопительные культуры получали методом Виноградского и в цилиндрах и внесением образцов непосредственно в элективные среды, предназначенные для серных фотобактерий [1]. Чистоту культур проверяли микроскопированием, а также высевали на МПА и среду Постгейта для обнаружения сульфатредуцирующих бактерий. Количественный учет бактерий проводили методом прямого счета клеток и посевом исследуемого материала в жидкие питательные среды методом предельных разведений.

Морфологию и тонкое строение клеток выделенных культур изучали с помощью светового микроскопа (МББ-1А с фазовым контрастом) и электронного микроскопа БС-613 (Тесла). Выращивание культуры в анаэробных условиях проводили в полностью заполненных колбах, закрытых притертыми пробками. Рост культуры определяли измерением ОП суспензии на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 660 нм. Потребность бактерий в витаминах определяли прямым добавлением их в среды в разных сочетаниях. Витамины добавляли к средам из стерильных водных растворов в следующих количествах, мкг %: биотин - 0,5; тиамин - 100; никотиновая кислота - 100; пиридоксин - 100; α -аминобензойная кислота - 50; витамин B_{12} - 10. Контролем служила среда без витаминов. Тиосульфат определяли методом Шена [10], сульфат - методом Доджсона [4], сульфид - методом Гансена [5].

Спектры поглощения целых клеток культуры и экстракта каротиноидов в видимой области записывали на регистрирующем спектрофотометре "Specord UV-vis". Экстракцию каротиноидов проводили методом Ненсена [7], идентификацию - на основании спектров поглощения и величин R_f отдельных пигментов, разделенных путем тонкослойной хроматографии на силикагелевых пластинках "Silufol".

Результаты и обсуждение. Таксономическая структура фототрофных бактерий солончаков Араратской долины преимущественно представлена экстремофильными пурпурными серными бактериями. Ранее нами из солончаков был выделен и изучен ряд фотобактерий, принадлежащих родам *Chromatium*, *Ectothiorhodospira*, *Thiocapsa* [3]. Эти данные свидетельствуют о том, что в солончаках существуют условия для развития фототрофных бактерий. В продолжении этих исследований нами было обследовано около 20-и образцов промывных исл. взятых из разных частей солончаков. Значение рН проб 8,5-9,5; карбонаты составляли 13,5-16%, а растворимые соли - 1,4-2,1%. Из этих образцов выделен представитель алкалофильной пурпурной серной бактерии рода *Thiospirillum*. Численность бактерии не превышала 60 клеток на 1 мл воды. Как правило, развитие фототрофных бактерий в содовых солончаках приурочено к поздневесеннему и раннелетнему периодам. Следует отметить, что исследуемый род является малоисследованным, и в литературе (также и в определителях) имеются сведения всего о двух видах. Это *Thiospirillum jenense* и *T. sanguineum*.

Культуральные особенности и морфология. Культура грамотрипательная, мезофильная, температурные границы роста 25-35° при оптимуме 30°. Пределы рН роста 7,5-9,8; оптимальный рН - 9,0. Оптимум солености среды 0,5-1% NaCl, однако штамм галотолерантен и хорошо растет и при присутствии в среде до 6% NaCl.

Клетки в виде изогнутых палочек с закругленными концами средним размером 2,5-3,0 мкм x 35-40 мкм. В разных стадиях роста форма клеток меняется. В конце стационарной фазы встречаются клетки размером более 100 мкм (рис. 1).

Подвижные за счет полярно расположенного пучка жгутиков. Старая культура теряет подвижность и обволакивается обильной слизью. Газовые

вакуоли отсутствуют. Внутринитоплазматическая мембранная система везикулярного типа (рис. 2).



Рис. 1. *Thiopirillum* sp. выделенный из колодезиков Араратской долины. Фазовый контраст, $\times 2000$



Рис. 2. Строение фотосинтетического аппарата *Thiopirillum* sp. Электронная микрофотография ультратонкого среза, $\times 20000$

В присутствии в среде сульфида в качестве промежуточного продукта в клетках образуются равномерно распределенные глобулы элементарной серы (рис. 1). Размножаются путем деления.

Пигменты. Цвет клеточной суспензии темно-красный. Такой цвет свойствен *T. jenense*. Изучение спектральных характеристик культуры свидетельствует о наличии бактериохлорофилла *a* и каротиноидов. На спектре поглощения целых клеток культуры обнаруживаются два основных максимума поглощения при 444 и 510 нм, а на спектре поглощения экстракта каротиноидов — при 471 и 499 нм и плечо при 445 нм (рис. 3).

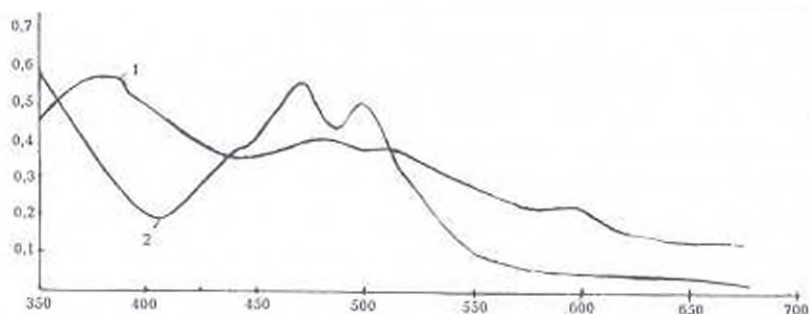


Рис. 3. Спектры поглощения целых клеток (кривая 1) и экстракта каротиноидов (кривая 2) алкалофильной серной — пурпурной бактерии *Thiopirillum* sp., выращенной на ср. Пфеннига в анаэробных условиях на свету.

Основными каротиноидами являются ликопин (Rf 0.85) и родопсин (Rf 0.71). Оранжевое и желтое пятна каротиноидов выявлены также при Rf 0.09 и 0.93 соответственно.

Физиология. Штамм является облигатным фотоавтотрофом, растет только в анаэробных условиях на свету. В качестве донора электронов для ассимиляции CO_2 использует сульфид, серу и тиосульфат, которые окисляет до сульфата. В присутствии сульфида и бикарбоната способен фотоассимилировать ацетат. В качестве источника азота исследуемый организм использует соли аммония. В

качестве факторов роста нуждается в витамине В₁₂.

Как показывают полученные данные, выделенная нами культура физиологическими особенностями несколько отличается от описанных в литературе видов рода *Thiospirillum*. Так, температура роста у типовой культуры 20-25°, а pH роста 7,2-7,5, тогда как температурные границы роста изучаемой культуры 28-35°, pH роста 7,5-9,8. Типовой штамм не нуждается в NaCl. Изучаемый же штамм для роста требует 0,5-1% NaCl, а толерантность к соли составляет около 6%. Выделенная культура в качестве электрон - донора способна усваивать тиосульфат, что не наблюдается у типового штамма. Описанные различия помогают микроорганизму приспосабливаться к разнообразным физико-химическим и экологическим условиям солончака.

По данным Мадиган [8], алкалофильными считаются фотобактерии, которые растут при pH выше 8,0 [8]. В описанных в литературе алкалофильных фототрофных бактериях, куда включены девять штаммов шести родов, не числится род *Thiospirillum*. Выделенная нами культура является алкалофилом и морфофизиологическими особенностями близка к роду *Thiospirillum*. Последующее проведение генетического анализа даст возможность, основываясь на фенотипических особенностях, назвать выделенный вид алкалофильной фотобактерией.

Наконец, распространение экстремофильных, в частности алкалофильных форм серных пурпурных бактерий в солончаках, свидетельствует о том, что биогеохимические циклы в них не обходятся без фототрофных бактерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кондратьева Е.П. Фотосинтезирующие бактерии. АН СССР, Гл. 1-6. 3-193, М.: 1963.
2. Лысах Л.В., Трошин Д.В., Чернов И.Ю. Микробиология, 63, 4, 312-314, 1994.
3. Паронян А.Х. Биолог. журн. Армении. 53, 1-2, 41-50, 2001.
4. Dodgson K.S. Biochem. J. 78, 2, 312-319, 1961.
5. Hansen T.A., Emerden H. Van. Arch. Microbiol. 86, 1, 49-56, 1972.
6. Jones B.E., Grant W.D., Duckworth A.W., Owenson G.G. Extremophiles. 2, 1, 191-200, 1998.
7. Jensen S.L. The constitution of some bacterial carotenoids and their bearing on biosynthetic problems. Trondheim. 104-118, 1962.
8. Madigan M.T. Photosynthesis Research. 76, 157-171, 2003.
9. Oda Y., Wanders W., Huisman L.A., Meijer W.G., Gottschal J.C., Forney L.J. Appl. Environ. Microbiol. 68, 3467-3477, 2002.
10. Schön N.-H. Acta Chem. Scand. 13, 3, 525-532, 1959.

Поступила 25 X 2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 567.866.4

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА НА РОСТ И ПИГМЕНТООБРАЗОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛИ *SPIRULINA* *PLATENSIS*

А.Х. ПАРОНИЯН, Э.К. АФРИКЯН

Институт микробиологии ИАН Армении, 2201, г. Абовян

Республиканский Центр Депонирования Микробов ИАН Армении, 2201, г. Абовян

Изучена возможность выращивания сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis* на средах, разработанных на основе гидрокарбонатных минеральных источников Армении. Показано, что рост и пигментообразование спироулины зависят от количества ионов Fe^{2+} , содержащихся в минеральных водах. Установлено, что минеральные источники, содержащие всего 2мг/л ионов железа, вполне пригодны для выращивания микроводоросли.

Ուսումնասիրվել է *Spirulina platensis* կապտա-կանաչ ջրիմուռի աճեցման հնարավորությունը Հայաստանի հիդրոկարբոնատային հանքային աղբյուրների հիման վրա մշակված միջավայրերի վրա: Գույց է տրվել, որ սպիրուլինայի աճն ու պիգմենտացացումը կախված են հանքային ջրերում առկա երկաթի իոնների քանակից: Հաստատվել է, որ ընդամենը 2մգ/լ երկաթի իոններ պարունակող հանքային աղբյուրները լիովին պիտանի են միկրոօրգանիզմի աճեցման համար:

The possibility of growth of *Spirulina platensis* on the nutrient media with different hydrocarbonate mineral springs of Armenia has been investigated. The dependence of intensity of growth and pigments formation on maintenance of ions Fe^{2+} in the springs has been shown. The level of Fe^{2+} ions 2mg/l in mineral springs are quite suitable for growth of this microalgae.

Микроводоросли - спироулина - минеральные источники - ионы железа

Сине-зеленая водоросль *Spirulina platensis* является объектом биотехнологии как продуцент белково-витаминных кормовых и пищевых продуктов, разных биологически активных веществ [1]. Из клеток спироулины выделен активный сульфатсодержащий полисахарид, который обладает антивирусным свойством [8]. Использование доступных и дешевых питательных сред для выращивания *S. platensis* даст возможность получать ценную биомассу без больших расходов. Ранее нами были разработаны дешевые питательные среды на основе минеральных вод Армении [6]. Было установлено, что интенсивность роста и пигментообразования спироулины зависят от содержания в источниках ионов Ca^{2+} и $K^{+}Na^{+}$. Обычно повышение концентрации металлов в среде выращивания подавляет жизнедеятельность микроводорослей [4]. В связи с тем что минеральные источники Армении резко отличаются содержанием ионов железа представляло интерес изучение роста и спектральной характеристики *S.*

platensis на минеральных водах с разным содержанием железа, что и являлось целью настоящей работы.

Материал и методика. В качестве объекта исследования использовали экологически чистую культуру микроводоросли *S. platensis* из коллекции РЦДМ. Культуру поддерживали на минеральной среде Заррука [11]. Среда Заррука служила также контрольной средой для изучения накопления биомассы и пигментов. Культуру выращивали в стационарных условиях в 250 мл колбах Эрленмейера с ватными пробками в люминестате при круглосуточной освещенности 1500 лк и температуре 30-32°. В качестве посевного материала использовали 8-суточную культуру спирулины, выращенной на среде Заррука и тех же условиях. В качестве основ питательных сред использовали гидрокарбонатные минеральные воды Айодзорской, Ширакской и Личк-Мартунинской групп Армении. Источники использовали после добавления незначительных количеств неорганических источников азота и углерода. Перед употреблением воды отфильтровывали через ватный фильтр. Посевной материал вносили в количестве 3% от объема среды. За ростом следили в течение 12 сут, что соответствует экспоненциальной фазе роста. О физиологическом состоянии культуры судили по цвету культуральной жидкости и по форме клеток. Контроль за культурой осуществляли с помощью фазово-контрастного микроскопа. Рост культуры контролировали визуально и определением сухого веса биомассы. Биомассу собирали пропусканием культуральной жидкости через фильтр Зейтца с использованием мембранных фильтров (размер пор 0,17 микрон). О содержании пигментов судили по спектрам поглощения интактных клеток культуры, которые снимались на регистрирующем спектрофотометре "Specord" UV-vis.

Результаты и обсуждение. Изучение выращивания спирулины на минеральных средах позволило выявить некоторые характерные особенности роста и пигментообразования культуры. Микроводоросль *S. platensis* является облигатно-фототрофным и экстремофильным организмом, но очень чувствительна к свету и ионам разных металлов [5, 10]. Минеральные источники Армении в основном не содержат тяжелые металлы. Из содержащихся в минеральных источниках металлов интерес представляет железо. Спирулина для своего роста требует небольшое количество ионов Fe^{2+} . Так, общепринятая для выращивания микроводоросли среда Заррука содержит всего 10 мг/л железа [7]. Минеральные воды Армении резко отличаются содержанием ионов Fe^{2+} (0,1-1120 мг/л). В качестве нормы для отнесения минеральных вод к железистым принято содержание железа больше 20 мг/л [2]. В исследованных нами источниках содержание Fe^{2+} колеблется в пределах 2,0-30 мг/л. Основываясь на ранее полученные данные, при выборе источника одновременно учитывали содержание в них ионов Ca^{2+} и $K^{+}+Na^{+}$. Результаты опытов показали, что количество ионов железа выше 30 мг/л заметно влияет на рост спирулины. Обобщенные результаты проведенных экспериментов представлены в таблице.

Как видно из данных таблицы, наиболее хороший рост наблюдается на контрольной среде Заррука. А из минеральных источников хороший рост обеспечили не те воды, которые содержат одинаковые с контролем концентрации железа, а те, которые содержали всего 1,5-2,0 мг/л (Ахгел, Малишка). Такое различие, по-видимому, связано с видовой особенностью изучаемой микроводоросли, ибо условия выращивания во всех случаях были одинаковые. Торможение роста спирулины наблюдается при содержании металла 30 мг/л, а полное его подавление - при концентрации

Таблица. Рост *S. platensis* на минеральных водах Армении с разным содержанием ионов железа (биомасса, сухой вес, г/л)

Место- рождение	Тип воды	Общая минерализация, г/л	Содержание CO ₃ , г/л	Содержание Fe ²⁺ , мг/л	Начальный рН	рН после добавок	Температура, С°	Рост с дополнительными источниками		
								NaHCO ₃	NaNO ₃	NaHCO ₃ + NaNO ₃
Арагат (Ахгел)	Гидрокарбонатно- натриево-кальциево- магниевые	5,1	2,3	1,5	7,9	9,2	18	0,44	0,41	0,82
Арзни	Гидрокарбонатная кальциевая- магниевая	5,8	1,8	28,8	6,6	8,7	23	0,32	0,30	0,41
Бжни	Гидрокарбонатная хлоридно-натриевая- кальциевая	4,6	2,5	10,0	6,9	8,9	25	0,36	0,35	0,63
Кечут		2,9	1,6	10,0	6,0	8,6	13	0,41	0,40	0,61
Малнишка	Гидрокарбонатная хлоридно-натриево- кальциево-магниевые	6,8	1,6	2,0	7,7	9,2	17	0,40	0,40	0,82
Ашотк (Сепасар)	Гидрокарбонатно- хлоридные	1,7	2,0	20,0	6,9	8,8	13	0,42	0,40	0,47
Личк (Севан)	Гидрокарбонатная хлоридно-натриево- кальциево-магниевые	2,2	1,0	30,8	6,8	8,9	11	0,39	0,39	0,40
Контроль	ср.Заррука			10,0	9,0			0,83		

ниже 0,5 и выше 40 мг/л.

Увеличение концентрации железа в источниках одновременно влияет и на спектральную характеристику целых клеток культуры. Анализ спектров поглощения не показал никаких различий в качественном составе пигментов. Отмечается изменение их количественного состава, наиболее выраженное при концентрации железа выше 30 мг/л.

Известно, что, кроме хлорофилла, светособирающими компонентами спироулы являются фикоцианин и каротиноиды. Полосы поглощения при 443 и 684 нм принадлежат хлорофиллу а, 623 нм — фикоцианину. Плечо около 500 нм обусловлено поглощением каротиноидов [9]. С увеличением концентрации ионов железа происходит общее понижение биосинтеза пигментов, однако их излпппнее количество особенно подавляет биосинтез фикоцианина (рис.). При этом цвет культуры принимает желтоватый оттенок.

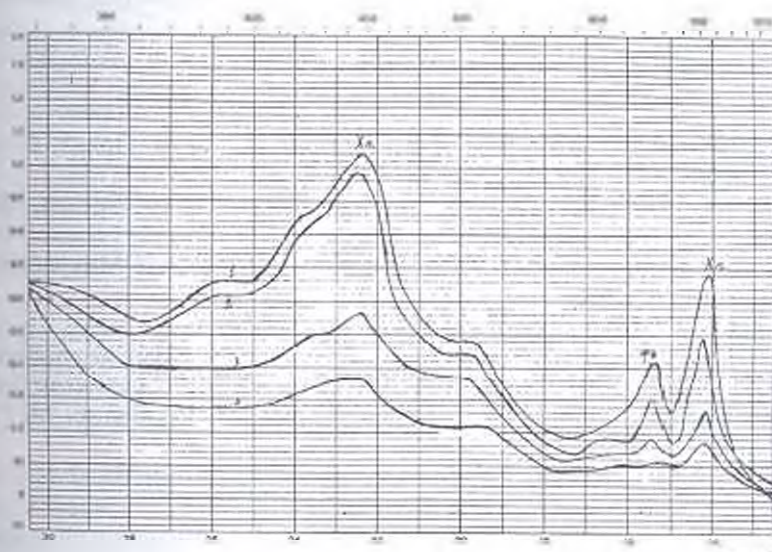


Рис. Спектры поглощения целых клеток *S. platensis*, выращенных на минеральных источниках с разным содержанием ионов железа: 1 — ср. Заррука; 2 — мин. вода Малишка; 3 — мин. вода Бжнн; 4 — мин. вода Личк.

Из испытанных источников по уровню пигментообразования наилучшим оказалась минеральная вода Малишка (кривая 2), содержащая всего 2 мг/л ионов железа. Низкий уровень пигментообразования наблюдается на среде, разработанной на основе минеральной воды Личк (кривая 4), в которой содержание ионов железа составляет 30,8 мг/л.

В течение роста нами велись морфологические наблюдения организма на фазово-контрастном микроскопе. Независимо от использованного минерального источника культура оказалась морфологически неоднородной. Следует отметить, что природная популяция *S. platensis* также отличается гетерогенностью по морфологическому составу и представляет смесь спиральных и прямых клеток [3]. Исследования показали, что большие

концентрации ионов железа влияют и на морфологическую организацию клеток культуры. Чем выше концентрация ионов Fe^{2+} , тем меньше закрученные в спираль клетки и больше прямые. Кроме этого, наблюдаются отдельные дегенеративные клетки, не имеющие ярко-зеленый цвет. Часто видны разорванные короткие кусочки таллома.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что минеральные источники, содержащие невысокие концентрации ионов железа (Малишка и Ахгел), обеспечивают нормальный рост и развитие микроводоросли и могут быть использованы в качестве питательных сред для выращивания *S. platensis*. Исходя из полученных данных, следует отметить, что при выборе среды выращивания на основе минеральных источников, следует учесть состав суммарного количества ионов, содержащихся в них. С другой стороны, изучение воздействия различных ионов, содержащихся в минеральных источниках, на рост и пигментообразование спироулины может стать предметом дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Большевцева Ю.В., Мажорова Л.Е., Терехова И.В. и др. Прикл. биохимия и микробиология, 39, 5, 571-576, 2003.
2. Геология Армянской ССР, Т.IX. Минеральные воды. Ереван, 140-471, 1969.
3. Игнатъевская М.А., Тхукрал А.К., Бурдин К.С., Носов В.Н. Микробиология, 65, 5, 613-620, 1996.
4. Костяев В.Я. Микробиология, 49, 5, 821-824, 1980.
5. Левич А.П., Ревкова Н.В., Булаков Н.Г. Процесс "потребление-рост" в культурах микроводорослей и потребности клеток в компонентах минерального питания. Экологический прогноз. М: Изд-во МГУ. 132-139, 1986.
6. Паронян А.Х., Африкян Э.К. Биол. журн. Армении, 56, 3-4, 138-142, 2004.
7. Пиневич В.В., Верзилин Н.П., Михайлов А.А. Физиология растений, 15, 3, 1037-1046, 1970.
8. Hajashi T., Hajashi K., Maeda M., Kojima J. Natural Products, 59, 1, 83-87, 1996.
9. Mohanty P., Srivastava M., Krishna K.B. *Spirulina platensis* (Arthrospira). Ed. Vonshak A. London: Taylor and Francis. 1997. P.17-42.
10. Rakhimberdieva M.G., Biochenko V.A., Karapetyan N.V., Stadnicukh I.N. Biochemistry, 40, 15780-15788, 2001.
11. Soeder C.J. Hydrobiologia, 72, 1, 197-209, 1980.

Поступила 25.X 2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 631.461

ВЛИЯНИЕ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В АССОЦИИИ С ПОЧВЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ НА АЗОТФИКСАЦИЮ СОИ И ПШЕНИЦЫ

Т.У. СТЕПАНИЦ, И.М. АЛЕКСАНИ, Ф.С. МАТЕВОСЯН, С.А. АРУТЮНЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 2201, г. Абовян

Показано, что эффективность симбиоза можно повысить, используя смешанную культуру *Azotobacter* и *Bacillus polymyxa* совместно с клубеньковыми бактериями сои и восприимчивые к инокуляции сорта сои. При обработке смешанными культурами семян озимой пшеницы в два раза увеличивается урожай зерна и содержание сырого протеина.

Ցույց է տրված, որ սիմբիոզի էֆեկտիվությունը կարելի է բարձրացնել զգալազործելով *Azotobacter*-ի և *Bacillus polymyxa*-ի խառը կուլտուրան սոյայի ցիլիարաթվերիաների հետ համատեղ և ինոկուլյացիային ընկալունակ սոյայի սորտեր և՛ ձմնացան ցորենը խառը կուլտուրաներով ժապելիս կրկնակի անգամ ավելանում է հատիկի քերքը և հում պրոտեինի պարունակությունը:

It is shown that the effectiveness of symbiosis can be increased using mixed culture with *Azotobacter*, *Bacillus polymyxa* and inoculation receptive sorts of soya-bean with nodule bacteria. Cultivation of winter seeds of wheat by mixed cultures increases cereals crop twice and content of raw protein.

Клубеньковые бактерии сои – микробные ассоциации

До последнего времени бактериальные культуры, используемые в сельском хозяйстве, отбирали по высокой азотфиксирующей способности в виде чистых культур [5, 8, 12]. Исследования показали, что увеличение эффективности азотфиксации этим путем не дает хороших результатов, потому что клубеньковые бактерии, находясь в антагонистических отношениях с другими микроорганизмами почвы, часто теряют жизнеспособность и не выдерживают конкуренции [2, 3]. Целесообразным считается использование микробных ассоциаций, которые мало изучены [6, 9, 10, 11].

С другой стороны, нами установлено, что алгезивная способность клубеньковых бактерий к небобовым растениям – пшенице и овсу неодинакова и зависит от штаммовых особенностей, некоторые из них, например, клубеньковые бактерии сои дают большой прирост на корнях злаковых растений [1].

Задачей настоящей работы было создание в лабораторных условиях ассоциаций свободноживущих почвенных микроорганизмов с клубеньковыми бактериями и изучение их влияния на эффективность азотфиксации бобовых и других растений, а также получение эффективных удобрений, которые

можно применять для инокуляции как для бобовых, так и для злаковых растений.

Материал и методика. В условиях вегетационного и полевого опыта испытывали хранившиеся в коллекции азотфиксирующих микроорганизмов ИИМНА НАН РА штаммы клубеньковых бактерий сои *Bradyrhizobium japonicum* - В-5783, В - 5784, В - 5789, азотобактера *Azotobacter chroococcum* 6111 и штамма *Bacillus poytuxa* - В-280, выделенного из чернозема Армении. Клубеньковые бактерии и *B. poytuxa* были выращены на среде с бобовым экстрактом и маннитом, а последний на среде следующего состава: K_2HPO_4 - 0,2г, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2г, NaCl - 0,2г, $CaCO_3$ - 3,0г, сахароза - 15г, агар-агар - 20г, вода - 1000мл, стерилизация 121° - 15 мин, азотобактер - на среде Эшби [4].

В качестве растений - хозяев служили местные и американские сорта сои - Вагаршапати-2, Ходсон, Golden и др., озимая пшеница сорта - Армянка. Растения выращивали в условиях вегетационного опыта и открытого грунта.

Вегетационный опыт был поставлен в 3-килограммовых вазонах в стерильной песчаной культуре. Песок заранее был обогащен средой Прянишникова [7]. Растения изучали в фазе полного цветения.

Полевые опыты по нитрофикации сои проводили на экспериментальном участке Института микробиологии НАН РА. Повторность опытов трехкратная. Минеральный азот в почву не вносили. Перед посевом стерильные семена сои обрабатывали суспензией живых клеток культур *Bradyrhizobium japonicum* при заражении монокультурой или смешанной с *Azotobacter chroococcum* и *Bacillus poytuxa* культурой в соотношении 1:0,1:0,1. Клубеньковые бактерии сои составляли 250-300 млрд/га. Посев семян производили из расчета 50-60кг/га.

Азот определяли методом Кьельдаля, статистическую обработку экспериментальных данных проводили по методике Плехинского [7].

Результаты и обсуждение. Данные по влиянию смешанных культур почвенных микроорганизмов на урожайность сои приведены в табл. 1. Показано, что в условиях вегетационного опыта исследуемые монокультуры клубеньковых бактерий значительно повышали вес сухой зеленой массы растений сои, содержание общего азота и сырого протеина в ней, оказывая благоприятное влияние на процесс клубенькообразования у исследуемых трех сортов сои. У сорта «Кировоградская» прирост веса сухой зеленой массы растений составлял 42-55%, у американского сорта Голден 54-75%, а у местного сорта «Вагаршапати-2» - 48-61% по сравнению с контролем. Применение инокуляции смешанными культурами способствовало увеличению результатов. Так, у сорта «Кировоградская» при применении смешанных культур вес зеленой массы увеличился на 59-63%, у сорта Голден на 67-81%. У сорта «Вагаршапати-2» эта величина составляла 56,9-69,6%. Соответственно процент содержания азота в надземной части растений составлял 2,5-2,88% у сорта «Кировоградская», 2,46-2,54% у американского сорта «Голден» и 2,82-2,96% у сорта «Вагаршапати-2». Тогда как при применении монокультур клубеньковых бактерий для инокуляции у указанных сортов сои содержание азота в сухой надземной части растений составляло 1,78-1,90%, 2,38-2,80% и 2,28-2,55% соответственно. Если рассмотреть количество и вес клубеньков на корнях растений, видно что применение инокуляции смешанным препаратом эффективнее, чем инокуляция монокультурами.

Для большей достоверности полученных результатов были заложены полевые опыты. Рассматривался урожай зерна сои как конечного продукта вегетации и содержание азота в зерне. Опыты проводили на разных сортах

сои. В табл. 2 представлены данные по 8-и сортам. Для инокуляции использовался штамм *B. japonicum* В-5783 ИИМИА, штамм азотобактера-6111 и штамм *B. polymyxa* - 280. По весу семян наилучшим были варианты со смешанной культурой сортов «Белоснежка», «Вагаршапат-2» и «Голден» - 10,45-11,80г, азот 5,50-5,80%. По содержанию азота в зерне отличались сорта «Волгоградская», «Кировоградская» и «Пламя» - 9,0-9,90%. В целом, по сравнению с контролем, наблюдалось значительное увеличение содержания азота в зерне.

Таблица 1. Влияние смешанных культур на урожай сои. Вегетационный опыт 2002г. (расчитано на 10 растений, фаза цветения)

Сорт Штамм	Клубеньки		Вес надземной массы, г	%	Рост растений, см	Азот, %
	КОЛИЧЕСТВО	ВЕС, г				
I. «Голден»						
К-без заражения	-	-	14,2	100	17,5	1,44
<i>B. japonicum</i> 5783	146	0,7	24,9	175,3	22,1	2,30
5789	136	1,0	24,0	169,0	22,0	2,28
5784	265	1,7	22,0	154,0	20,9	2,55
5783+смешанная культура ¹	230	1,0	25,8	181,6	26,5	2,54
5789+смешанная культура ²	144	1,2	23,8	167,0	20,8	2,46
5784+смешанная культура ¹	253	1,05	24,4	171,8	23,8	2,56
II. «Вагшрапат-2»						
К-без заражения	-	-	16,5	100,0	17,2	1,90
<i>B. japonicum</i> 5783	107	0,6	26,6	161,2	21,8	2,80
5789	185	1,2	25,0	151,5	18,6	2,40
5784	301	2,5	24,5	148,4	26,8	2,38
5783+смешанная культура ¹	160	0,88	28,0	169,6	27,1	2,90
5789+смешанная культура ²	195	1,40	25,9	156,9	23,8	2,82
5784+смешанная культура ¹	235	1,35	26,0	157,5	25,5	2,96
III. «Кировоградский-5»						
К-без заражения	-	-	15,4	100,0	21,0	1,66
<i>B. japonicum</i> 5783	277	1,2	23,7	153,8	25,5	1,90
5789	320	1,5	22,0	142,08	25,4	1,80
5784	300	1,3	24,0	155,8	23,6	1,78
5783+смешанная культура ¹	270	1,0	24,5	159,0	27,7	2,88
5789+смешанная культура ²	265	1,7	26,0	168,8	28,6	2,50
5784+смешанная культура ¹	247	1,9	25,2	163,6	29,7	2,80

¹*B. japonicum* 5783 + *Az. chroococcum* 53 + *B. polymyxa* 280

²*B. japonicum* 5789 + *Az. chroococcum* 53 + *B. polymyxa* 280

³*B. japonicum* 5784 + *Az. chroococcum* 53 + *B. polymyxa* 280

Совместная обработка семян сои смешанным препаратом способствовала увеличению накопления азота в семенах до 6,2%. Содержание азота в зерне сои при инокуляции монокультурой клубеньковых бактерий составляло 4,8-5,1%. Такая обработка позволила собрать урожай зерна до 23,8-24,4ц/га, тогда как урожай необработанных контрольных растений составлял 15,0-

Таблица 2. Влияние смешанных культур на урожай разных сортов сои в полевых условиях (вес семян, г, азот, %). 2002г.

Варианты опыта	Сорт															
	Вагариша-пяти-2		Голден		Волго-градский		Пламя		Высь		Кирово-градский		Волна		Белоснежка	
	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот
К-без заражения	8,50	4,80	7,40	4,5	6,80	4,34	6,65	4,60	8,75	4,59	7,25	4,70	7,56	3,80	9,20	4,30
<i>B. japonicum</i> 5783 + <i>Az. chroococcum</i> 6111 - <i>B. polytuxa</i>	11,0	5,80	10,48	5,8	7,63	6,30	9,00	6,20	9,80	5,30	9,10	5,60	9,90	5,80	11,2	5,50

Таблица 3. Сравнение урожая сои при инокуляции монокультурой и смешанным препаратом (полевой опыт)

Варианты	Вагаришапяти-2			Холсон		
	вес 500 семян, г	азот %	Урожай зерна, ц/га	вес 500 семян, г	азот %	Урожай зерна, ц/га
К-без заражения	85,0	3,86	15,0	90,5	4,76	15,4
<i>B. japonicum</i> 5783	94,0	4,80	19,8	109,8	5,10	19,0
<i>B. japonicum</i> 5783 + <i>Az. chroococcum</i> 6111 + <i>B. polytuxa</i> 280	114,5	6,20	24,4	120,0	6,02	23,8

15,4ц/га, а при обработке монокультурой было собрано 19,0-19,8ц/га зерна сои (табл. 3).

Нами рассматривался вопрос о возможности применения смешанной композиции клубеньковых бактерий с другими почвенными бактериями. В табл. 4 приведены результаты обработки семян озимой пшеницы смешанной культурой клубеньковых бактерий сои- *B. japonicum* с *Az. chroococcum* и *B. polymyxa* в полевых условиях. Опыт был поставлен в селе Маралик Ширакского марза на 1 га необработанной почвы. Из таблицы видно, что при применении смешанной композиции вес зерен озимой пшеницы увеличивался почти в два раза, сырой протенин у обработанных растений составлял 15,39%, тогда как у контрольных необработанных растений - всего 10,26%.

Таблица 4. Урожай озимой пшеницы при обработке смешанным препаратом, Маралик, 2002 г.

Варианты	Вес 1000 зерна	Азот, %	Протенин, %
К - без обработки	24,80	1,8	10,26
Смешанный препарат	36,20	2,7	15,39

* *B. japonicum* 5783 + *Az. chroococcum* 6111 + *B. polymyxa* 280

Таким образом, в вегетационных опытах и в полевых условиях метод обработки семян смешанным препаратом, состоящим из азотфиксирующих симбиотических бактерий и свободноживущих азотфиксаторов, оказался эффективным как для сои, так и для озимой пшеницы.

На основе проведенных исследований в лабораторных условиях был приготовлен сухой препарат, который проходит испытания в различных фермерских хозяйствах РА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакумова Е.И., Арутюнян С.А. Биолог. журн. Армении. 43, 2, 116-119, 1990.
2. Антипчук А.Ф., Андреев Е.И. Микробиол. журн. 59, 3, 59-65, 1997.
3. Африкян Э.К., Туманян В.Г. Изв. АН Арм. ССР, 11, 2, 37-46, 1958.
4. Каталог культур микроорганизмов Изд-во Гитутюн. НАН РА Ереван, 1996.
5. Матевосян Ф.С., Арутюнян С.А., Алексанян Н.М., Степанян Т. Биолог. журн. Армении, 55, 4, 316-323, 2003.
6. Мельникова Н.Н., Булавенко Л.В., Курдин Н.К., Титова Л.В., Коць С.Я. Прикл. биохим. и микробиол. 38, 4, 427-432, 2002.
7. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Изд-во МГУ, 303, 1991.
8. Налбандян А.Д., Аветисян В.А. Биолог. журн. Армении. 41, 2, 147-149, 1988.
9. Никогосян В.Г. Автореф. доктора биол. наук, 31, 1998.
10. Петросян А.П., Хачикян Р.Е. Вopr микробиол., 6, (16), 20-29, 1973.
11. Сухоящук Л.А., Сафронова Г.В., Клышко Г.М., Короленок И.В. Прикл. биохим. и микробиол., 38, 1, 73-78, 2002.
12. Zyagintsev D. Trans. 14 Int. Congr. Soil Sci. Kyoto, 3, 3, 535-543, 1990.

Поступила 18.X.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 612.1:599.322:616.36.001.6

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ CCl_4 -ИНДУЦИРОВАННОМ ЦИРРОЗЕ

И.Б. МЕЛИКСЕТЯН, А.С. МАРГАРЯН, С.С. АБРАМЯН, Л.А. СИМОНЯН,
Р.Б. БАДАЛЯН, И.Г. БАТИКЯН, А.А. СИМОНЯН

Институт биохимии им. Г. Х. Бухятыана НАН РА, 375014, Ереван

Исследованы гистологические и гистохимические изменения в печени белых крыс при циррозе, индуцированном CCl_4 , и влияние антиоксидантных факторов - α -токоферола и тиосульфата натрия на эти отклонения. Наблюдались определенные положительные сдвиги в гематопозе и регенерации печени под воздействием этих факторов. Обсуждаются возможные механизмы стимуляции регенерации ткани печени при экспериментальном циррозе

Կատարվել են սպիտակ առնետների լյարդի հյուսվածաբանական և հյուսվածաքիմիական հետազոտություններ CCl_4 -ով ձալածված ցիռոզի դեպքում: Ուսումնասիրվել է հակաօքսիդանտային գործոնների α -տոկոֆերոլի և նատրիումի թիոսուլֆատի ազդեցությունը այդ փոփոխությունների վրա: Վերջիններիս ներգործությամբ դիտվել են հյուսվածքի ձևաբանական ձևախեղումների, հեմատոպոեզի ակտիվացման դրսևորումներ: Զննարկվել են լյարդի ռեգեներացման հնարավոր մեխանիզմները փորձարարական ցիռոզի դեպքում:

The histological and histochemical changes in white rats liver with CCl_4 -induced cirrhosis and the effects of antioxidant factors, such as α -tocopherol and sodium thiosulfate on these extrapolations have been investigated. Under the influence of these factors positive shifts take place in liver regeneration and hematopoiesis. Possible mechanisms of stimulation of liver tissue regeneration at experimental cirrhosis are discussed.

Экспериментальный цирроз печени - α -токоферол - тиосульфат натрия - гистологические изменения

Цирроз печени (ЦП) — хроническое полиэтиологическое прогрессирующее заболевание, протекающее с поражением паренхиматозной и интерстициальной тканей органа с дистрофией и некрозом гепатоцитов, регенерацией, склерозом, нарушением архитектоники органа и развитием той или иной степени недостаточности печени [3,18]. В экономически развитых странах ЦП входит в число шести основных причин смерти в возрасте 35-60 лет, составляя от 14 до 30 случаев на сто тысяч населения. В мире ежегодно умирают 40 млн. человек от вирусного цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, развивающейся на фоне носительства вируса гепатита В. В странах СНГ ЦП встречается у 1% населения. Молекулярные механизмы патогенеза ЦП продолжают оставаться в поле зрения исследователей различных направлений гепатологов академического и прикладного профиля. Отсутствие принципиально новой информации

позволяющей осмысление 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. В этом аспекте заслуживают внимания результаты наших предыдущих исследований [1], выявившие выраженные отклонения как в качественном, так и в количественном отношении нейтральных и кислых фосфолипидов в печени при CCl_4 -индуцированном циррозе, что хорошо коррелирует с интенсивностью перекисного окисления липидов и состоянием антиоксидантной системы. Вводимые препараты антиоксидантного действия - α -токоферол (ТФ) и тиосульфат натрия (ТСН) в определенной степени нормализуют количество перекисей и фосфолипидный состав в печени экспериментальных животных.

Мы задались целью исследовать гистологические и ультраструктурные изменения ткани печени крыс при циррозе печени, индуцированном тетрахлорметаном (CCl_4), а также воздействие ТФ и ТСН на регенерацию пораженных клеточных структур и возможные механизмы их действия.

Материал и методика. В работе использованы беспородные белые крысы-самцы массой 180-200 г, содержащиеся в обычных условиях вивария. ЦП вызывали введением крысам 100%-ного раствора CCl_4 интритрибушинно в дозе 0,3 мл на массу животного, 2 раза в неделю, в течение 20-и дней. Животные были разделены на 6 групп (по 6 крыс в каждой):

- I. контрольная группа (интактные животные);
- II. группа животных с экспериментальным ЦП;
- III. группа животных, получавшая ТФ;
- IV. группа животных с экспериментальным ЦП, получавшая ТФ;
- V. группа животных, получавшая ТСН;
- VI. группа животных с экспериментальным ЦП, получавшая ТСН.

Животным III и IV групп 2 раза в неделю вводили 0,4 мг масляного раствора ТФ, а V и VI - 1 мг ТСН на массу животного. Животным I группы вводили 1 мл физиологического раствора 2 раза в неделю.

Животных декапитировали под легким эфирным наркозом без перфузии. Печень быстро извлекали и в течение 24-48 ч фиксировали при 4° в 4%-ном формалине, приготовленном на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4) и содержащем 3%-ный раствор хлористого кальция. Промывали ткань и помещали в физиологический раствор, буференный 0,1 М фосфатным буфером (рН 7,4), содержащий 30% сахарозы. На замораживающем микротоме готовили срезы толщиной 50 мкм.

В работе использованы: 1) гистологический метод с окраской гематоксилин-эозином: а) окраска срезов 1%-ным раствором гематоксилина (10 мин); б) промывание срезов под проточной водой (10 мин); в) окраска срезов 0,1% -ным раствором эозина (1-2 мин); 2) гистохимический метод по определению активности кислой фосфатазы (КФ) [2].

Результаты и обсуждение. Согласно результатам исследований, у интактных крыс в печеночных дольках анастомозирующие трабекулы равномерно расположены между портальными зонами и центральными венами (рис. 1 А,Б). Синусоиды между тяжами гепатоцитов не расширены и в основном не содержат форменных элементов крови (рис. 1А,Б), кроме единичных эритроцитов и лимфоцитов. Между гепатоцитами прослеживаются тонкие желчные капилляры (рис. 1Б). В нескольких участках выделяются портальные триады с расположенными в них портальными

венами, печеночными артериями и желчными протоками. Стенки центральных вен целостные, в них иногда выделяются эндотелиальные клетки. Центральные вены в основном пустуют (рис. 1А,Б). Междольковые соединительнотканые перегородки или прослойки тонкие и равномерной толщины.

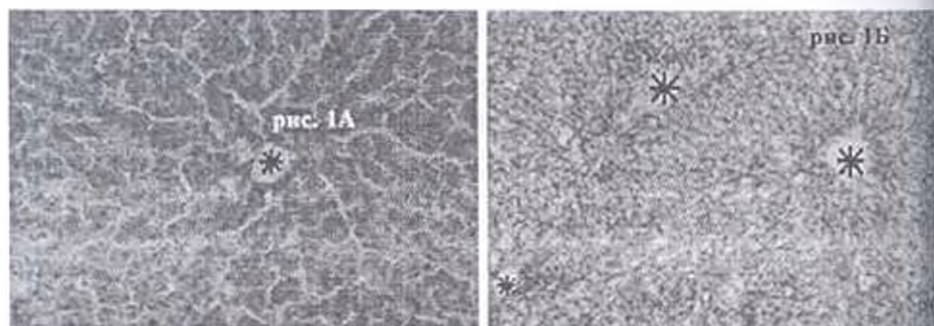


Рис.1. Структуры печени у intactных крыс (А) в печеночной дольке хорошо видны радиально ориентированные вокруг центральной вены (звездочки) тяжи (трабекулы) гепатоцитов, между которыми равномерно расположены синусоиды одинаковой величины. Гистологический метод с окраской гематоксилином (ГЭ) (Б): участок трех печеночных долек с центральными венами (звездочки) в центре каждой дольки; между дольками выделяются светлые участки соединительнотканной прослойки печеночной триады (междольковые портальные вены, печеночные артерии, желчные протоки, а также лимфатические сосуды). Выделяются также ретикулярные волокна вокруг гепатоцитов и синусоидов, активность КФ в которых значительно выше у центральных вен. Гистохимический метод по определению активности кислот фосфатазы (КФ). Ок. х 12,5; Об. х 6,3(А) и 10 (Б).

У крыс с введением CCl_4 внутрибрюшинно с целью получения модели цирроза печени наблюдаются значительные очаговые изменения ближе к портальным зонам (рис. 2А). Сказанное в данном случае выражается в неодинаковом проявлении активности КФ вокруг центральных вен. Изменения происходят и в паренхиме, и в строме печени. Соединительнотканые прослойки стромы довольно расширены и содержат уже стромальные клетки, возможно, фибробласты, а также лимфоциты и эритроциты.

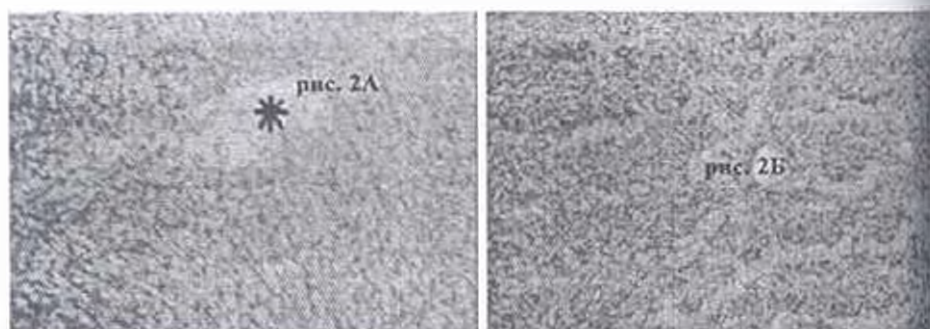


Рис.2. Структуры пораженной печени у крыс, инсудированных CCl_4 (А): очаговые структурные изменения, происходящие в печени. Расширение центральной вены (звездочки) (А) и синусоидов вокруг портальной вены (Б). Гистологический метод по окраске активности КФ. Ок. х 12,5; Об. х 6,3(А) и 16 (Б).

Гепатоциты паренхимы, которая представляет систему анастомозирующих трабекул из гепатоцитов с синусоидами между ними, выглядят морфологически деформированными, вследствие чего тяжи гепатоцитов выглядят намного уже. Стенки центральных вен местами не прослеживаются, а сами синусоиды значительно расширены и неправильной формы (рис. 2Б). Кроме того, местами выявляются разбросанные по паренхиме извилистые структуры, напоминающие капилляры, с высокой активностью в них кислой фосфатазы.

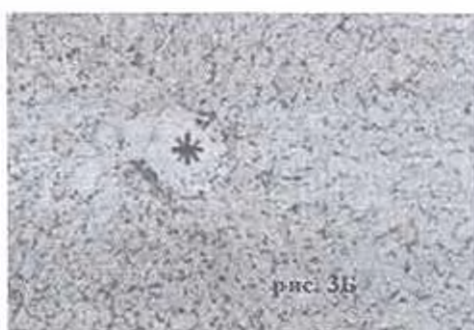


Рис. 3. Структуры поврежденной печени крыс после введения ТФ (А): равномерное расположение синусоидов вокруг центральной вены (звездочка). Хорошо выделяются трабекулы гепатоцитов, в которых четко видны их ядра. Окраска с ГЭ. (Б): в центральных венах и их окружении (звездочка), а также в синусоидах наблюдается накопление форменных элементов крови. Гистохимический метод по определению активности КФ. Ок. $\times 12,5$; Об. $\times 10$ (А) и 16 (Б).

Под воздействием ТФ и особенно ТСН гистологическая картина больше всего напоминает структуру печени интактных крыс (рис. 3 и 4). Синусоиды везде одинаковой величины и равномерно расположены между тяжами гепатоцитов (рис. 3А, 4А). Однако вокруг гепатоцитов и особенно в центральных венах наблюдается значительное накопление разных структур (рис. 3Б, 4А, Б), которые дифференцировать без использования специальных тестов представляет определенные трудности. Однако несмотря на это, среди них отчетливо можно выделить форменные элементы крови — эритроциты, лимфоциты и мегакариоциты.

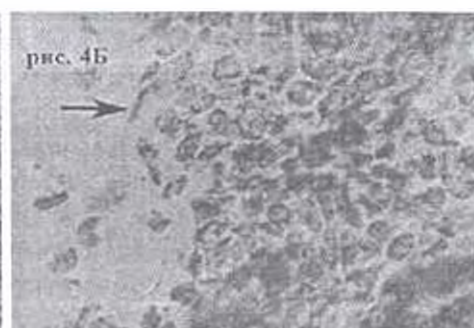
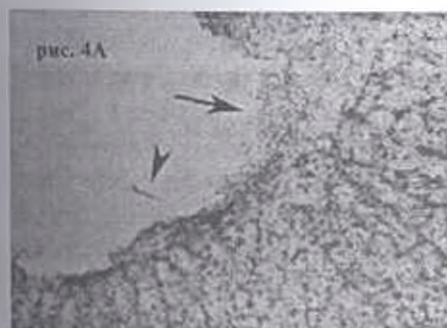


Рис. 4. Структуры поврежденной печени крыс после введения ТСН (А): усиление активности КФ и увеличение числа форменных элементов крови (стрелки) в центральных венах и их окружении, а также в синусоидах (звездочка) гепатоцитами; появление в центральной вене структуры, напоминающей нервное волокно (стрелка). (Б): фрагмент рисунка (А), где видны клетки разной величины и формы (стрелки), среди которых встречаются овальные клетки, возможно, овальные клетки печени. Гистохимический метод по определению активности КФ. Ок. $\times 12,5$; Об. $\times 16$ (А) и 100 (Б).

Надо особо отметить, что встречается множество структур овальной формы, напоминающих овальные клетки печени, а возможно, и макрофаги (рис. 4Б).

У интактных крыс, обработанных ТФ и ТСН с целью выяснения их воздействия на нормальные структуры, выявили картину (рис. 5 и 6), аналогичную с полученной при воздействии вышеописанных веществ на поврежденную печень. Особенно хорошо отличаются мегакариоциты, находящиеся в стадии выделения кровяных пластинок (рис 6). Однако здесь, как и у крыс с пиррозом, без введения ТФ и ТСН также наблюдаются очаговые, но не очень выраженные изменения.

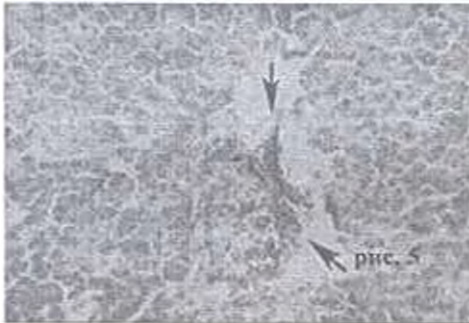


Рис. 5. Структура печени крыс с введением ТФ. Увеличение числа форменных элементов крови в синусоидах и центральной вене (стрелки); синусоиды ослизненной печени расположены среди трабекул гепатоцитов. Окраска с ГЭ. Ок. х 12,5; Об. х 16.

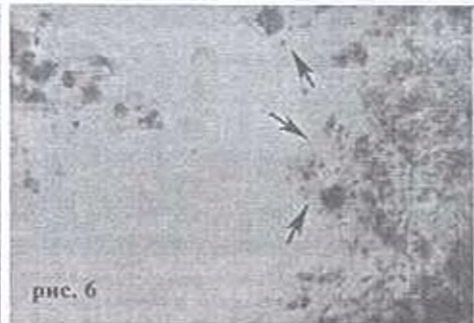


Рис. 6. Структура печени крыс с введением ТСН. Мегакариоциты в центральной вене в стадии выделения кровяных пластинок (стрелки). Гистохимический метод по определению активности КФ. Ок. х 12,5; Об. х 100.

Известно, что метаболические процессы, которые происходят в каждой из трех зон ацинуса — метаболической единицы печени, состоящей из портальных трактов и центральной вены, несколько различаются по своему характеру. Этим объясняется тот факт, что некоторые токсины или недостаток того или иного питательного вещества в рационе поражают различные зоны в неодинаковой степени. И уже становится понятно, почему некоторые отделы печеночных долек поражаются в различных условиях больше, чем другие, и почему степень повреждения, определяемая в пределах периферии дольки, нередко варьирует от среза к срезу. Исходя из вышесказанного, можно объяснить происходящие в печени очаговые изменения ближе к портальным венам у крыс, получивших ССІ.

Наблюдаемое нами под воздействием ТФ и ТСН резкое увеличение числа форменных элементов крови в синусоидах и центральных венах печени можно объяснить активацией гематопоеза, приводящей к укреплению иммунной системы. При этом не исключено попадание в печень и стволовых клеток (СК) из костного мозга (КМ).

В настоящее время ученые фокусируют свое внимание на стволовые клетки в постэмбриональном периоде развития животных. Известно, что стволовые клетки (СК) способны самообновляться и могут воспроизводить множественные типы клеток. Сегодня уже имеется новое доказательство,

что СК присутствуют во многих тканях, как полагалось ранее, и что эти клетки способны воспроизвести и другие типы клеток.

Стволовые клетки выявлены во многих тканях животных и человека. Список тканей, содержащих стволовые клетки, растет и включает в себя костный мозг, периферическую кровь, спинной и головной мозг, печень, поджелудочную железу и др.

Основной функцией стволовых клеток является поддержание постоянного состояния функционирующей клетки, называемое гомеостазом, а также, с некоторыми ограничениями, замещение погибших из-за повреждения и болезней клеток [11, 15]. СК костного мозга могут затем дифференцироваться в другую мезодермального происхождения ткань, такую как скелетная мышца [8, 10], сердечная мышца [12, 16], печень [4, 13, 21].

Из двух типов СК, обнаруженных в циркулирующей крови, но не происходящих из КМ, одна популяция, называемая перипитамми, может иметь тесное отношение к стромальным клеткам КМ [5]. Перипитаммы считаются СК, происходящими из крови, которые, однако, могут быть отнесены к стромальным клеткам КМ. Считают, что перипитаммы в тканях у взрослых являются СК и участвуют в процессах ангиогенеза. Появление в наших экспериментах каникулярон в поврежденной печени можно объяснить активацией перипитамм и свидетельствует о компенсаторных процессах в органе кровообращения.

Согласно нашим результатам, у крыс с циррозом печени после воздействия ТСН в центральных венах и их окружении выявляются различные клеточные структуры, среди которых выделяются и овальные клетки печени.

В поджелудочной железе и печени содержатся множественные типы дифференцированных клеток, которые образуются от СК. Последние исследования на грызунах указывают на то, что происходящие из мезодермы гематопоезические СК (ГСК) могут внедриться в печень после ее повреждения и демонстрировать пластичность через превращение в гепатоциты, обычно происходящие из энтодермы [13, 17, 21]. Пластичность - способность взрослых СК дифференцироваться в иной ткани, а не в ткани, где они образуются. Однако неизвестно имеет ли место такого рода пластичность без повреждения печени и воспроизводят ли ГСК, происходящие из КМ, овальные клетки печени [6]. Оральные клетки печени могут возникать из порталных трактов и могут давать начало гепатоцитам [7, 14] или эпителию желчных протоков [9, 20]. И несмотря на то что овальные клетки существуют в печени, пока не ясно воспроизводят ли они гепатоциты [19, 22].

Известно, что сами гепатоциты могут быть ответственны за хорошо известную способность печени восстанавливаться.

Исходя из вышеприведенных литературных, а также собственных данных относительно воздействия применяемых нами антиоксидантных факторов (ТФ и ТСН) на восстановление структуры печени крыс с циррозом, можно предположить, что эти вещества включаются в механизм регенерации

печеночных структур посредством активации гематопоэза КМ и укрепления иммунной системы, и также попадания в печень форменных элементов крови.

Однако не исключено участие овальных клеток печени, выявленных нами при введении животным антиоксидантных факторов, в процессы регенерации органа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карагезян К.Г., Маргарян А.С., Овсепян Л.М., Симонян А.А., Симонян Л.А., Батикян Н.Г., Бадалян Р.Б. Биолог. журн. Армении, 57, 3-4, 165-169, 2005.
2. Меликсетян И.Б. Докл. научн. конф. Ин-та физиол. им. Л.О.Орбеля НАН Армении, посвященной 60-летию основания института; 6-7 октября 2003, 108-111, 2003.
3. Подымова С.Д. Болезни печени. М., 1984.
4. Alison M.R., Poulson R., Jeffery R., et al. Nature, 406, 257, 2000.
5. Bianco P., Riminucci M., Gronthos S., Robey P.G. Stem Cells, 19, 180-192, 2001.
6. Crosby H.A., Strain A.J. Gut, 48, 153-154, 2001.
7. Dabeva M.D., Shafritz D.A. Am.J.Pathol., 143, 1606-1620, 1993.
8. Ferrari G., Cussella-De Angelis, Coletta M., et al. Science, 279, 1528-1531, 1998.
9. Germain L., Noel M., Gourdeau H., et al. Cancer Res., 48, 368-378, 1988.
10. Gussoni E., Soneoka Y., Strickland C.D., et al. Nature, 401, 390-394, 1999.
11. Holzer H. Cell lineages, stem cells and the 'quantal' cell cycle concept. In: Stem cells and tissue homeostasis. Eds: B.L.Lord, C.S.Potten, and R.J.Cole. Cambridge, New York: Cambridge University Press., 1-28, 1978.
12. Kocher A.A., Schuster M.D., Szabolcs M.J., et al. Nat.Med., 7, 430-436, 2001.
13. Lagasse E., Connors H., Al Dhalimy M., et al. Nat.Med., 6, 1229-1234, 2000.
14. Lazaro C.A., Rhim J.A., Yamada Y., Fausto N. Cancer Res., 58, 5514-5522, 1998.
15. Leblond C.P. Classification of cell populations on the basis of their proliferative behavior. National Cancer Institute., 14, 119-150, 1964.
16. Orlic D., Kajstura J., Chimenti S., et al. Nature, 410, 701-705, 2001.
17. Petersen B.E., Bowen W.C., Patrene K.D., et al. Science, 284, 1168-1170, 1999.
18. Rasmussen H. H., Fallingborg J. F., Mortensen P. B., et al. Scand. J. Gastroenterol., 22(6), 604-610, 1997.
19. Sell S. Cancer Res., 50, 3811-3815, 1990.
20. Sirica A.E., Mathis G.A., Sano N., Elmore L.W. Pathobiology, 58, 44-46, 1990.
21. Theise N.D., Nimmakayalu M., Gardner R., et al. Hepatology, 32, 11-16, 2000.
22. Thorgeirsson S.S. Am.J.Pathol., 142, 1331-1333, 1993.

Поступила 29.III.2006

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 577.3

ТЕРМОДИНАМИКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТАІРР(4) И АgТАІРР(4) С ДУПЛЕКСАМИ РНК

А.А. КАЗАРЯН, Е.Б. ДАЛЯН, В.И. ВАРДАНЫАН, С.Г. АРУՅՈՆՅԱՆ,
Т.В. ЧАЛИКЯՆ

Ереванский государственный университет, кафедра молекулярной физики, 375025
*Университет Торонто (Канада)

Методами кругового дихроизма и оптического поглощения исследовано взаимодействие нового мезо-тетра-(4N-аллилпиридил)порфирина [ТАІРР(4)] и его Аg-содержащего производного [АgТАІРР(4)] с poly(rA)poly(rU) и poly(rI)poly(rC) . Показано, что ТАІРР(4) связывается с полинуклеотидами, предпочитая интеркаляцию внешнему типу связывания, а Аg-содержащий металлопорфирин связывается только внешне. Рассчитаны константа связывания (K_b), стехиометрия (n) и термодинамические параметры (ΔH , ΔG и ΔS) комплексообразования. Показано существование корреляции между этими параметрами и способом связывания.

Շրջանային դիքրոիզմի և օպտիկական կլանման մեթոդներով ուսումնասիրվել է նոր մեզո-տետր-(4N-ալիլպիրիդիլ)պորփիրինի [ТАІРР(4)] և նրա Аg պարունակող ածանցյալի [АgТАІРР(4)] փոխազդեցությունը poly(rI)poly(rC) և poly(rA)poly(rU) պոլինուկլեինաթթուների հետ: Ցույց է տրված, որ ТАІРР(4) պորփիրինները կապվում են պոլինուկլեինաթթուների հետ ինտերկալացիոն մեխանիզմով, իսկ АgТАІРР(4) պորփիրինները կապվում են միայն արտաքինապես: Հաշվված են կապման հաստատունը (K_b) ու ստեքիոմետրիան (n), ինչպես նաև կապման ջերմադինամիկական պարամետրերը (ΔH , ΔG և ΔS): Ցույց է տրված, որ զուգություն ունի կապ այդ պարամետրերի և կապման մեխանիզմի միջև:

By using circular dichroism (CD) and light absorption spectroscopic measurements the interaction of novel meso-tetra-(4N-allylpyridyl)porphyrin [ТАІРР(4)] and its Ag containing derivative [АgТАІРР(4)] to the poly(rA)poly(rU) and poly(rI)poly(rC) RNA duplexes has been studied. It was shown that ТАІРР(4) intercalate into poly(rA)poly(rU) and poly(rI)poly(rC) , while АgТАІРР(4) binds to these RNA duplexes by forming outside-bound, self-stacked aggregates. For each ligand-RNA binding event the binding constants (K_b), the binding stoichiometry (n) and the thermodynamic parameters (ΔH , ΔG and ΔS) were calculated. The existence of correlation between these parameters and the binding mode was shown.

РНК - порфирин - круговой дихроизм - термодинамические параметры

Порфирины и их металлсодержащие аналоги являются активно исследуемыми соединениями. Многие порфирины проявляют противовирусную, противогрибковую и антибактериальную активность, а благодаря своей способности избирательно накапливаться в опухолевых клетках, они успешно используются в онкологии [1]. Предполагается, что биологическая активность порфиринов определяется типом их взаимодействия с нуклеиновыми кислотами (НК). Поэтому исследование взаимодействия

их с НК позволит понять механизмы, лежащие в основе их биологической активности.

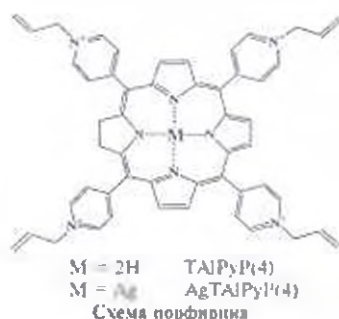
С другой стороны, поскольку порфирины весьма чувствительны к окружающей среде, их используют как "зонды" для регистрации изменений структуры и конформационных параметров НК (например, при фолдинге РНК) [2].

Установлено, что существует три способа связывания порфиринов с НК: интеркаляция, внешний упорядоченный (с образованием протяженных стопок из порфиринов на поверхности макромолекулы) и внешний неупорядоченный [4, 8, 12]. Исследование порфирин-ДНК комплексов показало, что для интеркаляции необходимым условием является наличие плоской структуры порфирина (т.е. имеются ограничения в толщине молекулы порфирина). Внешнее же связывание типично для порфиринов с аксиальными лигандами и/или с боковыми радикалами [8].

Целью данных исследований является установление способов связывания некоторых порфиринов с РНК и выявление природы механизмов, стабилизирующих эти комплексы.

Материал и методика. мезо-Тетра-(4N-аллилпиридил)порфирин [TAiPyP(4)] и его Ag-содержащее производное [AgTAiPyP(4)] (см. схему) были синтезированы на кафедре фармакологической химии ЕМГУ по методике, предложенной Филлом [4].

РНК-овые дуплексы poly(rI)poly(rC) приобретены у Sigma-Aldrich Canada (Oakville, ON, Canada), Poly(rA)poly(rU) - у Amersham Pharmacia Biotech, Inc. (Baie d'Urfe, Québec, Canada). Концентрацию полинуклеотидов и порфиринов определяли спектрофотометрически



с использованием следующих коэффициентов экстинкции: $\epsilon_{260} = 5250 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ для poly(rI)poly(rC), $\epsilon_{260} = 6970 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ для poly(rA)poly(rU), $\epsilon_{410} = 2.23 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ для TAiPyP(4) и $\epsilon_{410} = 1.19 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ для AgTAiPyP(4).

Исследования проводили с использованием буфера 1 ВРСЕ (6 mM Na₂HPO₄ + 2 mM NaH₂PO₄ + 185 mM NaCl + 1 mM EDTA), pH 7.

В экспериментах по титрованию начальная концентрация порфирина составляла $0.6\text{--}1 \times 10^{-6} \text{ M}$. В пределах этих концентраций абсорбция исследованных в данной работе порфиринов подчиняется закону Ламберта-Берра. Порфирины разбавляли за час до эксперимента, раствор хранился в темноте.

Полинуклеотид добавляли из маточного раствора так, чтобы уже на первом шаге относительная концентрация $\mu = C_{\text{порф}}/C_{\text{РНК}}$ была меньше 1.0 (т.е. $S_{\text{порф}} < S_{\text{РНК}}$). Концентрацию РНК увеличивали до насыщения порфирина ($\sim 1\text{--}2 \times 10^{-4} \text{ M}$ пар оснований).

Все эксперименты проводили не менее трех раз. Полученные результаты усредняли с учетом их стандартных ошибок.

Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Lambda 800 (Perkin Elmer) с температурным блоком системы Пельтье (PTP-6 Pellic Systems).

Спектры КД регистрировали на спектрополяриметре AVIV 62 DS при 25°C. (AVIV Associates, Lakewood, NJ).

Результаты и обсуждение. Круговой дихроизм. Результаты, полученные ранее для водорастворимого порфирина TMPyP, показывают, что КД-спектр порфирин/полинуклеотид комплекса характеризуется двумя полосами: 210-310 нм – УФ полоса, совпадающая с КД полосой полинуклеотидов, и 380-

500 нм – полоса индуцированного порфиринами КД в видимой области, где полинуклеотиды прозрачны [10]. Появление индуцированной полосы КД объясняется либо воздействием асимметричной сроды, в которую попадает порфирин при связывании со спиральным полинуклеотидом, либо асимметричностью упаковки порфиринов на спиральном полинуклеотиде, как на матрице [10, 11].

Анализ индуцированной полосы КД позволяет сделать вывод о характере взаимодействия и, следовательно, о типе связывания порфирина с ДНК. На основании такого анализа считается установленным, что отрицательный индуцированный спектр КД свидетельствует об интеркаляционном характере связывания порфирина с полинуклеотидом, тогда как положительный или консервативный спектр указывает на преимущественно внешнее связывание [5, 8, 13]. Считается также, что высокоинтенсивный консервативный индуцированный спектр может быть следствием внешней стопкообразной упаковки порфиринов на матрице полинуклеотида [6, 9].

Механизм связывания порфиринов зависит от GC-содержания НК. Многочисленные исследования показали, что TAlPyP и некоторые его производные предпочитают интеркаляцию в GC богатые участки и внешнее связывание в AT последовательностях ДНК и РНК [5, 8, 9, 13].

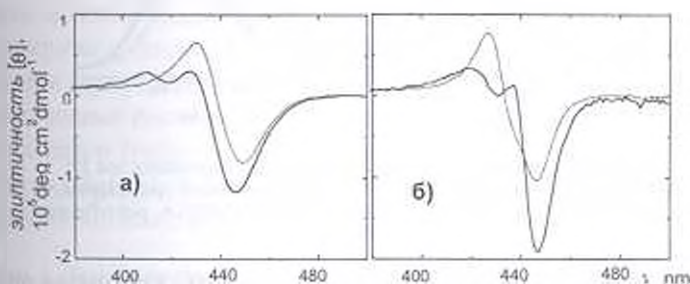


Рис. 1. Индуцированная полоса КД комплексов TAlPyP(4) (сплошная линия) и AgTAlPyP(4) (пунктирная линия) с полинуклеотидами:
 а) poly(tA)poly(rU) ($C_{Al} = 21 \mu M$, $C_{НК} = 7.1 \mu M$)
 б) poly(rI)poly(rC) ($C_{Al} = 21 \mu M$, $C_{НК} = 7.3 \mu M$)

На рис. 1 показаны спектры КД исследованных порфиринов с poly(rA)poly(rU) (рис. 1.а) и poly(rI)poly(rC) (рис. 1.б) при одинаковой относительной концентрации порфиринов ($\mu = 0.3$). Анализ спектров КД позволяет предположить, что TAlPyP(4) предпочитает интеркаляционный способ связывания, в то время как AgTAlPyP(4), по всей видимости, предпочитает связываться внешне.

Абсорбция. На рис. 2 приведены спектры исследованных порфиринов при титровании полинуклеотидами. Как видно из рисунка, связывание с полинуклеотидами приводит к гипохромизму полосы поглощения Soret с bathochромным сдвигом. Изменения спектров наблюдаются в определенном интервале относительных концентраций порфирина/ нуклеотид, что позволяет найти долю связанного порфирина изложенным ниже способом.

Связывание порфиринов регистрировали по изменению максимумы полосы Соре (422 нм для ТАlPyP(4) и 430 нм для AgТАlPyP(4)). Для связанного порфирина α определяли, как $\alpha = (A_i - A_0)/(A_i - A_\infty)$, где A - суммарное оптическое поглощение на i -том шагу титрования, а A_0 и A_∞ - оптические поглощения свободного и связанного порфирина соответственно. A_∞ определяли как поглощение при полном связывании порфирина, когда дальнейшее добавление полинуклеотида не приводит к изменению поглощения.

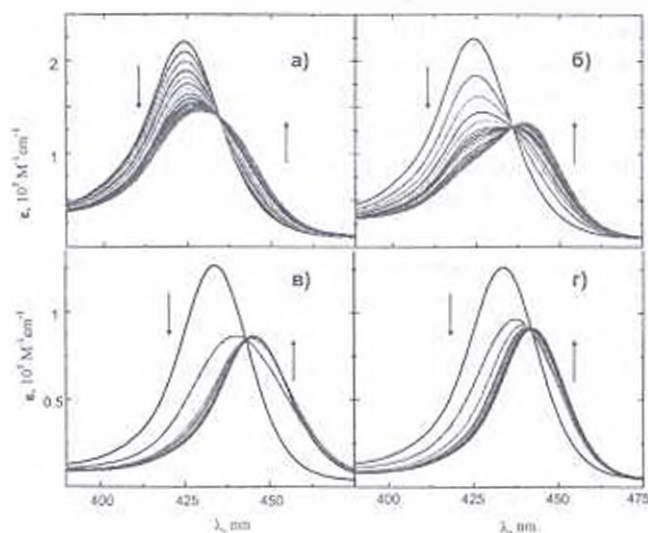


Рис. 2. Спектры титрования порфиринов полинуклеотидами при 25°

а) ТАlPyP(4) + poly(rA)poly(rU) б) ТАlPyP(4) + poly(rI)poly(rC)
в) AgТАlPyP(4) + poly(rA)poly(rU) г) AgТАlPyP(4) + poly(rI)poly(rC)

Концентрации свободных (C_f) и связанных (C_b) лигандов определяют по формулам $C_f = (1 - \alpha)C_0$ и $C_b = \alpha C_0$ соответственно, где C_0 - суммарная концентрация порфирина в растворе. Для нахождения параметров связывания использовали модель "исключенных соседних мест связывания". По данным α и C_b/r для нахождения константы связывания K_b и числа мест посадки (число пар оснований полинуклеотида, которые становятся недоступными при связывании одного порфирина) используется формула (1), предложенная Макги и вон-Хиппелем [7].

$$\frac{r}{C_f} = K_b(1 - nr) \left[\frac{1 - nr}{1 - (n-1)r} \right]^{n-1}, \quad (1)$$

где r - отношение концентрации связанного лиганда к концентрации центра связывания в растворе ($r = C_b/C_{\text{ПНК}}$).

В данной работе мы нашли более целесообразным использовать трансцендентную форму уравнения (1), предложенную Корреа с соавт. [3].

$$C_f = -\frac{r}{K_b} \left[\frac{nr - 1}{nr - r - 1} \right]^{-n} (nr - r - 1), \quad (2)$$

Для решения нашей задачи формула (2) имеет ряд преимуществ по сравнению с (1). Во-первых, в ней не используется отношение g/C_r , где умножаются, а значит амплифицируются возможные экспериментальные ошибки C_r и g . И, во-вторых, оно легче поддается анализу компьютерных алгоритмов по нахождению параметров методом наименьших квадратов. Отметим, что результаты, полученные с использованием формул (1) и (2), различаются не больше, чем на 5%.

На рис. 3 приведен пример использования уравнения (2) для нахождения параметров связывания AgTAiPP(4) с poly(rA)poly(rU) при 25° . Константа связывания $K_b = 747922$ и число мест посадки $n = 1.008$ определяли подгонкой теоретической кривой к экспериментальным данным по методу наименьших квадратов с использованием компьютерной программы Graphpad Prism.

Полученное для AgTAiPP(4) значение $n \sim 1$ находится в хорошем согласии с предположением о неинтеркаляционном способе связывания этого порфирина с полинуклеотидами, поскольку при интеркаляции обычно $n > 1$.

Аналогичные расчеты для K_b и n были проведены для всех четырех типов комплексов (табл. 1). Результаты показывают, что оба порфирина, независимо от способа связывания, почти в 3 раза сильнее взаимодействуют с poly(rA)poly(rU) , чем с poly(rI)poly(rC) .

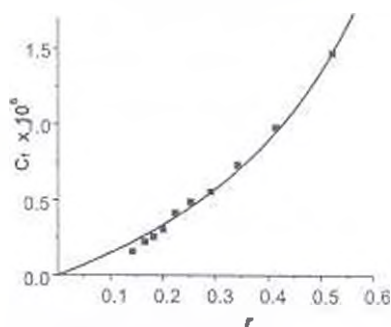


Рис. 3. Зависимость C_r от r , полученная по результатам титрования AgTAiPP(4) с poly(rA)poly(rU) при 25° (точки) и теоретически рассчитанная по формуле (2) кривая ($K_b = 747922$ и $n = 1.008$).

Таблица 1. Термодинамические параметры связывания порфиринов с РНК.

Порфирин	РНК	n	K_b $\times 10^4 \text{ M}^{-1}$	ΔG_b ккал M^{-1}	ΔH_b ккал M^{-1}	ΔS_b кал $\text{M}^{-1} \text{K}^{-1}$
TAiPP(4)	poly(rA)poly(rU)	4.1 ± 0.5	3.2 ± 0.1	-7.5 ± 0.1	-1.9 ± 0.3	18.8 ± 1.1
	poly(rI)poly(rC)	2.5 ± 0.2	0.72 ± 0.01	-6.6 ± 0.1	-3.0 ± 0.4	12.1 ± 1.4
AgTAiPP(4)	poly(rA)poly(rU)	1.06 ± 0.02	7.3 ± 0.2	-8.0 ± 0.1	9.6 ± 0.5	58.9 ± 1.8
	poly(rI)poly(rC)	1.1 ± 0.04	2.7 ± 0.2	-7.4 ± 0.04	8.1 ± 0.5	52.1 ± 1.9

* усреднено по 18, 25, 35, и 45° .

Были рассчитаны также энтальпия и энтропия связывания этих порфиринов с poly(rA)poly(rU) и poly(rI)poly(rC) . Энтальпия связывания ΔH_b была найдена по методу Вант-Хоффа. С этой целью эксперименты по титрованию проводили при температурах 18, 25, 35 и 45° и константы связывания рассчитывали при этих температурах. Затем были построены зависимости $\ln(K_b)$ от обратной температуры для всех четырех комплексов (рис. 4а и 4б). Экспериментальные точки аппроксимировались прямыми линиями и по их наклону определяли $\Delta H_b = -R[\ln K_b / (1/T)]_T$. Была рассчитана также энтропия связывания по формуле $\Delta S_b = (\Delta H_b - \Delta G_b) / T'$, где

ΔG_b - свободная энергия ($\Delta G_b = -RT \ln K_b$), а $T^* = 25^\circ$. В табл. 1 суммированы результаты, полученные для всех четырех комплексов.

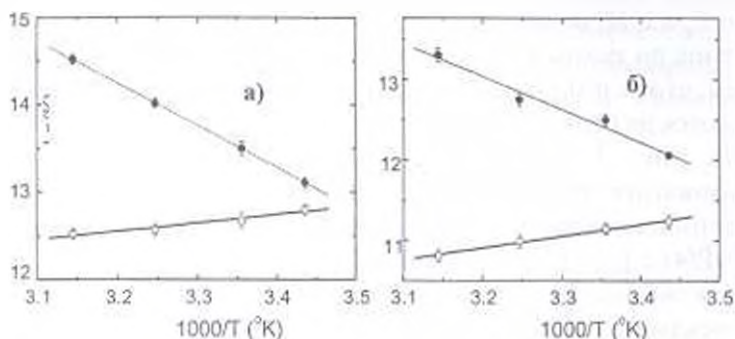


Рис. 4. Зависимость $\ln(K)$ от $1000/T$ для TAIRyP(4) (•) и AgTAIRyP(4) (○). Взаимодействующих с а) poly(rA)poly(rU) и б) poly(rI)poly(rC).

Очевидно, что в отличие от TAIRyP(4), невыгодная ($\Delta H > 0$) энтальпия связывания AgTAIRyP(4) с исследованными полинуклеотидами компенсируется большим выигрышем в энтропии ($T\Delta S \approx +16$ ккал моль⁻¹). Аномально большое значение ΔS , скорее всего, является следствием высвобождения противоионов и связанной воды из гидратного слоя РНК при внешнем связывании AgTAIRyP(4). В отличие от него, интеркаляция TAIRyP(4) приводит к повышению жесткости цепи полинуклеотида и, следовательно, к меньшим значениям ΔS . Полученный результат указывает на существование корреляции между способом связывания и термодинамическими параметрами взаимодействия порфиринов с нуклеиновыми кислотами.

Работа выполнена в рамках проектов NATO LST.CLG. #979777, ISTC #A-301.2 и NFSAT #MB 078-02 / CRDF #12027.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bown S.G., Tralau C.J., Smith P.D., Akdemir D., Wieman T.J. J.Cancer. 54(1), 43, 1986.
2. Celander D.W., Nussbaum J.M. Biochemistry, 35, 12061, 1996.
3. Correia, J.J., Chaires J.B. Methods in Enzymology, 240, 593, 1994.
4. Fiel R.J., Howard J.C., Mark E.H., Dana-Gupta N. Nucl. Acid. Res., 6(9), 3093, 1976.
5. Lee S., Lee Y.-A., Lee H.M., Kim D.H. Biophysical Journal, 83, 371, 2002.
6. Lee Y.-A., Lee S., Lee H.M., Lee C.-S., Kim S.K. The Japanese Biochem. Soc., 133, 343, 2003.
7. McGhee J.D., von Hippel P.H. J. Mol. Biol, 86, 469, 1974.
8. Pasternak R.F. Chirality, 15, 329, 2003.
9. Pasternack R.F., Goldsmith J.I., Szep S., Gibbs E.J. Biophys. Journal, 75, 1024, 1998.
10. Tamiaki H., Matsumoto N., Tsukube H. Tetrahedron Lett., 38, 4239, 1997.
11. Tamiaki H., Unno S., Takeuchi E., Tameshige N., Shinoda S., Tsukube H. Tetrahedron, 59, 10477, 2003.
12. Uno T. et al. Biochemistry, 41, 13059, 2002.
13. Uno T., Hamasaki K., Tanigawa M., Shimabayashi S. Inorg. Chem., 36, 1676, 1997.

Поступила 21.1.2006

Биол. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 577.616.612.152

УРОВЕНЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНОВ КРОВИ КРЫС ПРИ ИНКУБИРОВАНИИ КРОВИ С ИОНАМИ МОЛИБДЕНА И КАДМИЯ *IN VITRO*

М.С. СИРАКАНЯН, Г.М. СИМОНЯН, С.С. АЛЕКСАНИН,
Р.М. СИМОНЯН, М.А. СИМОНЯН

Институт биохимии НАН РА, 375014, Ереван

Повышенные дозы ионов Mo^{+6} и Cd^{+2} после двух- и шестидневного инкубирования крови приводят к характерным количественным и качественным изменениям МАА и МПА. Механизмы окислительного повреждения крови крыс существенно не отличаются по направленности этих изменений. Однако они отличаются по глубине, особенно на конечных этапах инкубирования и под влиянием ионов кадмия, на фоне истощения адаптационной системы крови и снижения уровня синтезированных пепт b558 сыворотки, как более толерантных метаболитов против перекиси водорода.

Mo^{+6} և Cd^{+2} իոնների բարձր դոզաներով առնետի արյան հետ 2 և 6-օր տևողությամբ ինկուբացումը բերում է արյան հակա և պրոօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների որակական և քանակական բնութագրական փոփոխությունների: Վերջիններով պայմանավորված առնետի արյան օքսիդատիվ վնասման մեխանիզմներն իրենց բնույթով նախ և հետաքրքիրվում: Սակայն դրանք տարբերվում են այդ փոփոխությունների խորությամբ: հատկապես Cd^{+2} -ի ներկայությամբ արյան ինկուբացման վերջնական փուլերում, արյան հարմարվողական ռաժակարգի իյունման և սինթեզված չիժոժկային ցիտ b558-երի մակարդակի նվազման ֆոնի վրա, որպես H_2O_2 -ի նկատմամբ ավելի դիմացկուն մետաբոլիտներ:

The high doses of Mo^{+6} and Cd^{+2} ions lead to the characteristic quantitative and qualitative changes of the anti- and prooxidative activity metalloproteins after the 2 and 6 day's incubation with rat's blood. The oxidative damage mechanisms of blood conditioned by these changes are not differed by the change trend. However these changes are sharply differed by its depth, which are higher under the influence of Cd^{+2} . The decrease of the influence of blood adaptive systems and the level of synthesized serum cytochrome b558s, as a more tolerance metabolite against hydrogen peroxide take place, particularly in the presence of Cd^{+2} .

Кровь – молибден – кадмий – окислительное повреждение

Механизмы токсического воздействия ионов кадмия (Cd^{+2}) связываются с индуктированием апоптоза и некроза клеток G2 гепатомы [3], мионуклеарных клеток крови человека [6], тимоцитов [7] и гепатоцитов мышей [8], U937 лимфатических клеток [10] и клеток иммунной системы [14]. При этом происходит снижение уровня липопротеинов высокой плотности сыворотки крови у крыс [12]. Ионы кадмия в основном проникают на поверхностные образования эритроцитарных мембран (ЭМ), изменяя структуру бислоя фосфолипидов [13] и снижая активность антиоксидантной

системы (СОД, каталаза) [15]. У мышей кадмиевая интоксикация вызывает стимулирование продуцирования активных форм кислорода (АФК) макрофагами, приводя к снижению активности антирадикальной защитной системы, повышению высвобождения арахидоновой кислоты, уровня нитрокислородного радикала, липидной пероксидации, простагландина E_2 , NO-синтазы и циклооксигеназы-2 и тем самым создавая условия для интенсификации воспалительных процессов [5]. Интоксикация ионами кадмия вызывает также повышение уровня сульфогемоглобина и метгемоглобина и снижение уровня каталазы, церулоплазмينا и трансферрина, нарушая этим кислородный гомеостаз на фоне соответственной гипоксии [9]. Под воздействием токсических доз ионов молибдена (Mo^{VI}) происходит стимулирование процесса окисления НАДН супероксидными радикалами и ингибирование активности церулоплазмينا и других оксидаз [4]. Ионы Mo^{VI} и Cd^{II} вызывают и характерные сдвиги уровня металлопротеинов (МП) в крови быка и человека анти- и прооксидантной активности [2]. Причем, по предварительным результатам, эти изменения в крови быка существенно отличаются от таковых у человека. Для определения механизмов токсического воздействия ионов молибдена и кадмия на металлопротеины крови крыс (включая и новые типы МП прооксидантной активности) необходимо определить непосредственное воздействие этих ионов на кровь путем их инкубирования на различные сроки.

Цель настоящего исследования состояла в определении характерных количественных и качественных изменений МП антиоксидантной активности (МАО) и МП прооксидантной активности (МПА) [2] крови крыс под непосредственным воздействием токсических доз ионов молибдена и кадмия в аэробных условиях *in vitro*.

Материал и методика. МАО (Cu, Zn-СОД, каталаза, полученные из растворимой фракции эритроцитов, церулоплазмин - ЦП и трансферрин - ТФ - из сыворотки крови) и МПА (изоформы цитохрома b558 - цитохром b558I и цитохром b558II - из сыворотки крови, цитохромы b558III, b558III, b558IV, цитохром b558 нейтрального характера из эритроцитарных мембран, супероксид-продуцирующий липопротеин сыворотки - супрол и цитохром b5 - из растворимой фракции эритроцитов) получали из крови крыс биотехнологическим способом, избегая использования детергента для солюбилизации белков из ЭМ [2].

К трем пробам (по 40 мл) крови добавляли молибдат натрия и сульфат кадмия (концентрация соли в реакционной смеси - 20 мМ). В качестве контроля брали показатели крови без добавления солей, далее кровь инкубировали в аэробных условиях в течение 48 ч при 4° и проводили выделение и очистку из проб (по 20 мл) крови МАО и МПА (другую половину проб кровь продолжали инкубировать еще в течение четырех дней). При этом пробы очищенных ЭМ (по 20 мл, смешанные с 0,04 М калий-фосфатным буфером, pH 7,4) отделяли для определения O_2 -продуцирующей и метгемоглобин (метHb) восстанавливающей активности цит b558III в гетерогенной фазе [2]. Количество полученных МП определяли измерением плотности максимального оптического поглощения, характерного для цит b5 при 525 нм, для изоформ цит b 558 сыворотки и ЭМ - 530, супрола - 430, ЦП - 610 и ТФ - 470 нм (голоформа).

Супероксиддисмутазную активность фермента и O_2 -продуцирующую активность супрола и цит b558III определяли нитротетразолиевым способом путем вычисления процента подавления (в случае СОД) или стимулирования (в случае супрола и цит b558III) образования формазана (при 560 нм). За единицу активности СОД принимали то количество фермента, которое вызывает 50%-ное ингибирование образования формазана при

восстановлении НТС супероксидными радикалами. За единицу O_2^- - продуцирующей активности супрола или цит b558III принимали то количество белка, которое способно стимулировать образование формазана на 50%.

Каталазную активность фермента определяли перманганатометрическим методом, рассчитав количество белка, расщепляющего 0,1М перекиси водорода за 1 мин при 20°.

МетНб-восстанавливающую активность цит b558III определяли *in vitro*, используя свежеполученный метНб крови крыс. При этом величина оптического поглощения альфа-полосы (при 565 нм) метНб составляла 0,9, а величина поглощения бета-полосы используемого цит b558III (при 530 нм) в реакционной смеси составляла 0,02. Непосредственно в кварцевых кюветках спектрофотометра к 2,5 мл раствора метНб добавляли 0,2 мл цит b558III или 0,2 мл ЭМ, смешанных с 0,04 М калий фосфатным буфером (КФБ), pH 7.4. После быстрого перемешивания реакционной смеси ее инкубировали в покое в аэробных условиях *in vitro* в течение 6-8 ч при 30°. Затем была определена кинетика восстановления метНб до ферроНб путем измерения интенсивности плотности альфа-поглощения метНб (она снижается). Это снижение прямо пропорционально образовавшемуся ферроНб, который имеет максимальное оптическое поглощение при 555 нм. МП из другой половины крови (по 20 мл) получали после их 6 - дневного инкубирования в аналогичных условиях.

Оптические спектральные измерения осуществляли на спектрофотометре «Specord UV-VIS» (Германия) с длиной оптического пути 1 см.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера с определением критерия достоверности (P).

Результаты и обсуждение. В зависимости от продолжительности инкубирования крови крыс с ионами молибдена и кадмия в аэробных условиях количество и активность МЛА и МПА претерпевают коренные и порою противоположные изменения (табл.1). Происходят не только количественные, но и качественные изменения этих МП, особенно под воздействием ионов кадмия на кровь. При 2-дневном инкубировании крови с ионами молибдена на фоне снижения уровня цитохрома (цит) b5 (переносчика электрона в метНб-редуктазной системе эритроцитов) происходит небольшое повышение суммарного уровня цит b558 ЭМ (цит b558III, цит b558IV и нейтрального характера цит b558). На этом фоне уровень ключевого НАДРН-зависимого супероксид-продуцирующего гемопroteина ЭМ — цит b558III снижен. Это снижение связано с тем, что под воздействием ионов молибдена происходят качественные изменения цит b558III с превращением его в высококислый (цит b'558III) и нейтральный цит b558 (табл.3). Наблюдается повышение супероксид-продуцирующей активности цит b558III, особенно в гомогенной фазе. Видимо, проникновение ионов Mo в ЭМ так или иначе ингибирует этот процесс. Изменение метНб-восстанавливающей активности цит b558III в гомогенной и гетерогенной фазах (в ЭМ) также имеет аналогичную направленность, и эта активность снижается в гетерогенной фазе (возможно, также из-за проникновения ионов Mo в ЭМ). Уровень сывороточных цит b558 (суммарная фракция цитохрома b558I и b558II) при двухдневном инкубировании крови заметно повышается под воздействием ионов молибдена и особенно кадмия. Однако при шестидневном инкубировании крови уровень продуцированных (синтезированных) сывороточных цит b558 снижается в присутствии кадмия (табл.3). Эти изменения, с одной стороны, могут быть связаны с увеличением уровня АФК, в первую очередь перекиси водорода и, с другой, с ослаблением

(истощением) адаптационных защитных систем крови, ответственных за синтез этих сывороточных гемопротеинов [1], снижающих повреждающие эффекты перекиси водорода. При этом продуцируемые сывороточные цит b558 претерпевают не только количественные, но и качественные изменения. Это выражается снижением величины оптического спектрального индекса (A_{360}/A_{410}) на $13,5 \pm 1,4$ % под воздействием молибдена и на $42,3 \pm 3,4$ % под воздействием ионов кадмия. Изменения плотности максимального оптического поглощения изоформ цит b558 сыворотки крови и ЭМ при двух- и шестидневном инкубировании крови с ионами Mo^{+6} существенно отличаются от таковых при воздействии ионами кадмия (табл.2).

Таблица 1. Относительные изменения (%) уровня и активности МАА и МПА крови крыс после двухдневного инкубирования крови с ионами молибдена и кадмия (20 мМ) по сравнению с 100%-ными контрольными показателями ($p < 0,05$, $n = 8$)

МПА, активность	Инкубирование с Mo^{+6}	Инкубирование с Cd^{+2}
Цит b5	$-27,3 \pm 4,1$	$-59,2 \pm 7,0$
Сумма цит b558III	$+2,3 \pm 0,2$	$+91,3 \pm 5,1$
Цит 558III	$-24,3 \pm 1,7$	$-60,2 \pm 3,4$
O_2 -продуц. активн. цит b558III в гомогенной фазе	$+15,7 \pm 2,1$	$+8,3 \pm 0,6$
O_2 -продуц. активн. цит b558III в гетерогенной фазе	$+5,2 \pm 0,8$	$+9,4 \pm 1,1$
МетНb-восстанавл. активн. цит b558III в гомогенной фазе	$+31,3 \pm 2,1$	$+49,7 \pm 3,4$
МетНb-восстанавл. активн. цит b558III в гетерогенной фазе	$+22,5 \pm 1,9$	$+26,9 \pm 3,1$
Сумма цит b558I + цит b558II (инкубация 2 дня)	$+48,1 \pm 3,9$	$+144,4 \pm 23,5$
Сумма цит b558I + цит b558II (инкубация 6 дней)	$-35,5 \pm 2,9$	$-74,2 \pm 5,1$
Цит 558IV	$+104,5 \pm 9,3$	$-63,7 \pm 4,1$
Супрол	$-29,3 \pm 3,1$	$-54,9 \pm 3,7$
O_2 - продуц. активн. супрола	$+25,2 \pm 2,4$	$+17,2 \pm 3,0$
III	$-19,2 \pm 2,7$	$-58,6 \pm 4,7$
ГФ	$+20,5 \pm 2,1$	$-67,5 \pm 3,0$
СОД	$-21,4 \pm 2,3$	$-12,8 \pm 1,9$
Каталаза	$+12,0 \pm 1,4$	$+37,0 \pm 3,2$

Можно констатировать, что продуцирование (синтез) сывороточных цитохрома b558 является естественным физиологическим процессом, а не продуктом расщепления каких-то биосистем (расщепление усиливается под воздействием ионов кадмия), и этот синтез подавляется особенно ионами кадмия, что может считаться новым механизмом окислительного повреждения крови (сыворотки) при молибденовой интоксикации. Направленность изменений уровня цит b5, суммарной фракции цит b558III ЭМ, цит b558III

его НАДРН-зависимой супероксид-продуцирующей и метНв-восстанавливающей активности, а также супрола и его супероксид-продуцирующей активности, особенно нейтрального характера цит b558 ЭМ, при кадмиевой интоксикации крови крыс сохраняется, но в большей степени (табл. 2). При шестидневном инкубировании крови крыс наблюдается почти полная дегградация белка острой фазы - ЦП, каталазы и Cu, Zn-SOD, а уровень ТФ снижается на $40,8 \pm 2,4\%$ под воздействием Mo и $70,4 \pm 5,3$ - под воздействием ионов кадмия. На этом фоне происходит снижение уровня супрола с увеличением его супероксид-продуцирующей активности и повышением степени агрегации эритроцитов. Эти результаты хорошо коррелируют с литературными данными [5-8]. Фактически из исследуемых МАА и МПА только ТФ и особенно сывороточные цит b558 оказывают сравнительно высокую толерантность против токсических доз ионов молибдена и кадмия.

Таблица 2. Интенсивность плотности максимального оптического поглощения изоформ цит b558 сыворотки крови и ЭМ после двухдневного и шестидневного инкубирования крови крыс с ионами Mo^{+6} и Cd^{+2} (20 мМ), $p < 0,05$, $n=8$

Пробы крови	A530				
	Суммарная фракция цитохромов b558III (после KM-52)	цит b558III	Сумма нейтрал цит b558 и цит b'558III	Сумма цит b558I + цит b558II	
				2-дневн. инкуб.	6-дневн. инкуб.
Контроль	$1,31 \pm 0,07$	$0,45 \pm 0,04$	$0,86 \pm 0,06$	$0,027 \pm 0,008$	$0,31 \pm 0,02$
Инкубация с Mo^{+6}	$1,34 \pm 0,07$	$0,39 \pm 0,02$	$0,95 \pm 0,03$	$0,04 \pm 0,003$	$0,2 \pm 0,002$
Инкубация с Cd^{+2}	$+2,49 \pm 0,004$	$0,26 \pm 0,004$	$2,23 \pm 0,06$	$0,06 \pm 0,004$	$0,08 \pm 0,002$

Приведенные изменения МАА и МПА вызывают соответственное отклонение антиоксидантного статуса - АС (расчетный суммарный уровень МАА) и прооксидантного статуса - ПС (расчетный суммарный уровень МПА) сыворотки крови и эритроцитов при двухдневном инкубировании крови крыс с ионами Mo и Cd (табл.3). Под воздействием ионов Mo АС сыворотки крови и эритроцитов изменяется незначительно, однако ПС существенно повышается в эритроцитах. Под воздействием ионов кадмия при двухдневном инкубировании крови АС в эритроцитах повышается, а ПС повышается в сыворотке крови. Эти изменения создают соответственный фон оксидативного повреждения крови крыс, особенно под воздействием ионов кадмия. Фактически механизмы деградирующего воздействия ионов Mo и Cd при 2- и 6-дневном инкубировании с кровью по характеру и направленности в основном сближаются, однако глубина этих изменений существенна под воздействием ионов кадмия. При этом на начальных этапах инкубирования адаптационные системы крови еще в силах создавать соответственные защитные системы (в частности, сывороточные цит b558), однако при

продолжении инкубирования с этими металлами наблюдается ослабление (истощение) этих систем, особенно под воздействием ионов кадмия.

Таблица 3. Относительные изменения (%) АС и ПС сыворотки крови крыс и эритроцитов после двухдневного инкубирования крови с ионами Mo^{+6} и Cd^{+2} (20 мМ) по сравнению с 100%-ными контрольными показателями ($p < 0,05$, $n=8$)

Компоненты крови	+ Mo^{+6}		+ Cd^{+2}	
	АС	ПС	АС	ПС
Сыворотка	+9,3±0,7	+18,8±1,3	-15,8±1,3	+90,3±5,7
Эритроциты	-9,4±1,2	+53,9±4,4	+24,2±2,6	-42,2±3,1

Таким образом, механизмы окислительного повреждения крови крыс, обусловленного характерными количественными и качественными изменениями МАО и МПА после двух- и шестидневного инкубирования крови с повышенными дозами ионов Mo^{+6} и Cd^{+2} существенно не отличаются по направленности этих изменений. Однако они отличаются по глубине этих изменений, особенно на конечных этапах инкубирования и под влиянием ионов кадмия, на фоне истощения адаптационной системы крови и снижения уровня синтезированных ппт b558 сыворотки, как более толерантных метаболитов против перекиси водорода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Симосян Г.М., Симосян Р.М., Симосян М.А. Мед. наука Армении, XLV, 26-29, 2005.
2. Сиракян М.С., Симосян Г.М., Бабаян М.А., Симосян Р.М., Симосян М.А. Вестник МАНЭБ Санкт-Петербург, 10, 216-220, 2005.
3. Aydin H.H., Celik H.A., Deveci R. et al. Biol. Trace Elem., 95, 139-153, 2003.
4. Chidambaram M.V., Barnes G., Frieden E. Inorg. Biochem., 22, 231-240, 1984.
5. Darr D., Fridovich I. Arch. Biochem. Biophys., 232, 562-565, 1984.
6. De La Fuente H.D., Portales - P.D., Baranda L. Clin. Exp. Immunol., 129, 69-77, 2002.
7. Fujimaki H., Ishido M., Nakara K. Toxicol. Lett., 115, 99-105, 2000.
8. Hubchev S.S., Liu J., Klaassen C.D. Toxicol. Appl. Pharmacol., 149, 203-209, 1998.
9. Huhskyr Iu., Ersteinuk H.M. Ukr. Biochem. Zh., 74, 124-127, 2002.
10. Li M., Kondo T., Zhao Q.-L. J. Biol. Chem., 275, 39702-39709, 2000.
11. Ramirez D.C., Gimenez M.S. Toxicol. Lett., 145, 121-132, 2002.
12. Skoczynska A., Smolik R. Int. J. Occup. Med. Environ. Health, 7, 263-271, 1994.
13. Suwalsky M., Villena F., Norris B., Cuevas F., Sotomayor C. J. Inorg. Biochem., 98, 1061-1066, 2004.
14. Tsangaris G.T., Tzortzatos - S.F. Toxicology, 128, 143-150, 1998.
15. Uchida M., Teranishi H., Aoshima K. et al. Toxicol. Lett., 151, 451-457, 2004.

Поступила 21.XII 2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 612.821.6

ВЛИЯНИЕ ПРАВО - ЛЕВОСТОРОННИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ КРАСНОГО ЯДРА НА ПРОСТРАНСТВЕННО-МОТОРНУЮ АСИММЕТРИЮ У КРЫС

Г.Т. САРКИСОВ, И.Р. МАДАТОВА, Л.М. КАРАПЕТЯН, Л.Г. КАЗАРЯН

Институт зоологии НАН Армении, 375014, Ереван

Изучалось влияние право - левостороннего электролитического разрушения красного ядра на пространственно-моторную асимметрию у крыс. Результаты исследований показали, что право - левостороннее повреждение красного ядра у крыс в условиях спонтанного выбора в Т-образном лабиринте приводит к усилению пространственной асимметрии (доминирование поведенческой стратегии возвращения). С другой стороны, преобладание стратегии возвращения в данной ситуации свидетельствует о низкой исследовательской активности, инициируемой потребностью животного в новой информации.

Ուսումնասիրվել է ուղեղի աջ-ձախ կողմերի կարմիր կորիզի էլեկտրոլիտիկ վնասման ազդեցությունը առնետների տարածա-շարժողական անհամաչափության վրա: Փորձերի արդյունքները ցույց են տվել, որ Т-աձև լաբիրինթոսում ինքնածին ընտրության պայմաններում ուղեղի վերոհիշյալ վնասումը բերում է տարածական անհամաչափության ուժեղացմանը (վերադարձի վարքագծային ստրատեգիայի գերակշռումով): Սյուս կողմից, վերադարձի ստրատեգիայի գերակշռումը տվյալ պայմաններում վկայում է կենդանիների ցածր ինտազոնական ակտիվության մասին, որը թելադրված է կենդանու կողմից նոր ինֆորմացիա ստանալու պահանջով:

The influence of right - left hand electrolytic destruction of a red nucleus on spatial - motor asymmetry at rats was studied. Results of researches have shown, that right - left hand damage of a red nucleus at rats in conditions of a spontaneous choice in T-maze results to intensifying spatial asymmetry (dominance of win-stay behaviour). On the other hand, predominance of strategy of homing over the given situation testifies to the low research activity initiated by need of an animal in the new information.

***Пространственно-моторная асимметрия — спонтанный выбор
— красное ядро***

Пространственно-моторная асимметрия (ПМА), являясь одной из характеристик поведения животных, проявляется как в доминировании правого или левого направления побежки, так и в предпочтении одной из передних конечностей, например, при взятии пищи или нажатии на рычаг [1]. Один из подходов к изучению механизмов ПМА состоит в исследовании влияния экстирпации коры левого и правого полушарий на проявление пространственной асимметрии у животных. Значительно менее изучены соответствующие эффекты право - левосторонних операций на подкорковых образованиях мозга.

Таким образом, в настоящей работе изучалось влияние право-левостороннего электролитического разрушения красного ядра на ПМА у крыс.

Как известно, красному ядру отводится важная роль в регуляции двигательных функций организма [2, 7]. Кроме того, есть указания на определенную роль данного субкортикального образования в механизмах обучения и памяти, а также в процессах пространственного анализа [2, 3].

Материал и методика. Опыты проводили на 18 белых беспородных крысах - самках, масса которых к началу опытов составляла в среднем 190-230 г. Подопытных животных после 48-часовой водной депривации помещали в пусковой отсек стандартного Т-образного лабиринта и предоставляли возможность путем выбора любого из двух идентичных целевых отсеков (правого и левого) получить разовое подкрепление (0,5 мл воды). Каждый опыт включал 10 проб. Опыты проводили в течение 30 дней. Учитывалась предпочитаемая животным сторона целевого отсека. Для количественной оценки ПМА для каждого животного вычисляли коэффициент асимметрии ($K_{\text{ас}}$), вычисляемый по формуле

$$K_{\text{ас}} = \frac{П - Л}{N}$$
, где П - число правосторонних реакций, Л - левосторонних, N - общее число реакций. На основании полученных данных крысы были подразделены на две группы I - крысы, предпочитающие левый отсек, II - крысы, предпочитающие правый отсек. Средние величины $K_{\text{ас}}$ определяли отдельно для животных I и II групп.

Для того чтобы исключить влияние виазлабиринтных ориентиров на поведение крыс, в процедуру тестирования включали периодический поворот лабиринта на 180°, т.е. анализировали поведение с нагрузкой на эгоцентрическую систему пространственной ориентации животных. У крыс первой группы красное ядро разрушалось справа, у животных второй группы слева.

Через 7 дней после операции изучали поведение этих животных в лабиринте. У всех крыс до и после операции изучали индивидуальную асимметрию использования передних конечностей при захвате пищи. Для этого после суточной пищевой депривации животному предоставляли возможность через узкую решетку доставать творожный шарик.

Разрушение глубинного образования мозга проводили методом электрокоагуляции, в стерильных условиях под нембуталовым наркозом из расчета 4 мг/100 г массы константановыми электродами с фабричной изоляцией диаметром 0,25 мм. Коагуляцию производили током силой 2-2,5 мА в течение 2 сек. Стереотаксические координаты определяли по атласу мозга крысы [8]. По окончании экспериментов мозг животных извлекали и фиксировали в 10%-ном растворе формалина для дальнейшего морфологического контроля.

Результаты и обсуждение. Проведенные эксперименты показали, что у интактных животных в условиях используемой модели поведения (спонтанный выбор целевого объекта, иначе «самообучение» в Т-образном лабиринте) наблюдается ПМА. У животных I группы преобладают левосторонние реакции выбора, у II группы - правосторонние (рис. 1). Как видно из рис., выраженность ПМА у интактных крыс I группы превышает таковую у животных II группы. Так, среднее значение $K_{\text{ас}}$ для I группы составляет 0,57; II - 0,23 ($p < 0,05$, сравнение по модулю).

Заметим, что преобладание левосторонних реакций характерно при спонтанном выборе из двух направлений в Y- или Т-образных лабиринтах [4].

После операции у всех животных происходило достоверное изменение направления выбора с одновременным усилением ПМА (рис. 1).

При этом, среднее значение $K_{\text{ас}}$ у крыс I группы составляет 0,75; II - 0,79 ($p > 0,05$).

До и после разрушения глубинного образования мозга нам не удалось обнаружить корреляции между пространственной асимметрией и предпочтением передней конечности животного. В случае если до операции животное при захвате пищи использовало конечность, контрлатеральную стороне разрушения, после операции имела место экстренная реорганизация моторной системы, захват осуществлялся или мордой, или же конечностью, ипсилатеральной повреждению красного ядра.

Полученные в работе данные свидетельствуют о динамичности пространственного предпочтения у крыс, что позволяет рассматривать ее как проявление поведенческой тактики [4] или стратегии поиска [5, 6, 12].

Начиная с работы Левина [10], в литературе обсуждается вопрос о двух типах поисковых стратегий для разных видов животных: возвращения — животное предпочитает возвращаться в очередной попытке к уже апробированному месту подкрепления (win-stay); перемещения или альтернатики — животное выбирает другой путь в поиске нового места подкрепления (win-shift) [5, 6, 11, 13].

Следует отметить, что указанные стратегии определяют многие аспекты поведения животных в естественных условиях существования: защита территории, поиск пищи и т.п. [9].

Как показали результаты наших исследований, право - левостороннее повреждение красного ядра у крыс в условиях спонтанного выбора в Т-образном лабиринте приводит к доминированию стратегии возвращения (усиление пространственной асимметрии.). С другой стороны, преобладание стратегии возвращения в данной ситуации свидетельствует о низкой исследовательской активности, инициируемой потребностью животного в новой информации [6].

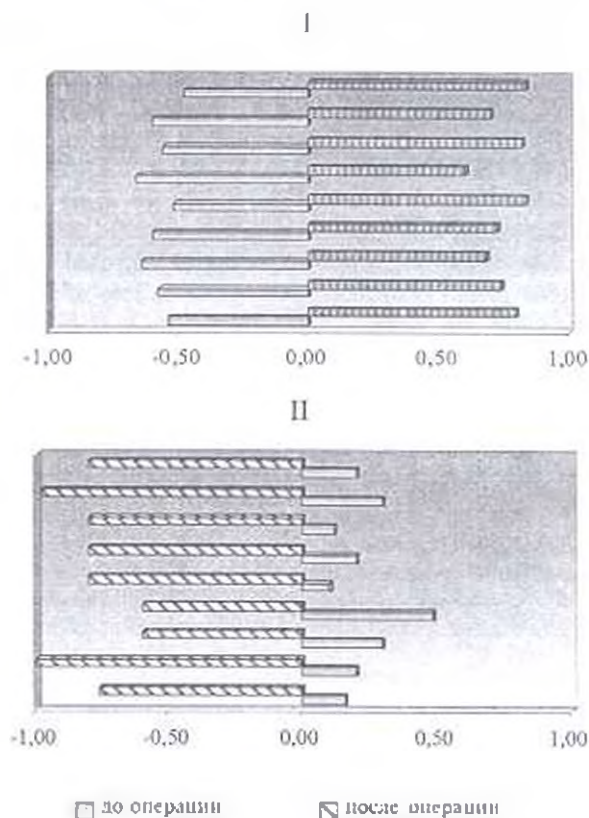


Рис 1. Коэффициент асимметрии у животных I и II групп в ситуации спонтанного выбора

ЛИТЕРАТУРА

1. Бианки В.Л. Асимметрия мозга животных. Л.: Наука, 295с, 1985.
2. Мадатова И.Р., Казарян Л.Г., Гамбарян Л.С. Красное ядро и поведение. Из-во АН Арм.ССР. 106с., 1986.
3. Мадатова И.Р., Казарян Л.Г., Бояхчян О.А., Саакян С.Г. Биолог. журн. Армении. 46, 2, 1993.
4. Рябинская Е.А., Валуйская Т.С., Ашихмина О.В. Журн. высш. нервн. деят. 34, 1078-1085, 1984.
5. Саркисов Г.Т., Коваль И.Н., Гамбарян Л.С. Журн. высш. нервн. деят., 4, 645-653, 1989.
6. Саркисов Г.Т., Коваль И.Н., Гамбарян Л.С. Журн. высш. нервн. деят., 5, 896-903, 1984.
7. Финарджян В.В., Саркисян Дж. С. Нейронные механизмы красного ядра. М.: Наука, 268 с., 1992.
8. De-Groot J. The rat forebrain in stereotaxic coordinates. Amsterdam 120 p., 1959.
9. Kamil A.C. J.Comp. and Physiol. Psychol. 92, 388-396, 1978.
10. Levine M. Psychol. Rev. 66, 353-366, 1959.
11. Olton S., Becker T.J., Handelmann G.E. The Behavioural and Brain Sciences. 2, 3, 313-365, 1979.
12. O'Keefe J. In: Mol. And Cell. Interact. Underlying Higher Brain Functions. 1983.
13. Tughzouti K., Simon H., Moal M. Behav. and Neurol. Biol. 45, 48-56, 1988.

Поступила 29.IV.200

Биол. журн. Армения, 1-2 (58), 2006

УДК 577.15:612+635.166

КОМБИНИРОВАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ШУМА И КОРНЕЙ СОЛОДКИ НА АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

А.О. ОГАНИСЯН, С.М. МИПАСЯН, К.Р. ОГАНЕСЯН

Ереванский государственный университет, биологический факультет, кафедра
физиологии человека и животных, 375025

Выявлено, что при 30-дневном воздействии шума поднимается активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в височной коре, верхних и нижних бугорках четверохолмия, гипоталамусе, гиппокампе, мозжечке и надпочечниках кроликов. В условиях 30-дневного воздействия шума вскармливание животных корней солодки (из расчета 150 мг/100 г массы тела) повышает активность СДГ во всех отмеченных образованиях. Предварительное 20-дневное вскармливание животных корней солодки при дальнейшем 30-дневном комбинированном воздействии этих корней и шума в значительной степени повышает активность СДГ, что свидетельствует об улучшении метаболизма и компенсаторном энергообеспечении головного мозга и надпочечников в условиях длительного воздействия стресс фактора - шума.

Պարզվել է, որ 30 օրյա աղմուկի ազդեցությունից սուկցինատդեհիդրոգենազի (ՍԴԳ) ակտիվությունն ընկճվում է ճագարների քունքային կեղևում, քառաբլուրների վերին և ստորին երկրյուններում, հիպոթալամուսում, հիպոկամպում և մակերիվամներում 30 օրյա աղմուկի ազդեցության պայմաններում կենդանիներին մատուցակի արմատներով կերակրումը (150 մգ/100գ մարմնի մասսայի չափով) բարձրացնում է ՍԴԳ ակտիվությունը նշված բոլոր գոյացություններում: Կենդանիներին նախօրոք մատուցակի արմատներով 20 օրյա կերակրումը և հետագա 30-օրյա այդ արմատների և աղմուկի համակցված ազդեցությունը զգալիորեն բարձրացնում է ՍԴԳ ակտիվությունը, որը վկայում է լարումային զարթոն աղմուկի երկարատև նյութափոխանակության լավացման և փոխհատուցողական էներգաապահովման մասին:

At 30-day's influence of noise activity succinatedehydrogenase in various structures from the brain and adrenal glands of rabbits decreases. In conditions of 30-day's influence of noise feeding of animals by roots of *Glicyrrhiza glabra* L. (at the rate of 150 mg/100 g weights) raises activity succinatedehydrogenase in all noted formations. Preliminary 20-days feeding of animals by roots of *Glicyrrhiza glabra* L. at the further 30-day's combined influence of these roots and noise substantially raises activity succinatedehydrogenase that the stress of the factor - noise testifies to improvement of the metabolism and compensation power supply of a brain and adrenal glands in conditions of long influence.

**Шум - корни солодки - сукцинатдегидрогеназа - головной мозг -
надпочечники**

Длительное воздействие шума высокой интенсивности и частоты в определенных условиях может влиять на все органы и системы целостного организма [15], вызывая разнообразные изменения в нервной [9], сердечно-сосудистой [16, 19], пищеварительной [9] системах и подавлять активность ферментов и обмена веществ [8, 18]. Затянувшаяся стресс-реакция приводит

к истощению функциональных возможностей организма и переходу адаптационной реакции в патологическую, снижению производительности и качества труда, способствует развитию как общих, так и профессиональных заболеваний. При воздействии постоянного широкополосного шума в слуховом рецепторе возникают выраженные функционально-морфологические изменения, которые приводят к развитию тугоухости [10, 18]. Для повышения иммунитета, резистентности организма, профилактики и комплексного лечения многих заболеваний применяют препараты природного, преимущественно растительного происхождения с адаптогенной активностью. Биологически активные вещества растений близки естественным метаболитам организма, хорошо совместимы с ними, многие из них являются необходимыми для жизнедеятельности [7].

Корни солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.) широко используются в медицине для профилактики и лечения различных заболеваний. В настоящее время из них получен ряд эффективных препаратов, обладающих иммунотропным, антиоксидантным, адаптогенным и противострессовым действием [11, 12]. Экспериментально доказано, что подобные свойства корней солодки (КС) обусловлены содержанием в них целого ряда биологически и фармакологически активных веществ.

Целью представленной работы являлось изучение изменения активности фермента анаэробного метаболизма сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в некоторых структурах мозга и надпочечников кроликов при комбинированном воздействии шума и корней солодки.

Материал и методика. Эксперименты проведены на 16 половозрелых кроликах породы шиншилла, которых содержали в условиях вивария на обычном рационе. В пищу добавляли корень солодки из расчета 150 мг/100 г массы тела. Количество воды не ограничивали. Экспериментальных животных подвергали воздействию стабильного шума 1000 Гц с уровнем интенсивности 114 дБ звукогенератором ЗГ-34. Активность СДГ определяли по модифицированному изми методу [2]. Критерием активности фермента являлось время обесцвечивания метиленовой сини в гомогенате *in vitro* и присутствии аскорбиновой кислоты в анаэробных условиях. Чем короче время обесцвечивания, тем выше активность фермента. Использовался микротермостат МТ-03. Эксперименты проведены на трех группах. Животных I группы подвергали 30-дневному воздействию шума (контроль), II – 30-дневному комбинированному воздействию шума и корней солодки, животные III группы 20 дней получали корни солодки и на этом фоне в течение 30 дней подвергались комбинированному воздействию шума и корней солодки. Животных декапитировали с соблюдением требований эфтанализа [5], проводили экстирпацию и определяли активность СДГ в височной коре, нижних и верхних бугорках четверохолмия, гипоталамусе, гиппокампе, мозжечке и надпочечниках. Статистическая обработка полученных данных проводилась методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Оказывая рефлекторное влияние на ЦНС, шум вызывает нарушение биологического окисления в тканях, приводит к изменению уровня ферментативной активности мозговых структур и надпочечников.

Анализ полученных данных показал (табл.), что на 30-й день воздействия шума (I группа) наблюдалось снижение активности СДГ во всех изучаемых отделах мозга и надпочечниках. В височной коре снижение

активности фермента, т. е. время обесцвечивания метиленовой сини продлевалось на 68,8%, верхних бугорках четверохолмия - 37,6%, нижних бугорках четверохолмия - 42,4%, гипоталамусе - 10,9%, гиппокампе - 29,1%, мозжечке - 32,5%, а в надпочечниках - на 28,8% по сравнению с нормой. У кроликов II группы в условиях комбинированного воздействия шума и корней солодки отмечалось повышение активности СДГ во всех изучаемых отделах мозга и надпочечниках по сравнению с I группой. Наблюдалось повышение активности фермента, т. е. время обесцвечивания метиленовой сини в височной коре сократилось на 82,2%, верхних бугорках четверохолмия - 62,5%, нижних бугорках четверохолмия - 61,3%, гипоталамусе - 54,4%, гиппокампе - 58,7%, мозжечке - 71,9%, а в надпочечниках - на 20,4%.

Таблица. Изменение активности сукцинатдегидрогеназы в некоторых отделах головного мозга кроликов при совместном влиянии шума и корней солодки

Исследуемые отделы	Норма	Завершение реакции обесцвечивания метиленовой сини, сек		
		I	II	III
Височная кора	227±0,2	383,2±3,4	315,0±5,0	80,0±3,6
Нижние бугорки четверохолмия	170±0,3	242,0±1,2	148,3±1,05	62,0±0,9
Верхние бугорки четверохолмия	196±0,5	269,8±3,5	162,5±4,8	17,0±2,4
Гипоталамус	265,2±2,3	294,0±2,9	160,0±1,5	37±2,0
Гиппокамп	185±1,7	200,0±10,5	117,4±2,3	65,0±2,9
Мозжечок	129±2,7	171±7,5	123±3,1	38,0±3,7
Надпочечники	250,8±0,4	323,0±9,8	66,0±4,0	18,0±1,4

При стрессовых состояниях всегда появляется тканевая гипоксия. Этот синдром объясняется как снижением доставки кислорода тканям, так и уменьшением утилизации кислорода тканями. При этом важное значение имеет нарушение тонуса капилляров, проницаемости, реологического свойства эритроцитов [1, 6]. Судя по данным эритроцитов и гемоглобина, в периферической крови тканевая гипоксия наблюдалась также в нашем эксперименте. Так, у кроликов I группы обнаружено гипохромное снижение общего количества эритроцитов и содержания гемоглобина по сравнению с нормой: на 5-й, 10-й, 20-й и 30-й дни воздействия шума количество эритроцитов снижалось, %, 13,3; 22,8; 9,1 и 26,7, содержание гемоглобина - 4,6; 9,8; 7,9; 10,2 соответственно.

Энергетические потребности клеток в кислороде могут удовлетворяться в течение короткого времени за счет ограничения запасов энергии, а также анаэробного гликолиза. Однако этих источников энергии недостаточно, и они могут использоваться лишь в течение небольшого промежутка времени. При анаэробном метаболизме потребность клеток в глюкозе больше и естественное поступление последней обычно не может длительно удовлетворять ее. Предполагается, что содержащиеся в корнях солодки моно- и дисахариды (до 20%), а также водорастворимые полисахариды [11] имеют компенсаторное значение для обеспечения потребности тканей в этих

веществах, что стимулировало анаэробный метаболизм, следовательно и компенсаторное энергообеспечение тканей.

У животных III группы, подвергнутых комбинированному воздействию шума и КС, после предварительного 20-дневного кормления отмеченной дозой этими корнями и гомогенатах всех изучаемых отделов мозга и надпочечниках наблюдалась повышенная по сравнению с показателями I группы активность СДГ, т. е. время обеспечения метиленовой сини сократилось в височной коре, верхних и нижних бугорках четверохолмия, гипоталамусе, гиппокампе, мозжечке и в надпочечниках соответственно на (%) 20,9; 17,0; 25,6; 17,7; 32,5; 22,2 и 5,6 по сравнению с данными I группы.

Фермент анаэробного метаболизма - сукцинатдегидрогеназа, выполняющая важную компенсаторную функцию в энергообеспечении тканей, является весьма чувствительной характеристикой клеточного дыхания при изменении физиологического состояния организма в условиях воздействия различных факторов среды. С СДГ связывают деятельность кортикостероидов, которые активируют транспорт аминокислот, изменяют структуру клеточных мембран, "нормализуют" обменные процессы [3, 4].

Кортикостероиды широко распространены во всех структурах мозга, наиболее сконцентрированы в гипоталамусе и гипофизе, преимущественно в аденогипофизе, где синтезируется АКТГ, а также в парвоцеллюлярных нейронах паравентрикулярного и аркуатного ядер, продуцирующих кортиколиберин. Кортикостероиды по кортикогипоталамическим афферентным трактам проникают внутрь клеток, при более длительном соприкосновении с ней, проходя через цитоплазму, связываются со специфическими белками - рецепторами и далее в виде гормон-рецепторных комплексов достигают ядер, усиливая экспрессию соответствующих генов - мишеней. В этом случае возникающие изменения снижают или повышают порог чувствительности реактивных структур к внешним сигналам и соответственно сужают либо расширяют необходимые параметры гомеостаза [17].

Интенсивность биосинтеза глюкокортикоидных гормонов регулируется кортикотропином, который в свою очередь регулируется кортиколиберином. Следовательно, можно предполагать, что повышение активности СДГ во II группе на 54,4% и III - на 17,7% в гипоталамусе приводит к интенсивному синтезу глюкокортикоидных гормонов. По мнению авторов [14], активацию СДГ при воздействии экстремальных факторов можно рассматривать как адаптационный механизм, направленный на репарацию поврежденных клеточных структур за счет ускоренной продукции восстановленных коферментов в цикле трикарбоновых кислот, способствующих повышению мощности антиоксидантной системы.

Анализ результатов исследований свидетельствует, что при 30-дневном воздействии шума подавляется активность СДГ в височной коре, верхних и нижних бугорках четверохолмия, гипоталамусе, гиппокампе, мозжечке и надпочечниках кроликов. Вскармливание животным корней солодки, а также на фоне предварительного 20-дневного вскармливания животным корней солодки при дальнейшем 30-дневном комбинированном воздействии этих

корней (из расчета 150мг/100г массы) и шума в значительной степени повышает активность СДГ во всех отмеченных отделах, что свидетельствует об активации компенсаторных возможностей анаэробного метаболизма, направленной на поддержание энергетического гомеостаза головного мозга и надпочечников в условиях длительного воздействия стресс-фактора - шума.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Г.А., Погорелов В.М., Любченко П.П. Мел. труда и пром. экология. 10, 41-42, 1996.
2. Березов Г.Г. Рукон. к лабораторным занятиям по биологической химии. М., 81-83, 1976.
3. Голиков И.П. Рецепторные механизмы глюкокортикоидного эффекта. М., 1988.
4. Гуляев В.Г., Лянецвич С.Ф., Гуляев И.В. IV Росс. национальный конгресс "Человек и лекарство". М., 256, 1997.
5. Куфшина С.А., Павлова Т.Н. Эфганазия экспериментальных животных. Метод рекомендации. М., 1985.
6. Лосева М.И., Сухаревская Т.М., Похомова А.М. и др. Гигиена труда и проф. забол. 10, 19-22, 1984.
7. Макаров В.Г., Рыженков В.Е., Дадали В.А. и др. Вопр. биол. мел. и фарм. химии, 1, 47-49, 2000.
8. Минасян С.М., Баклаваджян О.Г., Оганисян А.О. Авиакосмич. и экологич. медицина. 5, 36-40, 1997.
9. Некипелов М.Н. Тез. докл. науч. сес. и регион. конф. "Проблемы мел. экол. и здоровья человека в Сибири". Иркутск, 26, 1996.
10. Нехорошев А.С. Гигиена и санитария, 1, 47-49, 1991.
11. Оболенцева В.Г., Литвиненко В.И., Амосов А.С. и др. Хим. фарм. журн., 8, 24-31, 1999.
12. Оганисян А.О., Оганисян К.Р., Минасян С.М. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова, 89, 12, 1491-1495, 2003.
13. Оганисян А.О., Оганисян К.Р., Авакян А.Д. Журн. Био. Екатеринбург, 7, 34, 10-11, 2003.
14. Смирнов В.В., Попов П.П. Космич. биол. и авиакосмич. медицина. 15, 3, 1981.
15. Суворов Г.А. Вибрация, шум и здоровье человека. Л., 10-14, 1988.
16. Цонева Л., Балычев Ю. Вестник отоларингологов, 55, 1995.
17. Шалыгина В.Г., Ордын Н.Э. Успехи физиол. наук, 31, 4, 86-101, 2000.
18. Шевцова В.М. Гигиена и санитария, 3, 44-47, 2003.
19. Язбурекис Б.И., Карпинская Т.В. Актуальные вопросы проф. забол. Клиника, диагностика, лечение. М., 96-100, 1995.

Поступила 03.III.2006

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 612.57

ВЛИЯНИЕ СИМПАТОЛИТИКА АМИНАЗИНА И СИМПАТОМИМЕТИКА КОФЕИНА НА ТЕМПЕРАТУРНЫЙ ГОМЕОСТАЗ У КРЫС

К.Р. АРУՇՈՅԱՆ, Բ.Ա. ԱՐՄՅՈՅԱՆ, Տ.ՈՒ. ՄԱՐՏԻՐՈՏՅԱՆ, Խ.Օ. ՆԱԴԱՍԵՏՅԱՆ

Институт физиологии им.Л.А.Орбели НАН Армении, 375028, Ереван

Показано, что аминазин вызывает гипотермический эффект, уменьшает активность сократительного термогенеза в скелетных мышцах и несократительного в висцеральных органах. Кофеин, наоборот, вызывает гипертермический эффект, увеличивает сократительный и несократительный термогенез в организме животных. Как аминазин, так и кофеин сдвигают температурный гомеостаз организма, действуя на симпатический отдел вегетативной нервной системы.

Ապացուցված է, որ ամինազինի ներարկումն օրգանիզմ հաղուցում է հիպոթերմիկ արդյունք, իջեցնելով կմախքային մկաններում ընթացող կծկողական և ընդերային օրգաններում ընթացող ոչ կծկողական ջերմածնությունը: Կոֆեինի ներարկումն օրգանիզմ հաղուցում է հիպերթերմիկ արդյունք՝ բարձրացնելով մկաններում և ընդերային օրգաններում ընթացող ջերմածնությունը: Ինչպես ամինազինը, այնպես էլ կոֆեինը շեղում են օրգանիզմի ջերմային հոմեոստազը, ազդելով վեգետատիվ նյարդային համակարգի սիմպատիկ բաժնի վրա:

The aminazine and caffeine injection influence the temperature regulation of the organism. Aminazine causes hypothermia in the "core" of the organism and vasodilatation of periphenc vessels of skin, but caffeine has opposite action, as antidepressant it acts on the temperature of skeletal muscles and rectum and induces hyperthermia but slightly decreases periphenc vessels tonus.

Гомеостаз - температура - аминазин - кофеин

Изучение влияния фармакологических препаратов на температурный гомеостаз организма имеет важное научное и клиническое значение. Согласно литературным данным [8, 10, 12], эффект влияния различных препаратов зависит от многих факторов, в том числе от дозы и путей введения в организм, от температуры окружающей среды, от исходной температуры "ядра" и т.д. Нашими ранними исследованиями [3, 4] показано, что введение лейцин-энкефалина как внутривенно, так и внутригипоталамически у кроликов вызывает гипотермию, в то время как введенный внутривенно гистамин вызывает повышение температуры тела, а внутригипоталамически – ее понижение. Причем, гипотермический эффект проявляется в два раза сильнее при инъекции препарата в передний, чем в задний гипоталамус [1]. В опытах [2] при температуре окружающей среды 20° подкожное введение гистамина снижало температуру тела животных, а при температуре среды 30°, наоборот, вызывало гипертермию. При изучении влияния разных доз

окситоцина на теплообмен у кроликов было доказано, что действие препарата зависело от исходного температурного фона "ядра" организма: высокие дозы окситоцина, введенные в организм на фоне нормотермии, индуцировали гипертермию, а низкие — гипотермию. Введение окситоцина на фоне исходной гипертермии "ядра" еще более потенцировало гипертермию.

Влияние широко используемых в клинике нейролептиков на температурный гомеостаз требует более детального изучения. Данные литературы [6, 7, 9, 11] показывают, что умеренные дозы аминазина понижают температуру тела. В опытах [7] через 30–40 мин после введения этого препарата температура тела телят понижалась на 1,5–2°, наблюдались дрожь и повышение тонуса периферических кровеносных сосудов. Нормализация показателей происходила через 1,5–2 часа.

Некоторыми исследователями [9] высказано предположение, что гипотермический эффект нейролептика аминазина вызван угнетением сократительного мышечного термогенеза в организме животных и человека. Ими также установлено, что симпатомиметик кофеин в условиях низких температур окружающей среды (–2°) повышал температуру "ядра" телят на 0,4–0,8°, а при высокой температуре среды (40°) особых изменений не вызывал.

Настоящее исследование посвящено изучению влияния аминазина и кофеина на активность некоторых показателей температурного гомеостаза (сократительный и несократительный термогенез, тонус периферических кровеносных сосудов, а также теплоотдачу и скорость объемного кровотока, теплосодержание в организме).

Материал и методика. Было проведено 24 эксперимента на 12 крысах. Каждый эксперимент проводили на двух крысах. В течение первых 30 мин проводили регистрацию исходных показателей, затем одной крысе внутривенно вводили аминазин в дозе 2,5 мг/100 г массы тела, а другой — кофеин в дозе 2 мг/100 г массы тела. Далее термографирование продолжалось в течение 90 мин. Сократительный мышечный термогенез и несократительный желудочно-кишечный термогенез определяли методом непрерывной регистрации температурных показателей бедренных мышц и ободочной кишки с точностью до 0,01°, а теплоотдачу и скорость объемного кровотока соответственно по формулам

$$H_{\text{кр}} = M \times C \times (T_{\text{я}} - T_{\text{к}}) \text{ и}$$

$$W_{\text{до}} = Q \times d \times C,$$

где $H_{\text{кр}}$ — это показатель радиационной и конвекционной теплоотдачи в ккал/100 г массы тела, M — масса кроли, равная 7,3% от массы тела, C — удельная теплоемкость кроли, равная 0,93 ккал/г °С, Q — среднее количество теплоотдачи, d — разность температуры тела до и после введения препарата, $T_{\text{я}}$ и $T_{\text{к}}$ — соответственно температура "ядра" и кожи ("оболочки") организма [5]. Теплосодержание определяли по формуле $Q = m \times c \times d$, где m — масса тела, c — средняя теплоемкость тела, равная 0,83 ккал/г°С [5]. Регистрацию исследуемых показателей проводили медно-константановыми термодатчиками диаметром 100 мкм на 12-канальном потенциометре типа ЭИИ-09-МЗ. Он подключался к выходу фотоэлектрического усилителя типа Ф-116/2, с чувствительностью 0,01°. "Рабочие" спай термодатчиков, регистрирующие мышечный термогенез, с помощью инъекционной иглы вводили в мякоть бедренных мышц на глубину 1,5–2 см, а для регистрации кишечного термогенеза термодатчики вводили в ободочную кишку на глубину 5–6 см. Температуру периферической крови измеряли с поверхности кожи хвостовой артерии.

Результаты и обсуждение. Выявлен достоверный гипотермический эффект аминазина. Понижение температуры ободочной кишки, как видно из таблицы и рисунка, оказалось на $0,72^{\circ}$ ниже контроля ($P < 0,01$), а скелетной мускулатуры - на $0,43^{\circ}$. Аминазин индуцировал вазодилатацию кожных кровеносных сосудов, увеличивая тем самым теплоотдачу с поверхности кожи хвоста, которая, как известно, является хорошим теплообменником для животных, покрытых шерстным покровом. Температура периферической крови была выше контроля на $0,69^{\circ}$ ($P < 0,01$), а скорость объемного кровотока - в два раза больше контроля, соответственно 4,89 мл/100 г и 2,35 мл/100 г массы тела. Количество тепла, выделенное радиационно-конвекционным путем было выше контроля на 2,7 кал/100г массы тела животного. Теплосодержание через 60 мин после введения аминазина снижалось на 78 кал/100г массы тела.

Таблица. Влияние аминазина и кофеина на температурный гомеостаз организма крыс

Показатели	До введения аминазина	После введения аминазина, мин		Значение "P"	До введения кофеина	После введения кофеина, мин		Значение "P"
		30	60			30	60	
Температура кишки	38,01	37,78 $\Delta T - 0,23$	37,29 $\Delta T - 0,72$	0,01	37,63	37,99 $\Delta T + 0,36$	38,11 $\Delta T + 0,75$	0,05
Т-ра скелетных мышц	36,23	35,92 $\Delta T - 0,31$	35,1 $\Delta T - 0,43$	0,05	36,35	36,82 $\Delta T + 0,49$	37,11 $\Delta T + 0,76$	0,05
Т-ра кровеносных сосудов	31,06	31,5 $\Delta T + 0,44$	31,75 $\Delta T + 0,69$	0,01	31	30,87 $\Delta T - 0,13$	31,02 $\Delta T + 0,02$	---
Теплоотдача, кал/100г мас	40	--	37,3	--	44,7	--	48,2	--
Скорость кровотока, мл/100г мас	2,35	--	1,89	--	4,2	--	3,8	--
Теплосодерж., кал/100г мас	3081	3058	3003		3090	3105	3127	

Кофеин вызывал обратные изменения температурных показателей организма. Из табл. и рис. видно, что кофеин индуцирует выраженную гипертермию. Через 60 мин после введения нейростимулятора кофеина температура скелетных мышц повышалась на $0,76^{\circ}$ ($P < 0,05$), а ободочной кишки на $0,75^{\circ}$ ($P < 0,05$). Однако вазоконстрикция хвостовой артерии была незначительной: скорость объемного кровотока изменялась всего на 1,6мл/100г, а теплоотдача - на 3,5кал/100г массы тела (в контроле соответственно 44,7 а после введения кофеина - 48,2кал/100г), а теплосодержание увеличивалось на 0,37 кал/100г массы тела.

Резюмируя полученные результаты, можно заключить, что гипотермический эффект аминазина вызван уменьшением сократительного термогенеза в мышцах и одновременным уменьшением термогенеза в висцеральных органах, в том числе в ободочной кишке. Аминазин, как

известно, имеет симпатолитическое действие на организм и, связываясь с бета-адренорецепторами, вызывает вазодилатацию кожных кровеносных сосудов, усиливая кровоток и теплоотдачу, которая предшествует гипотермии. Такое предположение коррелирует с результатами, изложенными в наших ранних работах [1]. Нам было показано, что удаление шейных и (или) брюшных симпатических узлов или блокада бета-адренергических структур гипоталамуса обзиданом приводили к снижению общего метаболизма на 41%, а температуры печени и желудочно-кишечного тракта на 0,13°.

Кофеин, будучи нейростимулятором, активизирует симпатическую нервную систему, стимулируя теплообразование в организме. Препарат увеличивает сократительный и несократительный термогенез в организме, однако он мало влияет на тонус кожных кровеносных сосудов.

Таким образом, системное введение аминазина и кофеина в течение 60 мин нарушает температурный гомеостаз организма, действуя на симпатический отдел вегетативной нервной системы.

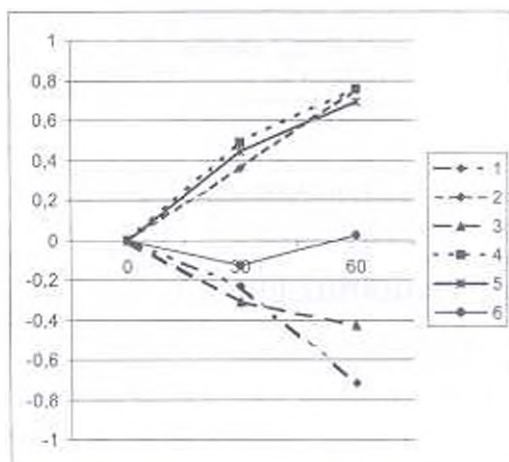


Рис. Влияние аминазина и кофеина на температурный гомеостаз у крыс.

По оси абсцисс — время, мин. По оси ординат — изменение температуры (ΔT) "ядра" и "оболочки".

1. Температура кишки после введения аминазина, 2. кофеина. 3. Температура мышц после введения аминазина, 4. кофеина. 5. Температура сосудов после введения аминазина, 6. кофеина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р.А. ДАН Арм. ССР, 85, 4, 189-192, 1987.
2. Арутюнян К.Р. Арутюнян Р.А. и др. ДАН Армении, 3, 3, 134-139, 1992.
3. Арутюнян Р.А., Арутюнян К.Р. и др. ДАН Армении, 102, 3, 276-280, 2002.
4. Арутюнян Р.А. Саакова Л.А. и др. ДАН Арм.ССР, 90, 45-80, 2001.
5. Иванов К.П. Биоэнергетика и температурный гомеостаз. Л-д, "Наука", с.285, 1982.
6. Лабери А. Регуляция обменных процессов. М., 384с., 1970.
7. Луландин Ю.В. Фармакология и токсикология. 41, 1, 12-16, 1973.
8. Мурзенко П.П. Автореф. докт. дисс., Минск, 41 с., 1991.
9. Степура В.Д. В сб. "Вопросы адаптации с/х животных". Краснодар, 73-75, 1971.
10. Hellone R.F. Physiology. 250, 29-30, 1975.
11. Helone R.F. Central transmitters and thermoregulation. Amsterdam, 71-85, 1972.
12. May T., Mittery J. Hormonal metabol. Res. 11, 30-33, 1979.

Поступила 09.IX.2005

Биолог. журн. Армении. 1-2 (58), 2006

УДК 616.681-018:538.3

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ НА УРОВЕНЬ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ

Г.В. СААКЯН, Г.Г. АРЦРУНИ

НИИ ЕРГМУ им. М.Гераци, 375025, Ереван

Исследовалось однократное и дробное (6 дней, по 6 ч в день) влияние электростатического поля напряженностью 200 кВ/м на уровень половых гормонов белых беспородных крыс. Было показано, что действие поля приводит к изменениям содержания половых гормонов в сыворотке крови и семенниках, следствием чего являются изменения в процессах сперматогенеза. Судя по полученным нами данным, кратковременное воздействие стимулирует сперматогенез, а длительное – подавляет.

Ուսումնասիրվել է 200 կՎ/մ լարվածությամբ 1 ժամ և 6 օր 6-ական ժամ տևողությամբ արտաքին էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունը արական սեռի սպիտակ, ոչ ցեղային առնետների սեռական հորմոնների մակարդակի վրա: Ցույց է տրվել, որ էՄԴ-ի ազդեցությունը բերում է արյան մեջ և սերմնարաններում սեռական հորմոնների քանակական փոփոխությունների, դրանով իսկ ազդելով սպերմատոգենեզի ընթացքի վրա: Ղատենով մեր նախկին աշխատանքների արդյունքներից և ստացված տվյալների, էՄԴ-ի կարճատև ազդեցությունը խթանում է սպերմատոգենեզը, իսկ երկարատևը՝ ճնշում է:

The level of sex hormones of male rats exposed to external electrostatic field for 1 hour and partially for 6 hours every day during 6 days was studied. The mentioned influence leads to the quantitative changes of sex hormones in the blood and in the testicles. Our previous data and present results show that the short-term influence of electrostatic field activates the spermatogenesis, while the long-term action suppresses it.

Электростатические поля - сперматогенез - половые гормоны

Среди многочисленных антропогенных экологических факторов внешней среды как по динамичности своих изменений, так и по распространенности особое место занимает внешнее электростатическое поле (ЭСП) напряженностью выше фоновых. На сегодняшний день его высокая биологическая активность не вызывает сомнений, однако среди многочисленных работ по биологическим эффектам ЭСП встречаются лишь единичные о влиянии ЭСП на репродуктивную систему [4, 8].

Ранее нами было показано, что воздействие ЭСП напряженностью 200 кВ/м приводит к структурно-функциональным изменениям семенников крыс и модификации процессов сперматогенеза [2, 7]. Для составления более полной картины влияния ЭСП на процессы сперматогенеза и выявления определенных механизмов действия на репродуктивную систему необходимо исследовать влияние его на уровень половых гормонов.

Целью данной работы является выявление количественных изменений уровня половых гормонов после воздействия ЭСП.

Материал и методика. Объектом исследований служили кровь и семенники белых беспородных крыс массой 130-150 г, подвергшихся одночасовому и дробному (6 дней по 6 ч ежедневно) воздействию ЭСП напряженностью 200 кВ/м, которое создавали при помощи установки конденсаторного типа с контролируемыми параметрами поля [1].

Для каждой экспозиции и контрольных опытов использовали 6-15 животных. Во избежание влияния циркадных ритмов забой животных проводили в одно и то же время суток. Животных забивали сразу и через 4, 7 и 14 сут после действия поля. Непосредственно после декапитации у всех исследуемых животных брали кровь и извлекали семеноток. Ткани извлеченных семенников были гомогенизированы и отцентрифугированы при 1500 г в течение 15 мин.

Супернатанты и сыворотку до проведения иммуноферментного анализа хранили в глубоком холоде (при -20°). Определение гормонов тестостерона (ТС), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ) проводили при помощи кит-наборов фирмы DRG-International Inc. (США) на автоматическом спектрофотометре Stat-Fax 303 Plus (США) в диапазоне длины волны 420-450 нм. Содержание гормонов выражали в нг/мл.

Статистическую обработку данных проводили по общепринятой методике [3].

Результаты и обсуждение. Как следует из табл. 1, после одночасового воздействия ЭСП происходит увеличение количества свободного ТС в крови. Так, сразу после воздействия имеет место недостоверное увеличение ТС на 41,5%, а через 4, 7 и 14 дней наблюдается статистически достоверное увеличение на 248%, 215,5% и 159% соответственно. В семенниках у тех же животных при аналогичных исследованиях достоверных изменений количества ТС не выявлено, однако наблюдается тенденция к его повышению.

Таблица 1. Результаты одночасового воздействия на уровень половых гормонов ЭСП напряженностью 200 кВ/м

		Контроль	Сразу	Сутки		
				4	7	14
Тестостерон	Кровь	1.745 ± 0.350 n=10	2.47 ± 0.35 n=8 t=1,40	6.1 ± 1.22 n=5 t=3,43*	5.5 ± 0.61 n=7 t=5,72*	4.52 ± 0.95 n=6 t=2,74*
	Семенники	13.82 ± 1.500 n=12	14.77 ± 2.012 n=7 t=0,39	15.85 ± 1.520 n=7 t=1,32	18.00 ± 1.500 n=8 t=1,97	12.925 ± 1.53 n=7 t=0,42
ЛГ	Кровь	0.484 ± 0.036 n=11	0.689 ± 0.17 n=7 t=1,16	0.516 ± 0.046 n=7 t=0,54	—	—
	Семенники	0.372 ± 0.082 n=10	0.358 ± 0.032 n=15 t=0,16	0.315 ± 0.048 n=8 t=0,56	—	—
ФСГ	Кровь	0.369 ± 0.042 n=11	0.423 ± 0.069 n=6 t=0,675	0.286 ± 0.017 n=6 t=1,832*	0.503 ± 0.007 n=6 t=3,12	—
	Семенники	0.372 ± 0.035 n=9	0.415 ± 0.035 n=10 t=1,23	0.636 ± 0.123 n=6 t=2,24*	—	—

* $p < 0,05$

Достоверных изменений количества ЛГ как в крови, так и в семенниках во все исследованные сроки последействия ЭСП не наблюдалось, хотя, судя по полученным данным, имеется тенденция к повышению уровня исследованного гормона в крови и его понижению в семенниках.

Количество ФСГ в крови в зависимости от времени последствия меняется волнообразно. Так, сразу после воздействия наблюдается тенденция к его повышению, через 4 сут имеет место достоверное понижение на 22.5%, а через 7 сут — повышение на 36.3%. В семенниках сразу после воздействия наблюдается тенденция к увеличению содержания ФСГ, а через 4 сут достоверное повышение на 70.9%.

Ранее нами было показано, что воздействие ЭСП приводит к активации клеток Лейдига, которая проявляется гипертрофией ядра, увеличением количества цитоплазматических выростов, расширением межклеточного пространства и скоплением клеток вокруг кровеносных капилляров [2]. Как следует из работ [6, 9], ФСГ повышает чувствительность клеток Лейдига к ЛГ. Судя по полученным данным, повышение содержания ФСГ в семенниках при однократном воздействии не сопровождается повышением ЛГ.

Сопоставление этих результатов с вышеизложенными литературными данными позволяет предположить, что увеличение количества цитоплазматических выростов клеток Лейдига и их скопление вокруг кровеносных капилляров является компенсаторной реакцией на недостаточность ЛГ.

Общезвестно, что синтез ТС клетками Лейдига регулируется гипофизарным ЛГ [6], а так как при однократном воздействии ЭСП в семенниках и в крови достоверных изменений количества ЛГ не обнаружено, то резкое повышение ТС в крови невозможно объяснить повышением его секреции клетками Лейдига. Известно, что в крови находится малое количество несвязанного (свободного) ТС, так как он присутствует в глобулинсвязанном состоянии. При разных патологиях повышение ТС в крови объясняется освобождением связанного гормона [5]. Так как мы измеряем концентрацию только свободного ТС, то можно предположить, что его повышение в крови после однократного воздействия обусловлено повышением свободного ТС за счет его расщепления из связанного состояния.

Общезвестно, что ЛГ непосредственно регулирует синтез и секрецию ТС в клетках Лейдига [5]. Как показывают результаты наших экспериментов, концентрация ЛГ после действия ЭСП практически не изменилась, хотя в крови, особенно сразу после воздействия поля, наблюдается тенденция к повышению его уровня, в то же время в семенниках выявлена тенденция к его понижению. Этот факт можно объяснить повышением концентрации свободного ТС в крови, так как известно, что между этими гормонами есть отрицательная обратная связь [5, 9].

Ранее нами было показано, что однократное воздействие ЭСП напряженностью 200 кВ/м приводит к активации сперматогенеза [2, 7], что проявляется активацией клеток адлюминального слоя семенников, ответственных за сперматогенез, превращением числа темных клеток Сертоли, которые стимулируют деление половых клеток и увеличивают выброс зрелых сперматозоидов в просвет канальцев.

Известно, что ФСГ регулирует работу клеток Сертоли [10]. Выявленное нами повышение уровня ФСГ в семенниках при его понижении в крови на 4 сут после воздействия подтверждает ранее обнаруженный стимулирующий эффект кратковременного воздействия ЭСП на процессы сперматогенеза. Повышение уровня ФСГ на 7 сут после воздействия, возможно, является

компенсаторной реакцией гипофиза на избыточное потребление исследуемого гормона.

Итак, полученные результаты и проведенные ранее морфологические и ультраструктурные исследования семенников позволяют нам заключить, что одночасовое воздействие ЭСП напряженностью 200 кВ/м приводит к активации сперматогенеза.

После дробного воздействия ЭСП (6 сут, 6 ч в день) во все исследованные сроки последствия достоверных изменений содержания тестостерона в крови не выявлено (табл. 2). В семенниках сразу после воздействия и на 4 сут последствия имеет место достоверное понижение уровня тестостерона на 38.3% и 43.64% соответственно. Через 7 сут наблюдается недостоверное понижение, через 14 сут в содержании исследуемого гормона между опытными данными и контрольными нет различий.

Таблица 2. Результаты дробного воздействия на уровень половых гормонов ЭСП напряженностью 200 кВ/м

		Контроль	Сразу	Сутки		
				4	7	14
Тестостерон	Кровь	1.745 ± 0.35 n=10	2.1 ± 0.51 n=7 t=0.57	1.01 ± 0.16 n=6 t=1.65	2.04 ± 0.48 n=6 t=0.51	1.55 ± 0.28 n=6 t=0.44
	Семенники	13.82 ± 1.5 n=12	8.53 ± 1.87 n=6 t=2.11*	7.86 ± 1.08 n=6 t=2.62*	9.45 ± 1.69 n=6 t=1.72	14.55 ± 0.65 n=6 t=0.45
ЛГ	Кровь	0.484 ± 0.036 n=11	0.418 ± 0.039 n=6 t=1.24	0.333 ± 0.026 n=7 t=3.43	—	—
	Семенники	0.372 ± 0.082 n=10	0.457 ± 0.051 n=6 t=0.89	0.329 ± 0.014 n=8 t=0.52	—	—
ФСГ	Кровь	0.369 ± 0.042 n=11	0.417 ± 0.038 n=6 t=0.8	0.308 ± 0.026 n=6 t=1.24	0.344 ± 0.34 n=6 t=0.46	—
	Семенники	0.372 ± 0.035 n=9	0.716 ± 0.12 n=6 t=2.75*	0.431 ± 0.074 n=6 t=0.72	—	—

*p<0,05

Эти данные и морфоструктурная картина семенников при тех же параметрах воздействия ЭСП свидетельствуют о подавлении секреторной функции семенников [2,7]. Это заключение подтверждается также изменениями содержания ЛГ в крови и в семенниках. Так, в крови сразу после воздействия поля наблюдается тенденция к понижению ЛГ, а на 4 сут последствия обнаружено достоверное понижение гормона на 31.2%. В семенниках достоверных изменений содержания этого гормона не было выявлено.

ФСГ сразу после воздействия имеет тенденцию к повышению в крови, а в семенниках обнаружено его достоверное повышение на 92.5%. Во все остальные исследованные сроки последствия в крови и семенниках

наблюдалась тенденция к понижению содержания гормона.

Согласно данным, приведенным в работе [11], резкое увеличение ФСГ в семенниках, которое сопровождается повышением ЛГ и понижением ТС, приводит к реконструкции сперматогенного слоя семенников.

Ранее проведенные нами морфологические и ультраструктурные исследования семенников показали, что при дробном воздействии ЭСП наблюдается заметная дискомплексация в сперматогенном слое канальцев, имеют место дистрофические изменения цитоплазмы большинства сперматоцитов и сперматидов, встречаются канальцы с полностью разрушенной структурой [2, 7]. Результаты гормонального анализа показывают, что сразу после дробного воздействия поля в семенниках имеет место тенденция к повышению ЛГ и достоверное понижение ТС, в то же время содержание ФСГ резко повышается, что позволяет нам прийти к заключению, что дробное воздействие ЭСП напряженностью 200 кВ/м приводит к определенным изменениям сперматогенеза, особенно выраженным в конечной стадии образования гамет.

Вышеизложенное и наши предыдущие работы позволяют заключить, что воздействие внешнего ЭСП напряженностью 200 кВ/м на крыс приводит к структурным и функциональным перестройкам их семенников, следствием чего являются изменения в процессах сперматогенеза. Судя по полученным нами данным, кратковременное воздействие стимулирует сперматогенез, а длительное подавляет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арицруни Г.Г. Удост. на рац. предложение, 134, 1983.
2. Довлатян Р.А., Авакян Л.А., Арицруни Г.Г. Мед. наука Армении, XLIV, 2, 33-37, 2004.
3. Кендалл М., Стюарт А.В. В кн.: Статистические выводы и связи. М., Наука, 605-607, 1973.
4. Портнов Ф.Г., Израилет Л.И., Брейдис Ю.Э., Попов В.В., Камцкий Ю.М. В сб.: "Гигиена, труда и биол. действие электромагнитных волн радиочастот. М., 128-130, 1970.
5. Теннермен Дж., Теннермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. М., "Мир", 190, 1989.
6. Юдиев Н.Л. Биохимия гормонов и гормональная регуляция. М.: Наука, с. 256, 1976.
7. Artsruni G.G., Dovlatyan R.A., Avakyan L.A., Sahakyan G.V. The fourth international conference of electromagnetic fields and biological effects, Kungum, China, p.12, 2005.
8. Chernoff N., Rogers J.M., Kavet R. Toxicology. 74(2/3), 91-126, 1992.
9. Cooke B.A., Choi M.C., Dirami G., Lopez-Ruiz M.P., West A.P. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 43(5), 445-449, 1992.
10. Griswold M.D. Action of FSH on mammalian Sertoli cells. In: Griswold M.D., Russell L.D., ed. The Sertoli Cell. Clearwater, F.L.: Cache River Press, 493-508, 1993.
11. Sinha Hikim A.P., Amador A., Klemcke H., Bartke A., Russell L.D. Endocrinology. 125, 1829-1843, 1989.

Поступила 08.11.2006

Биолог. журн. Армении. 1-2 (58), 2006

УДК 595.43(479.25)

ՀՐԱԶՂԱՆ ԳԵՏԻ ՏՋՐՈՒԿՆԵՐԻ ՖԱՈՒՆԱՅԻ ԱՐԴԻ ՎԻՃԱԿ

Ս.Ռ. ԴԱԼԼԱՔՅԱՆ, Ա.Յ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ, Է.Խ. ԴՈՒԿԱՍՅԱՆ

«ՀԱՀՊՐՈՒԿՈՂՈՐԴԱՅԻ և ԺՆՆԱԲԱՐԱՆՈՒՅԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ, 375019, Երևան

2004թ-ի մարտ-նոյեմբեր ժամանակահատվածում Հրազդան գետում իրականացված հատակային ֆաունայի հետազոտությունների արդյունքում որոշվել է տզրուկների տեսակային կազմը: Կատարվել է համեմեմատություն Հրազդան գետի տզրուկների ֆաունայի վերջին հետազոտությունների արդյունքների հետ: Նախկին հետազոտողների կողմից 1936թ-ին նկարագրված 9 տեսակ տզրուկներից, հայտնաբերվել է 6 տեսակ, որոնց բնութագրվում են որպես α -մեզոսապրոբային ձեռք: Առաջին անգամ գետում հայտնաբերվել է ձկան տզրուկ - *Piscicola respirans* տեսակը:

Исследования донной фауны, осуществленные в марте-ноябре 2004 г. позволили определить видовой состав пиявок реки Раздан. Проведен сравнительный анализ количественных и качественных показателей фауны пиявок с данными последних исследований бентоса реки в 1936 году. Из 9 видов пиявок, отмеченных авторами в 1936 г., обнаружено только 6 видов, характерных для α -мезосапробных водоемов. Впервые для реки Раздан отмечена рыба пиявка - *Piscicola respirans*.

As a result of investigations of bottom fauna of Hrazdan river in March-November in 2004 the species composition of leeches has been characterized. These results were compared with the 1936 investigations results, which are the last one. From 9 species of leeches detected in 1936 only 6 of them were found in 2004. The characteristic of these leeches is that they are α -mesosaprobic. One of them - *Piscicola respirans* - is a novel one for the bottom fauna of river Hrazdan.

Տզրուկներ - Հրազդան գետ - հատակային ֆաունա

Հրազդան գետը մեծ դեր ունի երկրի տնտեսության զարգացման գործում: Այն անցնում է չորս մարզերով, որտեղ էլ գետի ջրերն օգտագործվում են էներգետիկ, գյուղատնտեսական, արդյունաբերական, ձկնաբուծական և այլ նպատակներով [1]: Այդ իսկ պատճառով գետի հատակային ֆաունայի քանակական և որակական ցուցանիշների բացահայտումը կարևոր նշանակություն ունի հիդրոէկոհամակարգի սննդային փոխհարաբերությունների և գետի ինքնամաքման պրոցեսների գնահատման համար:

Հրազդան գետի հատակային ֆաունայի գերակշռող խմբերից են տզրուկները: Դրանց մեծ մասը ակտիվ գիշատիչներ են և սնվում են հատակային անողնաշարավոր կենդանիներով, իսկ որոշ տեսակներ մակաբուծում են կաթնասունների, թռչունների, ձկների և այլ կենդանիների վրա: Տզրուկներն իրենց հերթին կեր են հանդիսանում բենթոֆագ ձկնատեսակների և այլ հիդրոէկոհամակարգի խմբեր:

Կատարված աշխատանքի նպատակն է բացահայտել Հրազդան գետի տզրուկների ֆաունայի տեսակային կազմը, ինչպես նաև գնահատել գետի

տարբեր հատվածներում տզրուկների տեսակային կազմի որակական և քանակական ցուցանիշները:

Առանձնահատուկ հետաքրքրություն է ներկայացնում նաև ստացված տվյալների համեմատությունը անցյալ դարի 30-ական թվականների հետազոտությունների արդյունքների հետ [2]:

Նյութ և մեթոդ: 2004 թ. -ի մարտ-նոյեմբեր ժամանակահատվածում կատարվել են Հրազդան գետի և նրա գլխավոր վտակ Մարմարիկի հատակային ֆաունայի ջրակենսաբանական հետազոտություններ: Փորձամուշներ են վերցվել հետևյալ հատվածներից

1. Մարմարիկի ստորին հոսանքից,
2. Հրազդան գետից Մարմարիկ վտակի խառնվելուց հետո,
3. Բջնի գյուղից հետո,
4. Արզնու ձորից,
5. Գետամեջ գյուղի տարածքից,
6. Հովտաշեն գյուղի տարածքից

Տարբեր բիոտոպներից քայլ, ավազ, մակրոֆիտ, հավաքվել է 73 փորձամուշ, որոնք ֆիքսվել և մշակվել են ջրակենսաբանությունում ընդունված հայտնի մեթոդներով [5]: Որոշվել է տզրուկների տեսակների հանդիպման հաճախականությունը համաձայն $P = (m/n) \cdot 100\%$ բանաձևի, որտեղ P -ն - հանդիպման հաճախականությունն է, m -ը - այն փորձամուշների քանակն է, որտեղ հայտնաբերվել են տզրուկներ, n -ը - փորձամուշների ընդհանուր քանակն է:

Արդյունքներ և քննարկում: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ գետի տարբեր հատվածներում հանդիպում են տզրուկների հետևյալ 7 տեսակները՝ *Glossiphonia complanata*, *Glossiphonia heteroclita*, *Helobdella stagnlis*, *Helobdella lineata*, *Helobdella octoculata*, *Homeopsis sanguisuga*, *Piscicola respirans*:

Նախկինում հայտնաբերված տզրուկների 9 տեսակներից չեն հայտնաբերվել երեքը՝ *Hemiclepsis marginata*, *Haementeria costata*, *Herpobdella testacea* տեսակները: Անր կողմից հայտնաբերվել է նաև ծկան տզրուկ (*Piscicola respirans*) տեսակը, որի զոյության մասին չի խոսվում Բենիզգի աշխատությունում, հետևաբար վերջինս նորություն է Հրազդան գետի հատակային ֆաունայի համար: *P. respirans* տեսակը հանդիպել է գետի գլխավոր վտակ Մարմարիկի ստորին հոսանքում:

Վերը նշված տեսակներից գետի համար առավել բնորոշ է *Herpobdella octoculata*-ն, որը հանդիպել է մեծ թվաքանակով տարբեր բիոտոպներում: Բջնի գյուղից հետո ընկած Հրազդան գետի հատվածում տզրուկները դարձել են հատակային ֆաունայի գերակշռող խումբ:

1. *Glossiphonia complanata* տեսակը վերիբիոնտ է, տարածված է հիմնականում մաքուր կամ բույլ աղտոտված լճերում և գետերում, դիստրոֆ ջրային էկոհամակարգերում չի հանդիպում: *G. complanata*-ն հիմնականում սնվում է փափկամարմիններով: Ուժեղ աղտոտված ջրամբարներում փափկամարմինների բացակայության պատճառով զրեթե չի հանդիպում: Այն բնութագրվում է որպես β -մեզոսպարոբային տեսակ: Ունի զարգացման երկու տարվա ցիկլ: Բազմացման շրջանը սկսվում է զարնանը [3]:

Նախկինում հայտնաբերվել է հուլիսին Հրազդանի վերին հոսանքում (մինչ Վարսեր գյուղը) բույսերի վրայից վերցված փորձամուշներում [2]:

Նշված տեսակի մեկ առանձնյակ մեր կողմից նույնպես հայտնաբերվել է հուլիսին Մարմարիկի ստորին հոսանքում՝ բույսի վրայից վերցված փորձամուշում:

2. *Glossiphonia heteroclita* տեսակը զգայուն չէ ջրում լուծված թմրական նյութերի նկատմամբ և կարող է հարմարվել ջրերի աղտոտվածությանը: Հանդիպում է նաև գործնականորեն մաքուր ջրամբարներում: Սնվում է փափկամարմիններով

(*Physa*, *Limnaea*), միջատների թրթուրներով, ինչպես նաև աղտոտված ջրամբարներում առավել շատ հանդիպող սակավախոզան որդերով: Գետերում բնակվում է հիմնականում բույսերի վրա:

Տարածման արեալը կարող է սահմանափակվել սննդային մրցակցության արդյունքում: *G. heteroclita*-ի համար մրցակից է հանդիսանում *G. complanata*-ն, որն ունի կերային միևնույն պահանջները: Ջերմաստիճանային պայմանները և քիմիական գործոնները տարածվածության վրա չեն ազդում: Ունի զարգացման մեկ տարվա ցիկլ: Բազմացման շրջանը սկսվում է զարմանը [3]:

Նախկինում *G. heteroclita* տեսակը հայտնաբերվել է գետի վերին հոսանքում Վարսեր գյուղի մոտ, աջ ափի քարերի վրա [2]:

Մեր կողմից այն հայտնաբերվել է Մարմարիկ գետի ստորին հոսանքում սեպտեմբերին բույսերի վրայից վերցված փորձանմուշում:

3. *Helobdella stagnalis* տեսակը հաճախակի հանդիպում է գետերի այն հատվածներում, որտեղ հոսքը դանդաղ է և բուսականություն լավ է զարգացած: Բնութագրվում է որպես էվրիբիոնտ, էվտրոֆ ջրամբարներին բնորոշ տեսակ: Սնվում է փափկամարմիններով, սակավախոզան որդերով և միջատների թրթուրներով, նաև մահացած ձկան, խեցգետնի կամ այլ հիդրոբիոտների մնացորդներով: Տեսակն ունի զարգացման մեկ տարվա ցիկլ [3]:

Նախկինում հայտնաբերվել է հուլիսին Հրազդանի ակունքից մինչև Երևան ընկած հատվածում բույսերի վրա: Նշվել է որպես տարածքին առավել բնորոշ տեսակ [2]:

Մեր կողմից *H. stagnalis*-ը ավելի հաճախ և մեծ թվաքանակով հայտնաբերվել է բույսերի վրա Հրազդանի Բջնի գյուղից հետո ընկած հատվածում (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Հրազդան գետի ֆիտոբեոֆիլ բիոտոպում *H. stagnalis* քանակական ցուցանիշները

N - առանձնյակների թվաքանակ /մ?

B - կենսազանգված /գ/մ?

Միջատ Պիտակետ	հուլիս	օգոստոս	սեպտեմբեր	նոյեմբեր
1	7 60	0	0	0
2	0	2 72	2 45	2 10
3	0	7 72	2 5	12 72
4	0	2 25	-	2 35

4. *Herpobdella lineata* բնակվում է հոսող ջրերում և ոչ մեծ ջրամբարներում, որոնք ամռան ընթացքում կարող են ցամաքել պահպանելով միայն հատակի խոնավությունը: Բազմացման շրջանը սկսվում է զարման կեսերին: Ենթադրվում է, որ ունի 2 տարվա կյանքի ցիկլ [1]:

Տեսակը առավել բնորոշ է եղել Արզնու ձորից մինչև Երևան ընկած գետի հատվածի հատակային ֆաունային: Հանդիպել է քարերի և բույսերի վրա [2]:

H. lineata տեսակը մեր կողմից հայտնաբերվել է գետի վերը նշված բոլոր հատվածներում: Այն հանդիպում է գետի ամբողջ տարածքում (աղ. 2)

Աղյուսակ 2. Գրագղան գետի ֆիտոբեոֆիլ բիոտոպում *Herpobdella lineata* տեսակի տզրուկների քանակական ցուցանիշները

առանձն /մ²
զ/մ²

Միջին Ռիտակետ	մարտ	մայիս	հունիս	հուլիս	օգոստոս	սեպտեմբեր	հոկտեմբեր	նոյեմբեր
1	0	0	0	0	0	0	25 75	0
2	0	0	20 810	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	25 395	0	0	5 130
4	0	0	0	2 185	20 707	0	0	12,5 387
5	0	2 160	0	30 627	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0

Այս տեսակի տզրուկները լավ զարգացած են մահ լիտորեոֆիլ բիոտոպերում, որտեղ առավելագույն թվաքանակը կազմել է 7 առանձն./մ², իսկ կենսազանգվածը՝ 251մգ/մ², պելոբեոֆիլ բիոտոպերում առավելագույն թվաքանակը 117 առանձն./մ², կենսազանգվածը՝ 1294 մգ/մ²:

5. *Herpobdella octoculata* Այս տեսակը բնակվում է Պալեարկտիկայի տարբեր տիպի ջրամբարներում և շատերում առավել մեծաքանակ խումբն է: Գերադասում է կանգնած ջրամբարները, մակրոֆիտներով հարուստ, թույլ հոսք ունեցող գետերը: *E. octoculata*-ն կարող է բնակվել ուժեղ աղտոտված ջրամբարներում, քանի որ զգայուն չէ pH-ի, CaO-ի, թթվածնի փոփոխության և աղտոտիչների նկատմամբ: Բացառություն են կազմում հումիկային թթուները, որոնց նկատմամբ նրանք զգայուն են, և այդ իսկ պատճառով դիստրոֆ ջրամբարներում այս տեսակը չի հանդիպում: Սնվում է մանր անողնաշարավորներով՝ սակավախոզան որդերով, միջատների թրթուրներով, մանր խեցգետնակերպերով, մեռած կենդանիներով: Ունի զարգացման 2 տարվա ցիկլ:

Նախկինում հայտնաբերվել է գետի վերին հոսանքում ակունքից մինչև Կարսեր, բույսերի և քարերի վրա: Մեկ փորձանմուշում գրանցվել է 1-18 առանձնյակ [2]:

Մեր հետազոտությունների արդյունքներից կարելի է եզրակացնել, որ Գրագղանի տզրուկների ֆաունային առավել բնորոշ տեսակներից է *E. octoculata*-ն, որը հանդիպել է տարբեր բիոտոպերից վերցված զրեթե բոլոր փորձանմուշներում: Կատարվել է նրանց թվաքանակի և կենսազանգվածի վերահաշվարկ յուրաքանչյուր բիոտոպի 1մ² մակերեսի համար (աղ. 3.).

Այս տեսակի տզրուկները լավ զարգացած են մահ լիտորեոֆիլ բիոտոպերում՝ որտեղ առավելագույն թվաքանակը կազմել է 128 առանձն./մ², իսկ կենսազանգվածը՝ 3,3 գ/մ²:

6. *Homeopsis sanguisuga* տեսակի տզրուկն աչքի է ընկնում իր մեծ չափերով (6-8 սմ երկարությամբ և 1 սմ լայնությամբ) և երկկենցաղ ապրելակերպով: Այն արտաքին տեսքով շատ նման է բժշկական տզրուկին, սակայն արյունով չի սնվում, այլ ակտիվ գիշատիչ է:

Աղյուսակ 3. Հրազդան գետի ֆիտոբենոֆիլ բիոտոպում *Erpobdella octoculata* բանակական ցուցանիշները

աղանձ 10
զ/մ²

Պրոտակետ	մայիս	մարտ	ապրիլ	մայիս	հունիս	հուլիս	օգոստոս	սեպտեմբեր	հոկտեմբեր	նոյեմբեր
1	0	0	0	0	0	0	0	2.5 15	10 130	0
2	0	0	0	20 281	0	12.5 32.5	20 675	0	0	0
3	0	0	0	7.5 837	7.5 55	112 940	30 322	7.5 145	150 3622	
4	0	0	0	0	7.5 177.5	55 827	5 180	5 15	17 215	
5	17 430	0	25 1970	7.5 670	105 785	201 695	92 1622	87 495	35 485	
6	0	0	2.5 812	0	0	5 195	2 10	0	0	

Այս տեսակը հանդիպում է ամռան ընթացքում չորացող ջրամբարներում, որոնք պահպանում են հատակի խոնավությունը: Բնակվում է նաև լեռնային գետերում ինչպես նաև խոշոր ջրամբարների ափամերձ գոտում: Տրում լուծված քիմիական նյութերի և թթվածնի նկատմամբ զգայուն չէ: Հանդիպում է ինչպես ուժեղ աղտոտված, այնպես էլ գործնականորեն մաքուր ջրամբարներում և ունի լայն սապրոբային բնութագիր: Դիստրոֆ ջրամբարներում չի հանդիպում:

Աղյուսակ 4. Հրազդան գետի հատակային ֆաունայի տզրուկների տեսակների հանդիպման հաճախականությունը 2004թ. ին

Տեսակ	հանդ. հաճախ. (%)
<i>Glossiphonia complanata</i>	0.7
<i>Glossiphonia heteroclita</i>	0.7
<i>Ileobdella stagnilis</i>	7.1
<i>Herpobdella lineata</i>	15.7
<i>Erpobdella octoculata</i>	42.1
<i>Piscicola respirans</i>	0.7

H. sanguisuga-ի բնակվելու գլխավոր պայմանը առատ կերն է, ինչպես նաև ափամերձ հատվածը, որտեղ մա ձվադրում է և կարողանում է սնվել անձրևաորդերով: Այս տեսակը էվրիբիոտ է, սակայն խիստ կլիմա ունեցող տարածքներում քիչ է հանդիպում:

Այն հայտնաբերվել է միայն Սևանա լիճ թափվող գետերից մեկում [2]:

Մեր կողմից այն հայտնաբերվել է Մարմարիկի ստորին հոսանքում, Մարմարիկը Հրազդանին խառնվելուց հետո, Բջնի գյուղից հետո և գետամեջ գյուղի մոտ: Առավելագույն թվաքանակով հանդիպել է օգոստոսին (աղ. 5):

Piscicola respirans տեսակը ձկների մակաբույծ է և բնակվում է հիմնականում գետերում (հատկապես լեռնային) և շատ հազվադեպ լճերում: Ձվադրում է գետի առավել արագահոս հատվածներում: Այն օքսիֆիլ է և ապրում է միջին կամ ցածր քերմաստիճանային պայմաններում:

Ունի կյանքի զարգացման 1 տարվա ցիկլ: Նախորդ տարվա ամռան

կեսերին դրված հարսնյակների զարգացումը տեղի է ունենում զարնանը: Երիտասարդ տղուկը անմիջապես գտնում ու ամրանում է «տիրոջը» և սկսում է արագ աճել: Մայիսի վերջին թողնում է տիրոջը, ծվադրում է, և ապա հուլիսի սկզբին մահանում: Հարսնյակներն ունեն երկարատև հանգստի շրջան՝ մայիս-հունիսից մինչև հաջորդ տարվա մարտը:

Աղյուսակ 5. Հրազդան գետի ֆիտերեոֆիլ բիոտոպում *H. sanguisuga* տզրուկների քանակական ցուցանիշները

առանձն
զմ²

Պատկեր Հիտակետ	մայիս	հուլիս	օգոստոս	սեպտեմբեր	նոյեմբեր
1 ՍՍՀ	0	0	0	0	0
2 ՄՀԽՀ	0	0	2 375	2 45	0
3 ԲՏԼԻ	0	0	7 72	2 5	12 721
5 ԳԵՏԱՍԵՑ	0	0	2 25	0	2 35

Սեր կողմից այն հայտնաբերվել է Սարմարիկի ստորին հոսանքում, հուլիսի սկզբին, բույսի վրայից վերցրած փորձանմուշում: Երկարությունը 10 մմ է, զանգվածը 30 մգ:

Այսպիսով, գրականության տվյալների և մեր հետազոտությունների արդյունքների համեմատությունից կարելի է եզրակացնել, որ Հրազդան գետի հատակային ֆաունան որոշակի փոփոխություններ է կրել, որը կարող է գետի էկոլոգիական պայմանների փոփոխության հետևանք լինել:

Գետի ջուրը, համաձայն մեր հետազոտությունների տվյալների, բնութագրվում է որպես «Չափավոր աղտոտված», քանի որ հատակային ֆաունայի համար առավել բնութագրական են α -մեզոսապրոբային տեսակի տզրուկները: Լույն գնահատականն է տրվել ջրին նաև ըստ Վուդիվիսի գործակցի (6-7 միավոր) և ըստ Սեյերի գործակցի 16 [4]: Ըստ կենսածին տարրերի պարունակության այն դարձյալ բնութագրվում է որպես «Չափավոր աղտոտված» [4]:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Айрапетян А.Г., Даллакян М.Р., Гукасян Э.Х., Акопян С.А., Саакян Д.Л., Габриелян Б.К. Мат-лы молодежной четвертой республиканской научн. конф., 127-130, Ереван, 2003.
2. Бенинг А.Л., Попова А.Н. Труды Севанской гидробиологической станции. 8, 18-20, Ереван, 1947.
3. Лукин Е.И. Пиявки пресных и солоноватых водоемов. Фауна СССР, Пиявки, 1, Изд-во Наука, Л., 1976.
4. Макрушин А.Б. Биологический анализ качества вод. (под ред. Г.Г. Винберга). Л., 46-51, 1974.
5. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР. Л.: Гидрометеондат, 1977.

Поступила 03.VIII.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 597.08.591.9

РАЗМЕРНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ В СИСТЕМАТИКЕ КАРПОВЫХ РЫБ (*CYPRINIDAE, PISCES*)

С.Х. ПИПОЯН

Центр научных этнокультурных исследований «Этнос», 375010, Ереван

Изучена размерная изменчивость 36 морфометрических признаков 18 видов и подвидов карповых рыб Армении. Установлено, что многие из этих признаков часто подвержены размерной (возрастной) изменчивости и зачастую без учета ее закономерностей не могут служить надежным критерием для установления диагноза таксона или межпопуляционных различий.

Ուսումնասիրված է Հայաստանի բնաշխարհի 18 տեսակ և ենթատեսակ ծածանազգի ձկների 36 ձևաչափական հատկանիշի չափային փոփոխականությունը: Բացահայտվել է, որ այդ հատկանիշներից շատերը ենթակա են չափային (տարիքային) փոփոխականության և առանց վերջինիս օրինաչափությունները հաշվի առնելու՝ չեն կարող հուսալի չափանիշ ծառայել կարգաբանական միավորների ախտորոշման կամ միջպոպուլյացիոն տարբերությունների հայտնաբերման համար:

Measure changeability of 36 morphometric features of 18 species and subspecies of Armenian cyprinid fishes is studied. Most of the mentioned features are often apt to changes in their measures and cannot be considered as a reliable criteria for discovering the diagnosis and interpopulation differences of taxons, without taking into account the changeability regularities.

Карповые — размерная изменчивость — морфометрические признаки

За последние десятилетия в систематике различных групп позвоночных животных применяются многие методы исследований, среди которых основными можно считать карпнологический [3], биохимический (электрофоретическое разделение белков, ферментов, определение их аминокислотной последовательности [9, 12], иммунологический [11], молекулярные - гибридизация ДНК, анализ рибосомальной, митохондриальной и ядерной ДНК [13]. В то же время в систематике рыб с успехом используется также изучение сейсмочувствительной системы, краниологический и остеологический методы исследования [2, 15].

Однако наиболее приемлемой для карповых рыб *Cyprinidae* на сегодняшний день считается система, разработанная на основании морфометрических признаков [1, 8]. Особое значение при этом придается комплексу меристических признаков - количеству чешуй в боковой линии, лучей в анальном и спинном плавниках, а также количеству позвонков, тычинок на первой жаберной дуге, количеству рядов глоточных зубов и их числу в рядах. В отдельных случаях таксономическое значение придается и

некоторым пластическим признакам – соотношению длины головы, наибольшей высоте тела, длине и высоте хвостового стебля.

Основной недостаток этой системы состоит в том, что многие из перечисленных морфометрических признаков часто подвержены размерной (возрастной) и половой изменчивости. Следовательно, они не могут служить надежным критерием для установления диагноза таксонов или использоваться при выявлении видовых, подвидовых или популяционных различий без учета размерной или половой изменчивости этих признаков.

Для выявления закономерностей размерной изменчивости и возможности их использования при установлении таксономических единиц или межпопуляционных различий нами изучены особенности этой изменчивости у карповых рыб водоемов Армении.

Материал и методика. Материал собран из различных естественных и искусственных водоемов Армении в 1988-2004 гг. Всего обработано 3127 экз. рыб следующих видов: чернобровка *Acanthalburnus microlepis* – 156, закавказская уклейка *Alburnus alburnus hohenackeri* – 185, куринская уклейка *Alburnus filippi* – 120, жерех *Aplus aspius* – 60, усач-чанари *Barbus capito* – 62, куринский усач *Barbus lacerta cyri* – 182, севанский усач *Barbus goktschalcus* – 90, закавказский густера *Blicca bjoerkna transcaucasica* – 224, серебряный карась *Carassius auratus gibelio* – 485, куринский подуст *Chondrostoma oxyrinchum cyri* – 63, пескарь *Gobio gobio* – 210, верховка *Leucaspius delineatus* – 180, восточный голавль *Leuciscus cephalus orientalis* – 120, амурский чебачок *Pseudorasbora parva* – 240, горчак *Rhodeus sericeus amarus* – 150, армянская плотва *Rutilus rutilus shelkovnikovi* – 210, куринская храмуля *Carpoia carpoia carpoia* – 60, севанская храмуля *Carpoia carpoia sevangi* – 330.

Для выявления влияния размерной изменчивости на морфометрические признаки нами изучены закономерности изменчивости данного морфометрического признака на двух и более выборках каждого вида. В состав каждой выборки входило не менее 30 экз. По возможности было соблюдено равное соотношение самцов и самок в сравниваемых выборках. Материал собран и обработан общепринятыми в ихтиологии морфометрическими и статистическими методами [7, 8].

Результаты и обсуждение. Количество чешуй в боковой линии (*H*). Данный признак в комплексе с количеством лучей в спинном и анальном плавниках принимается как наиболее важный при определении таксонов карповых рыб [1]. Однако *H* у многих видов подвержен большой размерной изменчивости. Так, нами обнаружено достоверное увеличение *H* с увеличением размеров тела у следующих видов: чернобровки, усача-чанари, куринского и севанского усачей, пескаря, амурского чебачка, армянской плотвы, севанской храмули. Причем, чем меньше средняя длина тела первой размерной группы и больше разница в размерах сравниваемых выборок, тем достовернее и больше разница в *H*. Причина этого явления – процесс полного формирования системы органов боковой линии при достижении рыб определенного размера (возраста). Следовательно, в старших размерных группах *H* должна быть больше, чем в младших (мальков, сеголегов), что наблюдается у изученных нами видов рыб.

Учитывая диагностическое значение *H* для многих видов карповых рыб, а также важность этого признака при определении межпопуляционных различий, мы рекомендуем сравнивать выборки как можно крупных и половозрелых рыб. Минимальные размеры тела (SL) карповых рыб Армении, по которым допустимо проведение сравнительного анализа по *H*, игнорируя

влияние размерной изменчивости, следующие (см): черnobровка — 14-15, закавказская уклейка — 7-8, курийская уклейка — 9-10, жерех — 25-30, усач-чанари — 28-30, курийский усач — 15-17, закавказская густера — 11-12, серебряный карась — 18-20, курийский подуст — 14-15, пескарь — 12-13, верховка — 6-7, восточный голавль — 18-20, амурский чебачок — 4-5 для самок, 6-7 для самцов, горчак — 5-6, армянская плотва — 14-15, курийская храмуля — 30-35, севанская храмуля — 25-30. Следует указать, что эти размеры в большинстве случаев удовлетворяют требованиям для описания и сравнительного анализа также других морфометрических признаков.

При сравнении отдельных выборок для установления межпопуляционных различий необходимо учитывать не только средние значения, но и групповую равноразмерность особей, составляющих данную выборку. Нельзя забывать и о возможном влиянии полового диморфизма морфометрических признаков на полученные результаты, что можно устранить при сравнении однополых выборок или выборок, состоящих из равного количества самцов и самок, находящихся на одинаковых стадиях зрелости.

Так как на практике вышеупомянутые рекомендации нелегко соблюдать, при сравнительном анализе необходимо учитывать возможное влияние размерной изменчивости морфометрических признаков и применять соответствующую коррекцию полученных результатов.

Иногда можно наблюдать, что мелкая размерная группа имеет больше чешуи в боковой линии, чем крупная. В большинстве случаев это результат случайных флуктуаций значений признака в пределах нормы реакции или межпопуляционных различий при сравнении выборок из различных водоемов, что в наших исследованиях встречается довольно редко. Для исключения возможных ошибок необходимо изучить размерную изменчивость данного признака на выборках из одной популяции или, что лучше, из одного подоема и желательно вне нерестового периода.

Соблюдая вышеприведенные замечания и рекомендации, // можно использовать как важный диагностический признак при определении того или иного таксона или популяции.

Количество чешуи над и под боковой линией (II_1 и II_2). Эти морфометрические признаки достаточно стабильны и в большинстве случаев не удастся обнаружить достоверных различий по ним у разных размерных групп. В наших исследованиях увеличение II_1 и II_2 обнаружено только у севанского усача, что, возможно, связано с увеличением наибольшей высоты тела с возрастом и формированием новых чешуи. В то же время обнаружена положительная корреляция между наибольшей высотой тела и II_1 у серебряного карася [5].

II_1 и II_2 могли бы служить довольно значимым диагностическим признаком при определении внутривидовых группировок или таксонов, если бы все исследователи придерживались единой формы подсчета чешуи. Правдин [8] допускает, что подсчет II_1 можно производить от боковой линии до верхней части тела или до основания спинного плавника. То же самое он предлагает для подсчета II_2 — от боковой линии до самой нижней точки чешуйного покрова на боку или до основания переднего луча брюшного

плавника. Такое допущение приводит к тому, что отдельные исследователи по-разному подсчитывают II_1 и II_2 . Нередко в литературе приводятся дробные числа, что свидетельствует о подсчете количества чешуй до верхней или нижней частей тела, где половина чешуи находится на другой стороне тела. Некоторые же авторы придерживаются другой методики и подсчитывают только количество чешуй на боках до основания спинного и брюшного плавников. В таком положении сравнительный анализ этих признаков по литературным источникам, где обычно не указывается метод подсчета чешуи, часто даст неверное представление о реально существующих различиях.

Во избежание подобных несоответствий мы предлагаем при подсчете чешуи на боках тела карповых рыб придерживаться единой методики и учитывать только чешуи от боковой линии до оснований спинного и брюшного плавников.

Количество чешуй по боку хвостового стебля (II_3) в большинстве случаев положительно коррелирует с размером тела и длиной хвостового стебля. Значение признака увеличивается с увеличением длины тела, что обнаружено у чернобрюшки, куринского усача, армянской плотвы, севанской храмули и др. Это явление в большей мере связано с увеличением длины хвостового стебля (армянская плотва, севанская храмули), а также образованием новых чешуй у основания хвостового плавника. Последнее чаще обнаруживается при сравнении выборок, состоящих из молодых и крупных половозрелых рыб. В тех случаях, когда сравниваются отдельные выборки, разница средней длины тела которых сравнительно небольшая, достоверные различия по II_3 обычно не наблюдаются (восточный голавль, некарь, закавказский и куринский уклейки и др.). Однако наблюдаются и исключения из этого правила. Так, у отдельных выборок армянской плотвы со средней длиной тела 47.6, 90.1 и 116.0 мм уже наблюдаются достоверные различия по II_3 . Здесь, возможно, проявляются особенности развития чешуйного покрова и изменчивости морфометрических признаков, характерные для данного вида.

В целом II_3 зависит от размерной изменчивости, и поэтому мы не рекомендуем придавать ему большого значения при сравнительном анализе неоднородных выборок изученных нами рыб.

Количество лучей в спинном (D) и анальном (A) плавниках обычно придает большое таксономическое значение. Эти два признака обычно не подвержены размерной изменчивости. В наших исследованиях только в однородных выборках закавказской уклейки и серебряного карася Армянского и Масисского прудовых хозяйств наблюдается некоторое различие в числе лучей в D , а у закавказской уклейки и в A , что, возможно, является результатом случайной флуктуации значений признака в пределах нормы реакции.

При подсчете лучей D и A исследователи иногда пользуются разными методами. В ранних публикациях последние 2 ветвистых луча A рассматриваются как один [4], а в более поздних публикациях они рассматриваются как самостоятельные [10, 14]. Обычно о методике подсчета лучей сообщается исследователем в каждой научной работе. Однако нередко встречаются работы, где методика подсчета не указывается и приходится

догадываться об этом по результатам исследования. В таких случаях необходимо с осторожностью подходить к заключению о наличии различий между отдельными популяциями по данным признакам и тем более делать выводы о таксономическом положении данной популяции.

В целом *D* наиболее стабильно в пределах вида или подвида, и *A* иногда подвержено клинальной изменчивости, что обнаружено у закавказской густеры [6]. Тем не менее эти два признака, как и количество чешуи в боковой линии наиболее информативны в морфометрических исследованиях и могут с успехом использоваться как диагностические признаки при установлении систематических единиц подвидового или видового ранга карповых рыб.

Количество лучей в грудных (*P*) и брюшных (*V*) плавниках. Эти признаки также стабильны и не зависят от размерной изменчивости. При подвидовых или межпопуляционных морфометрических сравнениях они мало пригодны из-за своей стабильности: различия по этим признакам обычно выявляются на видовом или даже родовом уровнях. Кроме этого, точный подсчет лучей этих плавников затруднителен, так как последние вставистые лучи *P* и верхние *V* обычно мелки, тесно расположены и на практике нередко случаи ошибочных подсчетов.

Учитывая вышесказанное, мы предлагаем придавать значение *P* и *V* при установлении таксономических единиц только в совокупности с другими диагностическими признаками.

Число жаберных тычинок на первой жаберной дуге (*sp.br*). У изученных нами карповых рыб *sp.br* в большинстве случаев подвержено размерной изменчивости и обычно положительно коррелирует с увеличением длины тела, что наблюдается у курийской уклейки, красногубого жереха, усача-чанари, курийского усача, курийского подуста, серебряного карася, севанской храмули. Эта закономерность нарушается только у обыкновенного пескаря, у которого наблюдается обратное явление — с размерами тела число тычинок уменьшается.

Трудность использования *sp.br* в сравнительных работах заключается в том, что жаберные тычинки, находящиеся на конечных частях жаберной дуги, обычно мелки или недоразвиты и могут оставаться незамеченными исследователем, что умаляет значение признака для выявления таксономических различий.

Число позвонков (*Vert*). В наших исследованиях не обнаружено зависимости *Vert* от размерной изменчивости. Единственное исключение составила закавказская уклейка, у которой число туловищных позвонков несколько возрастает вместе с размерами тела.

Известно, что число позвонков значительно варьирует в зависимости от температуры, химического состава воды [8] и высоты обитания [4] в период образования позвонков. Это обстоятельство несколько умаляет значение *Vert* в таксономии, и обнаружение достоверных различий по этому признаку нельзя считать достаточным для выделения той или иной популяции в отдельный таксон. Однако *Vert* до недавнего времени использовали при определении "инфрановидовых сущностей" (раса, морфа

и др.) [8].

В последнее время в систематике рыб большое внимание уделяется не только общему *Vert*, но и соотношению туловищных, хвостовых и переходных позвонков. Последнее с успехом применяется при уточнении таксономического положения отдельных видов из подсемейства *Gobioninae* [14].

Поскольку *Vert* в пределах вида относительно стабилен, их количество и соотношение могут служить важным морфометрическим признаком вместе с числом лучей *D*, *A* и *I* при определении таксономической единицы.

ПЛАСТИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ

Длина рыла (*ao*). Этот признак у изученных нами рыб обычно зависит как от размеров тела, так и от изменения длины головы. При этом наблюдаются различные закономерности размерной изменчивости *ao*. Так, с увеличением размеров тела она относительно увеличивается у куринской уклейки, уменьшается у серебряного карася, кавказского голавля, севанской храмули, не меняется у закавказской уклейки, севанского усача, куринского подуста, пескаря, амурского чебачка, армянской плотвы. В то же время относительно к длине головы рыло обычно увеличивается, что наблюдается у большинства видов — черnobровка, куринской и закавказской уклейки, севанского усача, куринского подуста, пескаря, амурского чебачка, армянской плотвы, севанской храмули, и лишь у жереха относительная *ao* несколько уменьшается.

Обобщая вышесказанное, можно заключить, что в целом относительная *ao* сильно подчеркнута размерной изменчивости и при сравнении неоднородных по размеру тела выборок отдельных популяций это необходимо иметь в виду. Как диагностический признак *ao* малоприменна, и, кроме отдельных случаев, мы не рекомендуем использовать ее при таксономических работах.

Диаметр глаза (*o*). Относительный *o* у изученных нами карповых рыб Армении (черnobровка, куринский и закавказский уклейки, жерех, усач-чанари, куринский усач, куринский подуст, пескарь, кавказский голавль, амурский чебачок, армянская плотва, серебряный карась, севанская храмуля) закономерно уменьшается с увеличением длины тела и головы: у крупных рыб глаза всегда относительно меньше, чем у мелких. Эта закономерность делает непригодным использование данного признака при сравнениях разноразмерных выборок. В то же время при сравнении однородных выборок можно получить интересные межпопуляционные различия, т. к. *o* положительно коррелирует с прозрачностью воды: обитающие в мутной воде рыбы имеют более крупные глаза, что обнаружено у серебряного карася [5].

Заглазничное расстояние головы (*o-op*) относительно к длине тела у изученных нами видов в основном не меняется. Только у куринской уклейки этот признак увеличивается, а у серебряного карася и севанского усача — уменьшается. В то же время у многих рыб (черnobровка, куринский усач, закавказская уклейка, усач-чанари, куринский подуст, пескарь, кавказский голавль, амурский чебачок, армянская плотва, севанская храмуля) относительная *o-op* увеличивается по отношению к длине головы.

Известно, что *o-op* тесно связано с особенностями питания: чем оно

больше, тем выше всасывательная сила ротового аппарата, и рыбы переходят на питание бентосом и детритом или более крупными объектами питания. Это наблюдается у многих видов изученных нами рыб, которые из планктонофагов становятся бентософагами (усачи, чернобрюшка), детритофагами (севанская храмуля), хищниками (голавль) или имеют смешанный тип питания (уклейки, плотва, амурский чебачок).

Учитывая размерную изменчивость *о-ор* и ее зависимость от биологических особенностей рыб, мы не рекомендуем использовать ее в таксономических работах. Однако этот признак может использоваться при межпопуляционных сравнениях, особенно при выявлении биологических и экологических особенностей рыб.

Длина усиков (*сир*). Этот признак имеет явно выраженную размерную изменчивость: с размерами тела относительная длина усиков становится короче (усачи, пескарь, севанская храмуля).

Известно, что иногда при определении отдельных таксонов рода *Gobio* *сир* придает диагностическую ценность [1], что, на наш взгляд, может привести к неправильным выводам. При выделении отдельных таксонов необходимо учитывать возможное влияние размерной изменчивости этого признака.

Длина головы (*лс*). Относительная длина головы с увеличением длины тела обычно уменьшается, что более или менее явно выражено у всех изученных нами видов рыб.

Между тем *лс* часто используется как диагностический признак при выделении отдельных подвидовых таксонов или как отличительный признак при установлении экологических или биологических единиц (раса, морфа и др.). В то же время этот признак рассматривается как важный элемент при определении быстрорастущего и туторослого карасей [5]. У быстрорастущего карася голова относительно меньше, чем у туторослого. По нашим данным, серебряный карась из оз. Севан, отличаясь от других популяций водоемов Армении более высокими темпами линейного и весового роста при хорошей обеспеченности кормовой базы, имеет более крупную голову (в среднем 26,0 % от длины тела), чем туторослые караси водоемов Масисского района (25,2 %).

Учитывая выраженную размерную изменчивость этого признака, мы при таксономических работах не рекомендуем использовать *лс* как диагностический.

Высота головы у затылка (*лс*). Размерная изменчивость этого признака довольно противоречива: если по отношению к длине тела относительная *лс* у большинства изученных видов не меняется или меняется незначительно (закавказская уклейка, жерех, куринский усач, пескарь, кавказский голавль, амурский чебачок, армянская плотва), то по отношению к *лс* почти у всех видов наблюдаются достоверные различия между размерными группами. Так, этот признак относительно к *лс* увеличивается у закавказской уклейки, жереха, усачей, пескаря, кавказского голавля, амурского чебачка, армянской плотвы, севанской храмули, и в то же время у куринского подуста остается неизменной. Одновременно наблюдаются интересные закономерности изменения *лс* у чернобрюшки и куринской уклейки: у этих видов исследуемый признак сначала уменьшается, а потом увеличивается, однако никогда не

достигает таких высоких значений, как у самой мелкой размерной группы.

В целом, *hс* не является надежным диагностическим признаком и использовать его для выявления таксономических различий, по нашему мнению, нецелесообразно.

Ширина лба (*lб*) также имеет противоречивый характер размерной изменчивости: у одних видов она относительно к длине тела несколько уменьшается (куринская уклейка, усач-чапари, куринский подуст, армянская плотва); у вторых – увеличивается (жерех, севанский усач, севанская храмуля); у третьих – остается неизменной (закавказская уклейка, черnobровка, пескарь, амурский чебачок). Однако такие закономерности изменчивости в большинстве случаев не соответствуют изменчивости *lб* по отношению к *lс* у тех же видов и только у черnobровки, закавказской уклейки, жереха и севанской храмули они совпадают.

Кроме размерной изменчивости, *lб* зависит от условий среды обитания. Так, наиболее широкий лоб обычно характерен для особей серебряного карася, обитающих в малопроточных водоемах Армении – оз. Севан, прудовые хозяйства, а более узкий лоб – для обитателей рек и каналов Араратской равнины [5].

Учитывая вышесказанное, мы предполагаем, что *lб* ненадежный диагностический признак для определения таксономических единиц без учета размерной изменчивости данного признака и среды.

Наибольшая высота тела (*H*). Относительная *Hс* с увеличением длины тела увеличивается, что характерно почти для всех изученных нами видов черnobровки, куринской, закавказской уклейки, жереха, куринского подуста, пескаря, кавказского голавля, амурского чебачка, армянской плотвы, серебряного карася, севанской храмули.

H наряду с относительной *lс* часто используется как диагностический признак при выделении отдельных подвидовых таксонов или как отличительный признак при установлении экологических или биологических единиц (раса, морфа и др.) [1]. Нередки случаи описания высокотелых (*morpha elata*) и низкотелых, удлинённых (*morpha elongata*) морф у рыб [8]. Между тем наибольшая высота тела в большей мере зависит от сезона года и времени суток. В период размножения, в связи с развитием половых продуктов, брюшко, следовательно и *H*, намного увеличиваются. В период интенсивного питания рыбы более упитанные, а зимой, к концу спячки они истощены и т.д. Каждый вид рыб имеет суточную пищевую активность и их кишечник наполняется в определенные часы дня, вздувая брюшко. С другой стороны, вздутое или слишком ослабленное брюшко (при гельминтозах или плохо законсервированном материале), в свою очередь затрудняют точное установление *H*.

Учитывая выраженную размерную изменчивость этого признака и его зависимость от других факторов, мы при таксономических работах не рекомендуем использовать *H* как диагностический признак. Однако при соблюдении определенных правил этот признак может быть полезным при межпопуляционных или, в особых случаях, межвидовых сравнениях.

Наименьшая высота тела или высота хвостового стебля (*h*). Обнаружены

два варианта размерной изменчивости этого признака: с увеличением длины тела он остается неизменным у чернобровки, куринской уклейки, усача-чанари, куринского подуста, севанской храмули, жереха, кавказского голаша, армянской плотвы и увеличивается у закавказской уклейки, пескаря, амурского чебачка, серебряного карася.

h часто используют как диагностический признак при выделении и определении видов рода *Gobio* [1]. Однако у представителя именно этого рода — пескаря нами обнаружена размерная изменчивость высоты хвостового стебля, что ставит под вопрос целесообразность использования этого признака при систематике рода *Gobio*.

У других карповых рыб h зависит и от внешних условий среды. У популяций, обитающих в стоячих водоемах, хвостовой стебель обычно выше, чем у обитающих в проточных водоемах — реках, каналах и др. Поэтому h с учетом размерной изменчивости может служить при выявлении межпопуляционных различий.

Антедорсальное расстояние (aD). Обнаружены два варианта размерной изменчивости этого признака: с увеличением длины тела aD не меняется у чернобровки, куринской, закавказской уклейки, пескаря, серебряного карася, амурского чебачка, армянской плотвы и становится короче у усача-чанари, севанского усача, кавказского голаша, севанской храмули. В последнем варианте изменение его означает, что с увеличением размеров тела основание спинного плавника несколько продвигается вперед. Вследствие этого возможны изменения взаимного расположения спинного и брюшных плавников, которым часто придают диагностическое значение. Однако анализ размерной изменчивости антевентрального расстояния (см. ниже) выявил те же закономерности размерной изменчивости, что характерно и для aD .

Таким образом, aD с одновременным использованием антевентрального расстояния может служить важным диагностическим признаком у изученных нами и, возможно, других видов карповых рыб.

Постдорсальное расстояние (pD). В большинстве случаев относительная длина этого признака увеличивается с размерами тела, что обнаружено у чернобровки, куринской и закавказской уклейки, усача-чанари, куринского подуста, пескаря, кавказского голаша, самок амурского чебачка, армянской плотвы, севанской храмули. В то же время pD не меняется у жереха и севанского усача и несколько укорачивается у самцов амурского чебачка. Последний случай особо интересен, указывает на размерную изменчивость этого морфометрического признака в зависимости от пола рыб. Обнаружение такого явления заставляет по-новому смотреть на состав сравниваемых выборок: необходимо для изучения брать не только равноразмерных особей, но и равное количество особей обоих полов. При межпопуляционных исследованиях еще лучшие результаты дадут сравнение отдельных выборок, состоящих только из особей одинакового пола.

Увеличение постдорсального расстояния предполагает и увеличение длины хвостового стебля (lpc). Парное сравнение размерной изменчивости этих двух признаков выявило, что если у закавказской уклейки, куринского подуста, пескаря, кавказского голаша, армянской плотвы, севанской храмули

pD и lpc сохраняют одинаковую тенденцию к увеличению, то у закавказской уклейки, усача-чанари, амурского чебачка длина хвостового стебля не зависит от размерной изменчивости. В то же время у севанского усача длина хвостового стебля увеличивается, несмотря на стабильность pD .

Известно, что lpc наряду с h играет немаловажную роль в диагностике пескарей [1, 14]. Обнаруженная нами зависимость этих признаков у пескаря водосмов Армении от размерной изменчивости делает необходимым пересмотр диагностики пескарей, основанной на соотношении lpc и h .

Антепекторальное расстояние (aP). Размерная изменчивость этого признака тесно связана с длиной головы и в основном повторяет закономерности ее изменчивости — уменьшается с увеличением размеров тела.

Этому признаку обычно не придается диагностического значения, и Правдин [27] не включил его в схему промеров карповых рыб. Однако при полном описании новых таксонов измерение aP мы считаем необходимым.

Антевентральное расстояние (aV). Обнаружены два основных варианта размерной изменчивости этого признака: с увеличением длины тела оно не меняется у черnobровки, куринской и закавказской уклейки, пескаря, амурского чебачка, армянской плотвы и становится короче у усача-чанари, севанского усача, кавказского голавля, севанской храмули. В данном случае изменение aV означает, что с увеличением размеров тела основание брюшных плавников несколько продвигается вперед, что может быть связано с увеличением H .

Правдин [8] считает, что aV для карповых рыб для диагностики брать необязательно. Однако, как уже отмечалось выше, этот признак, положительно коррелируя с aD , может служить значимым диагностическим признаком, и его измерение мы считаем не только желательным, но и обязательным.

Антеанальное расстояние (aA). Обнаружено три варианта размерной изменчивости этого признака: с увеличением длины тела aA увеличивается у куринской и закавказской уклейки, уменьшается у жереха, севанского усача, севанской храмули и не меняется у черnobровки, усача-чанари, куринского подуста, пескаря, кавказского голавля.

Правдин [8], как и в предыдущем случае, не придает особого значения этому признаку. Однако у тех видов, у которых этот признак не зависит от размерной изменчивости, антеанальное расстояние может использоваться при межпопуляционных или таксономических сравнениях, так как показывает расположение анального плавника, и его измерение мы также считаем обязательным.

Длина основания спинного плавника (ID). Длина этого признака по отношению к длине тела у многих видов не подвержена размерной изменчивости, что обнаружено у черnobровки, закавказской уклейки, усача-чанари, севанского усача, жереха, куринского подуста, пескаря, кавказского голавля, самок амурского чебачка, армянской плотвы, севанской храмули. Небольшие различия в сторону увеличения длины этого признака обнаружены у куринской уклейки, серебряного карася и самцов амурского чебачка.

Малозменчивость ID положительно коррелирует с количеством лучей в спинном плавнике, которое, как нами отмечалось выше, наиболее стабильно в пределах вида или подвида. Исключение составляет серебряный карась

водосмов Араратской рашнины, у которого обнаружено увеличение количества ветвистых лучей спинного плавника с увеличением размеров тела [5], что в свою очередь отражается на ID .

Учитывая вышесказанное, относительную длину основания спинного плавника можно использовать в таксономических исследованиях.

Высота спинного плавника (hD). Этот признак является одним из переменных в отношении размерной изменчивости и с увеличением размеров тела уменьшается у усача-чанари, севанского усача, жереха, куринского подуста, пескаря, кавказского голавля, армянской плотвы, севанской храмули, серебряного карася. Размерная изменчивость этого признака не обнаружена у амурского чебачка и закавказской уклейки. В то же время обнаружена интересная особенность изменчивости hD у черnobровки и куринской уклейки. Для полного выяснения особенностей размерной изменчивости их морфометрических признаков были изучены несколько размерных групп — от мальков до половозрелых крупных рыб. В результате выяснилось, что hD сначала увеличивается до определенных размеров тела (у черnobровки до 90.0 мм, у куринской уклейки — 70.0 мм), а потом несколько снижается. Возможно, это явление характерно и для других видов рыб.

Обобщая вышесказанное, мы предлагаем не использовать hD как диагностический признак, а при межпопуляционных сравнениях учитывать влияние размерной изменчивости на этот признак.

Длина основания анального плавника (IA). Обнаружены три варианта размерной изменчивости этого признака: с увеличением длины тела IA укорачивается у куринской уклейки, серебряного карася, кавказского голавля, амурского чебачка, армянской плотвы, севанской храмули, не меняется у черnobровки, закавказской уклейки, усача-чанари, севанского усача, пескаря и несколько удлиняется у жереха. Обнаруженные различия в размерных группах часто незначительные (куринская уклейка, жерех, кавказский голавль, амурский чебачок, армянская плотва), что указывает на относительную независимость длины основания анального плавника от размерной изменчивости. С другой стороны, длина IA скоррелирована с A и чем больше лучей, тем длиннее основание анального плавника.

Тем не менее, в таксономических исследованиях этот признак необходимо использовать с осторожностью, а при изучении межпопуляционных различий им можно пользоваться с учетом размерной изменчивости.

Высота анального плавника (hA). Размерная изменчивость этого признака имеет те же закономерности изменчивости, что и hD , только с двумя исключениями: у севанских усача и храмули относительная hA остается неизменной. Видимо, последнее связано с биологическими особенностями этих видов, у которых анальный плавник играет немаловажную роль во время нереста.

hA мы не рекомендуем использовать в систематике большинства карповых рыб, однако при изучении видов *Barbus* и *Capoeta* он может играть определенную роль.

Длина грудных плавников (IP). Один из морфометрических признаков

карповых рыб, сильно зависящих как от размерной изменчивости, так и полового диморфизма. У большинства видов с увеличением размеров тела относительная *IP* укорачивается, что наблюдается у жереха, усача-чанари, куринского усача, куринского подуста, пескаря, серебряного карася, кавказского голавля, самок амурского чебачка, армянской плотвы, севанской храмули. У самцов амурского чебачка и закавказской уклейки *IP* не меняется из-за возможного влияния полового диморфизма — у самцов грудные плавники длиннее. В то же время у черnobровки и куринской уклейки наблюдаются те же закономерности, что и при относительной высоте спинного и анального плавников: до определенного размера *IP* увеличивается, а после — укорачивается.

Учитывая подверженность *IP* размерной изменчивости и половому диморфизму, мы не рекомендуем использовать этот признак при сравнительных изучениях без учета вышесказанного.

Длина брюшных плавников (*IV*). Как и предыдущий признак, сильно зависит от влияния размерной изменчивости и полового диморфизма и имеет тенденцию к укорачиванию с увеличением размеров у жереха, усача-чанари, куринского усача, пескаря, серебряного карася, кавказского голавля, севанской храмули. В то же время у черnobровки, куринской и закавказской уклейки, самцов амурского чебачка и армянской плотвы *IV* несколько увеличивается, что также связано с половым диморфизмом: у перечисленных видов самцы имеют более длинные брюшные плавники. И только у куринского подуста этот признак не подвержен размерной изменчивости.

Учитывая подверженность *IV* размерной изменчивости и половому диморфизму, мы также не рекомендуем использовать этот признак при сравнительных изучениях.

Пектоцентрально-анальное расстояние (*PI*). Размерная изменчивость этого признака довольно противоречива: у одних видов он остается неизменным (куринская и закавказская уклейки, усач-чанари, серебряный карась, самцы амурского чебачка, севанская храмуля), у других увеличивается (куринский подуст, пескарь, кавказский голавль, самки амурского чебачка, армянская плотва), у третьих — сначала увеличивается, потом укорачивается и снова увеличивается (черnobровка, жерех).

PI также зависит от полового диморфизма, что наряду с противоречивой размерной изменчивостью делает его ненадежным диагностическим признаком.

Вентроанальное расстояние (*VA*). В отличие от предыдущего признака, *VA* в большинстве случаев имеет тенденцию к увеличению, что наблюдается у черnobровки, куринской и закавказской уклейки, куринского подуста, пескаря, серебряного карася, кавказского голавля, амурского чебачка, армянской плотвы, севанской храмули и только у жереха и усача-чанари оно не меняется, а у севанского усача даже уменьшается. Этот признак также подвержен влиянию полового диморфизма, особенно у самок и период размножения.

Учитывая вышесказанное, мы считаем, что *VA* мало пригодно как диагностический признак.

Длины верхней, нижней донастей и средних лучей хвостового плавника

у всех изученных нами видов с ростом рыбы относительно уменьшаются, исключает использование этих морфометрических признаков как статистических.

Таким образом, многие морфометрические признаки карповых рыб часто подвержены размерной (возрастной) изменчивости и зачастую учета последней не могут служить надежным критерием для установления таксонов или межпопуляционных различий. К таким признакам принадлежат II , II_1 , $sp.br$, а также многие пластические признаки — ao , cir , lc , H , h , lpc , aP , aD , aV , aA , IP , IV , PV , VA , C . Следовательно, установление таких различий по этим признакам отдельных выборок с различными длинами значениями длины тела еще не может служить основанием для биометрических суждений. Вместе с тем отдельные морфометрические признаки, на которых влияние размерной изменчивости не обнаружено или выражено в меньшей степени (II_2 , II_3 , D , V , P , A , $Verl$), можно с большим успехом использовать при выделении межпопуляционных различий или таксонов.

ЛИТЕРАТУРА

- Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. 4-е изд. М.-Л.: Изд-во АН СССР. Ч. 2, 469-925, 1949.
- Богущая Н.Г. Вопросы ихтиологии. 28, 3, 367-382, 1988.
- Вашильев В.П. Эволюционная кариология рыб. М. "Наука", 1985. 300.
- Вайцян М.Г. Рыбы Армении. АН АрмССР. 245. Ереван, 1986.
- Пипоян С.Х. Автореф. канд. дисс. Ереван, 22, 1993.
- Пипоян С.Х., Саакян М.О. Доклады НАН Армении. 4, 375-381, 1999.
- Плохинский Н.А. Математические методы в биологии. Изд-во МГУ, 263, М., 1978.
- Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. Пищ. пром-сть, 376. М., 1966.
- Степанян Н.Э. Автореф. канд. дисс. Ереван, 2002.
1. Bogutskaya N.G. Mitt. Hamburg. Zool. Mus Inst. Bd. 94. 161-186. 1997.
1. Cadle J., Dessauer H., Gans C. et al. Biol. J. of the Linn. Soc. 40, 293-320, 1990.
2. Durand J.D., Unlu E., Doadrio I., Pipoyan S., Tempelton A.R. The Royal Society Lond. B(2000) 267, 1687-1697. 2000.
3. Hedges S.B., Poling L.L. Science, 283, 998-1001, 1999.
4. Naseka A.M. Publ. Espec. Inst. Esp. Oceanogr. Vol. 21. P. 149-167, 1996.
5. Salmanov A.V., Dorofeyeva E.A. Proceedings of the Zoological Institute, 287, 149-195. 2001.

Поступило 13.1 2006

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 576.8:615.33:664.83

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ АРМЕНИИ

А.Ч. МЕГРАБЯН¹, В.Б. ГОГИНЯН²

¹«Ancient Herbs» HAM Ltd. Co., 375012, Ереван Армения

²Республиканский Центр Депонирования Микробов НАН Армении, 2201, Абовян

Изучены антиоксидантные свойства ряда лекарственных растений, населяющих флору Армении и широко используемых в народной медицине. В сравнительном аспекте показана антиоксидантная активность корней, стеблей, листьев, цветков, плодов и семян различных растительных организмов, а также приготовленных на их основе настоев.

Ուսումնասիրվել է Հայաստանի ֆլորայում բնակեցված մի շարք դեղաբույսերի հակաօքսիդանտային ակտիվությունը, որոնք օգտագործվում են ժողովրդական բժշկության մեջ: Համեմատական ասպեկտով ցույց է տրված տարբեր բուսական օրգանիզմների արմատների, ցողունների, տերևների, ծաղիկների պտուղների և սերմերի, ինչպես նաև նրանց հիմքի վրա պատրաստված թուրմերի հակաօքսիդանտային ակտիվությունները:

The antioxidant properties of some medicinal plants inhabited flora of Armenia and widely used in folk medicine have been studied. The antioxidant activity of roots, stems, leaves, flowers, fruits and seeds of various plant organisms and infusions on their basis has been shown in comparative aspect.

Антиоксидантная активность - лекарственные растения

Армения по своим природно-климатическим и эколого-географическим условиям является одним из интереснейших регионов планеты, отличающихся многообразием лекарственных форм растительных организмов, издавна применяемых в народной медицине [1]. Целесообразность и перспективность их применения очевидна, так как они прошли длительное испытание временем [2, 6, 7]. Малочисленные литературные данные об активности экстрактов частей растений свидетельствуют об их лечебных свойствах при инвазионных заболеваниях, геморрагиях различного происхождения, плевритах, астмах, сердечных и прочих недугах организма. Терапевтический эффект лекарственных веществ растительного происхождения в корне отличается от действия общепринятых медицинских средств. Они мало токсичны, легко усваиваемы и обладают широким спектром биологической активности [3].

Целью настоящей работы являлось изучение антиоксидантных свойств лекарственных растений, населяющих флору Армении.

Материал и методика. Изучали антиоксидантное действие настоев составных частей (корни, стебли, листья, цветки, семена) ряда лекарственных растений, населяющих преимущественно флору Армении: каперс колючий (*Capparis spinosa*), шелковица белая дикая (*Morus alba*), сияк обыкновенный (*Echium vulgare* spp. *sage*), левасил высокий (*Inula helenium*), бузина черная (*Sambucus nigra*), чеснок дикий или шнитт-лук, скорода, репнец (*Allium schoenoprasum*), чеснок посевной (*Allium sativum*) душица обыкновенная (*Origanum vulgare* spp. *Armenian*), ирис дикий (*Iris vulgaris*), гранатник, кожуря (*Punica granatum*), скабиоза, армянская хризмема (*Scabiosa ochroleuca*), скабиоза обыкновенная (*Scabiosa vulgaris*), райские плоды (*Aframotum melegveta*) (Эфиопия), косточки винограда (*Vitis vinifera*), переступень белый (*Bruglia alba*), лук репчатый (*Allium sepa*), чай зеленый (Thea) (Япония), орех грецкий (*Juglans regia*), персик обыкновенный (*Persica vulgaris*), чабрец (*Thymus vulgaris*)

Краткая характеристика исследуемых растений. **Каперс колючий** (*Capparis spinosa*) - происходит из Южной Европы и Северной Африки. Используются нераспустившиеся бутоны, которые маринуют или солят. Плоды и корни имеют лечебное значение. **Шелковица белая дикая** (*Morus alba*) - родные растения являются Япония, Китай, Малая Азия, Индия. В пищу применяются сочные плоды в виде сиропои, компотои, наливок. В медицине применяют при гипохромной анемии, острых энтероколитах, дисентерии. В традиционной медицине используют листья при легких формах сахарного диабета и ряда кожных заболеваний. **Сияк обыкновенный** (*Echium vulgare* spp. *sage*) - произрастает в Средней и Южной Европе, на Кавказе и Западной Сибири. **Левасил высокий** (*Inula helenium*) - распространен в Европейской части СНГ, на Кавказе, в Западной Сибири и Средней Азии. Практическое применение в медицине имеют корни и корневища растения в качестве отхаркивающего средства при воспалении верхних дыхательных путей и гриппе. **Бузина черная** (*Sambucus nigra*) - распространена на Кавказе. В медицине применяют цветки растения, обладающие потогонными, мочегонными, противовоспалительными и слабыми отхаркивающими свойствами. **Чеснок дикий** (*Allium schoenoprasum*), **чеснок посевной** (*Allium sativum*) - распространен повсеместно. В медицине применяют луковички растения. Обладает противомикробным, противогрибковым и противоглистным действием. Усиливает моторную функцию кишечника и стимулирует сердечную деятельность, расширяет коронарные сосуды сердца. **Душица обыкновенная** (*Origanum vulgare* spp. *Armenian*) - распространена повсеместно. Траву растения используют в виде сборов, чая и комплексных препаратов как противовоспалительное, антимикробное и болеутоляющее средство. Настои душицы оказывают желчегонное, мочегонное, отхаркивающее действие. **Ирис дикий** (*Iris vulgaris*) - распространен по всему Северному полушарию. Декоративное растение. **Скабиоза обыкновенная** (*Scabiosa vulgaris*) - встречается в Южных районах Европы (кроме Крыма) и в Средней Азии. **Виноград** (*Vitis vinifera*) - широко культивируется во многих странах. Лекарственными свойствами обладают плоды винограда. Обладает слабительными свойствами, рекомендуется при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, болезнях печени. Виноградный сок является общеукрепляющим средством при анемиях, бронхиальной астме, туберкулезе легких. Противопоказан диабетикам и гипертоникам. **Переступень белый** (*Bruglia alba*) - родина Восточная Европа. Лекарственное и декоративное растение. **Лук репчатый** (*Allium sepa*) - распространен повсеместно. Обладает противомикробным, противогрибковым и противоглистным действием. Усиливает моторную функцию кишечника. **Гранатник** (*Punica granatum*) - в диком виде растение распространено в горных районах Закавказья, Средней Азии, Афганистане. Свежие плоды с кожурой применяют при кашле, простудных заболеваниях, малярии, энтероколитах. **Орех грецкий** (*Juglans regia*) - в диком виде произрастает во многих странах. Ценный питательный продукт при гиповитаминозах, профилактике атеросклероза. Источник йода. **Персик обыкновенный** (*Persica vulgaris*) - родина Восточная Азия. Диетическое средство. Фрукты показаны больным диабетом и ожирением, с нарушениями сердечного ритма. В традиционной медицине применяют листья, цветки и кору растения. **Чабрец** (*Thymus vulgaris*) - успокаивающее средство при сухом и спастическом кашле, особенно коклюше, хроническом бронхите, бронхиальной астме, воспалении легких, хроническом катаре желудка, спазмах и коликах, применяют при нарушениях пищеварения, метеоризме, язве

двенадцатиперстной кишки, отсутствии аппетита, 0,05-0,1% растворы – при воспалении слизистых оболочек. Являются потогонным и мочегонным средством.

Приготовление настоев. Части растений – корни, листья, цветки, плоды и семена – измельчали при помощи фарфоровых ступок и металлических терок ($d_{\text{части}} = 0,2 \text{ мм}$) до получения однородной массы и взвешивали. Горячие и холодные настои готовили, заливая навески проб 5- и 25-кратными объемами кипятка (95°) и воды при комнатной температуре (25°), настаивая их, соответственно, в течение 5 мин и 2 ч. По окончании вышеуказанной процедуры отбирали пробы для изучения антиоксидантной активности.

Определение антиоксидантной активности (АОА). Об антиоксидантных свойствах исследованных настоев растений судили, определяя скорость перекисного окисления липидов (ПОЛ). ПОЛ определяли по конечному продукту – малоновому диальдегиду (МДА), количество которого измеряли по интенсивности окраски триметилового комплекса, содержащего одну молекулу МДА и две молекулы тиобарбитуровой кислоты (ТБК). Определение скорости ПОЛ в гомогенате мозговой ткани крысы проводили в Fe-индуцируемой системе по молифицированному методу [4, 8-10].

Мозг крысы (самец, массой 180-200 г), после декапитации, гомогенизировали в 20 мМ фосфатном буфере (pH 7,4) в соотношении 1 г сырого мозга в 100 мл буфера. Суспензия или тканевый гомогенат содержал около 0,5-1,0 мг/мл белка, количество которого определяли по биуретовому методу [5]. Составы используемых реакционных смесей:

- *контрольной пробы:* 1 мл суспензии мозга; 0,3 мл 0,1 мМ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_3$ (соль Мора); 0,7 мл фосфатного буфера

- *опытной пробы:* 1 мл суспензии мозга; 0,3 мл 0,1 мМ соль Мора; 0,1 мл исследуемого настоя; 0,6 мл фосфатного буфера.

Реакционные смеси инкубировали при 37° на водяной бане в течение 30 мин, после чего реакцию останавливали, добавляя 2 мл смеси, содержащей 0,375% ТБК, 15% ТХУ в 250 мМ растворе HCl. Пробы кипятят 15 мин и охлаждали. Образовавшийся осадок отделяли центрифугированием. Интенсивность изменения окраски измеряли спектрофотометрическим методом при длине волны 535 нм. Количество МДА в нмоль определяли, используя коэффициент экстинкции $\epsilon = 1,56 \times 10^3 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$ и рассчитывали на 1 мг белка за 1 мин по формуле:

$$C = D \frac{100000}{1,56 \cdot A \cdot T}$$

где C – количество МДА, нмоль/мин/мг белка, D – показатель оптической плотности; A – количество белка в гомогенате, мг/мл; T – время инкубации, мин.

Процент ингибирования ПОЛ определяли по формуле:

$$\% \text{ ингибирования} = (C_c - C_{\text{ис}}) \times 100 / C_c,$$

где C_c – количество МДА контрольной пробы нмоль/мин/мг белка; $C_{\text{ис}}$ – количество МДА исследуемой пробы нмоль/мин/мг белка.

Результаты и обсуждение. В настоящей работе изучены антиоксидантные свойства ряда лекарственных растений, населяющих флору Армении, а также испокон веков используемых в народной медицине. Известно, что в современной фитотерапевтической практике широкое применение находят все части лекарственных растений. Поэтому в наших исследованиях в сравнительном аспекте была показана антиоксидантная активность (АОА) корней, стеблей, листьев, цветков, плодов и семян различных растительных организмов и приготовленных на их основе настоев.

Традиционно в современной фитотерапии используются настои, полученные путем горячей экстракции компонентов, вместе с тем в некоторых случаях имеет место применение настоев, полученных методом холодной экстракции. В табл. 1 показана сравнительная характеристика АОА настоев

вегетативных частей растений в различных разведениях (1:5 и 1:25), полученных методами горячей (экспозиция 5 мин, t 95°) и холодной экстракции (2 ч, t 25°). Согласно полученным данным, антиоксидантными свойствами обладают настои (полученные методом горячей экстракции, разведение 1:5) следующих растений и их компонентов: цветки бузины черной (*Sambucus nigra*), семена винограда (*Vitis vinifera*), кожура граната (*Punica granatum*), корни девясила высокого (*Inula helenium*), душица обыкновенная (*Origanum vulgare* spp. *Armenian*), корни каперса колючего (*Capparis spinosa*), листья грецкого ореха (*Juglans regia*), листья персика обыкновенного (*Persica vulgaris*), райские яблочки (*Aframomum melegueta*), цветки синяка обыкновенного (*Echium vulgare* spp. *Sage*), листья и цветки разных видов скабиозы (*Scabiosa vulgaris*, *Scabiosa ochroleuca*), чабрец после цветения (*Thymus vulgaris*), чеснок посевной (*Allium sativum*) и листья шелковицы белой (*Morus alba*). Однако из всех растений, проявляющих то или иное антиоксидантное действие, наиболее выраженными АОА обладают (по мере убывания) чабрец после цветения – 97%, цветки бузины черной – 85%, листья и цветки разных видов скабиозы – 85-76-68%, семена винограда – 77%, листья грецкого ореха – 74%, душица обыкновенная – 71%, цветки синяка обыкновенного – 70%, корни девясила высокого – 66%.

Не обладают АОА цветки ириса дикого (*Iris vulgaris*), лук репчатый белый и красный (*Allium sepa*, *Allium sepa* соответственно), корни переступня белого (*Bryonia alba*), чеснок дикий (*Allium schoenoprasum*).

Определенный интерес представляет сравнительная характеристика антиоксидантных свойств настоев, полученных методами горячей и холодной экстракции. Выявлены определенные различия в проявлении антиоксидантной деятельности настоев, которая изменяется в зависимости от методов экстракции и сторону уменьшения или возрастания АОА. Результаты этих исследований выборочно представлены графически на рис. 1.



Рис. 1. Антиоксидантные свойства настоев лекарственных растений

Таблица 1. Антиоксидантные свойства настоев лекарственных растений

Наименования растений	Горячая экстракция (экспозиция настаивания 5 мин, t 95°)				Холодная экстракция (экспозиция настаивания 2 ч, t 25°)			
	Разведение настоев 1:5		Разведение настоев 1:25		Разведение настоев 1:5		Разведение настоев 1:25	
	Кол-во нмоль МДА, мин/мг белка	Ингиби- рование ПОЛ, %	Кол-во нмоль МДА, мин/мг белка	Ингиби- рование ПОЛ, %	Кол-во нмоль МДА, мин/мг белка	Ингиби- рование ПОЛ, %	Кол-во нмоль МДА, мин/мг белка	Ингиби- рование ПОЛ, %
Бузина черная, цветки (<i>Sambucus nigra</i>)	107	85	192	74	363	51	833	-
Виноград, семена (<i>Vitis vinifera</i>)	62	77	4	98	466	83	101	63
Гранатник, кожура (<i>Punica granatum</i>)	387	48	214	71	470	37	427	43
Девясил высокий, корни (<i>Inula helenium</i>)	256	66	470	37	470	37	1282	-
Душица обыкновенная (<i>Origanum vulgare</i> spp. <i>Armeniacum</i>)	214	71	288	61	235	68	726	3
Ирис дикий, цветки (<i>Iris vulgaris</i>)	1069	-	769	-	1197	-	1154	-
Каперс колючий, корни (<i>Capparis spinosa</i>)	256	66	470	37	278	63	748	0
Лук репчатый, белый (<i>Allium sepa</i>)	357	-	248	9	280	-	217	20
Лук репчатый, красный (<i>Allium sepa</i>)	225	17	171	37	202	26	171	37
Орех грецкий, листья (<i>Juglans regia</i>)	70	74	8	97	54	80	482	-
Переступень белый, корни (<i>Bryonia alba</i>)	241	11	194	11	264	3	280	-
Персик обыкновенный, листья (<i>Persica vulgaris</i>)	140	48	179	34	70	74	194	28
Рабские плоды (<i>Aframomum melegueta</i>)	140	48	194	28	171	37	264	3
Синяк обыкновенный (<i>Echium vulgare</i> spp. <i>Sage</i>)	387	48	Нет данных		534	28	897	-

Таблица 1 (продолжение)

Сниак обыкновенный, цветки (<i>Echium vulgare</i> spp. Sage)	160	70	299	60	556	26	748	0
Скабиоза обыкновенная, листья (<i>Scabiosa vulgaris</i>)	235	68	214	71	256	66	684	8
Скабиоза обыкновенная, листья, цветки (<i>Scabiosa vulgaris</i>)	160	76	171	77	310	58	598	10
Скабиоза обыкновенная, цветки (<i>Scabiosa vulgaris</i>)	107	85	278	63	246	67	684	8
Скабиоза, армянская хризантема, цветки (<i>Scabiosa ochroleuca</i>)	128	83	192	74	128	83	491	34
Чабрец, после цветения (<i>Thymus vulgaris</i>)	8	97	31	87	85,5	68	93	66
Чеснок дикий, или шнитт-лук, скорода, резанец (<i>Allium schoenoprasum</i>)	897	-	855	-	897	-	1026	-
Чеснок посевной (<i>Allium sativum</i>)	163	40	241	11	256	6	272	0
Шелковица белая дикая, листья (<i>Morus alba</i>)	171	77	267	64	641	14	940	-
Контроль (гомогенат мозга)	748	0	748	0	748	0	748	0

Так, например, антиоксидантная активность настоев чабреца, цветков скабиозы обыкновенной и бузины черной, а также корней девясила высокого изменяется в меньшую сторону в результате холодной экстракции, и, наоборот, АОА настоев листьев персика обыкновенного, грецкого ореха и семян винограда повышается при холодной экстракции. Только антиоксидантные свойства настоев цветков скабиозы армянской не изменяют своих свойств независимо от методов получения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ամիրղրղվաթ Ածաւիղաղի Աղգիւղաղ աղպէտ (հմբ. Կ. Բաւաղըաղի), Չիբեմա, Ալաւիղաղ, 1926:
2. Бадалян С.М., Гаспарян А.В., Гарибян Н.Г. Микология и фитопатология. 37. 5, 63-68, 2003.
3. Брехман И.И. Новые данные об элеутерококке и других адаптогенах. Владивосток, изд. АН СССР, 7, 1987.
4. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., "Наука", 38-51, 1972.
5. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М., "Мир", 1991.
6. Самвелян В.М., Пашинян С.А., Казарян А.С. Лоштак белый (переступень). Фармакологическое изучение. Влияние на сердечно-сосудистую и нервную системы (Под ред. Боросяна Р.Г.) Ереван, Айастан, 3, 1989.
7. Badalyan S.M., Gasparyan A.V. Antioxidant activity of several basidiomycete mushrooms *in vitro*. International Mycological Congress, Oslo, Norway, 2002.
8. Ernster L., Nordenbrand K. Mikromosomal lipid peroxidation. Methods in enzymology, 10, 574, 1967.
9. Fortney S.R., Linn W.S. Arch. Biochem. Biophys., 104, 241, 1964.
10. Hochstein P., Ernster L. Biochem. Biophys. Res. Commun., 12, 338, 1963.

Поступила 25.IV.2006

Биол. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 611.36:546.171.1

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕСТУПЕНИЯ БЕЛОГО И ЖЕНЬШЕНЯ НА АММИАКООБРАЗОВАТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС

Ж.А. ПАРОНИАН, Г.А. ТУРЦИЯН, Г.С. МИСАКЯН, Г.В. АПРИКЯН

Институт биохимии НАН Армении, 375014, Ереван

При инкубации гомогенатов головного мозга образуется определенное количество свободного аммиака. Под действием переступения белого образование свободного аммиака усиливается, вследствие ферментативного деаμίдирования такого же количества глутамина. Под действием женьшеня образование свободного аммиака особенно не меняется, однако синтез глутамина заметно усиливается, вероятно, за счет активирования образования аммиака из других источников. В гомогенатах печени переступень и, в особенности, женьшень подавляют образование суммарного аммиака (свободный аммиак + амідоазот глутамина) через глутаматдегидрогеназный путь. Выявлено, что при применении в терапевтических дозах препараты корней переступия и женьшеня не могут сколько-нибудь заметно усиливать образование свободного аммиака и оказать токсическое действие на организм.

Գլխուղեղի հոմոգենատների ինկուբացիայի ժամանակ առաջանում է որոշակի քանակությամբ ազատ ամոնիակ: Սպիտակ լոշտակի ազդեցությամբ ազատ ամոնիակի առաջացումը ուժեղանում է զրեթե նույն քանակի գլուտամինի դեգամինացման հետևանքով: Ժենշենը ամոնիակի առաջացումը զրեթե չի փոխում սակայն ուժեղացնում է գլուտամինի սինթեզը հավանաբար այլ աղբյուրներից ամոնիակի առաջացման խթանման շնորհիվ: Լոշտակը և, հատկապես, ժենշենը լյարդի հոմոգենատներում ճնշում են ընդհանուր ամոնիակի (ազատ ամոնիակ + գլուտամինի ամիդային ազոտ) առաջացումը գլուտամատդեհիդրոգենազային ուղիով: Ստացված տվյալները վկայում են այն մասին, որ լոշտակը և ժենշենը թերապևտիկ դոզաներով օգտագործելու դեպքում չեն կարող նշանակալից չափով ամոնիակ առաջացնել ու թունավոր ազդեցություն ունենալ օրգանիզմի վրա:

During incubation of rat brain homogenates there is formation some amount of free ammonia. *Bryonia alba* increased free ammonia formation via stimulation enzymatic deamidation almost the same amount of glutamine. Ginseng has no significant influence on free ammonia formation but has stimulatory effect on glutamine synthesis probably via enhancement of ammonia formation from other sources. *Bryonia*, especially ginseng has inhibitory effect on total ammonia (free ammonia + amid nitrogen of glutamine) formation in liver homogenates by glutamate dehydrogenase action. Data obtained indicated that *bryonia alba* and ginseng during administration in therapeutic dosages cannot significantly increase ammonia formation and have toxic effect on organism.

Переступень белый - женьшень - аммиакообразование

Переступень белый (*Bryonia alba* L.) с древних времен использовался в народной медицине Армении также широко, как женьшень в Китае и Корее, являлся предметом почитания [8]. Корень этого растения как

лекарственное средство был известен в Армении еще в дохристианское время, о нем слагали легенды, его называли королем растений [2]. По другим данным, использование его в народной медицине имеет 2800-летнюю историю [7]. Переступень использовался в Армении при лечении более 40 болезней [11], в том числе, при заболеваниях сердечно-сосудистой, желудочно-кишечной, нервной систем.

Корни этого растения содержат кукурбитацины (тетрациклические тритерпены и их гликозиды) [9, 14, 15], пентациклические тритерпеновые кислоты, стерины и их гликозиды [14], простагландиноподобные вещества [10], сахара, белки, жиры, фосфолипиды, ненасыщенные жирные кислоты, витамины Е, С и другие физиологически активные соединения, в том числе незаменимые и заменимые аминокислоты, гамма-аминомасляную кислоту [1]. Таким образом, корень переступня белого является целой аптекой, чем и объясняется широкий спектр его действия. Переступень белый оказался эффективным средством пролонгирования продолжительности жизни, не уступающем в этом отношении знаменитому женьшеню, за что получен патент Российской Федерации [1, 3, 13].

Экстракт корней переступня стимулирует синтез белков и ДНК, повышает количество цАМФ и активность цГМФ-зависимой протеинкиназы и аденилатциклазы, подавляет липидную перекисную окисление, стимулирует потребление кислорода митохондриями различных органов, высвобождение нейромедиаторных аминокислот и подавляет их обратный захват синаптическими головками головного мозга, регулируя синаптическую трансмиссию [1, 13], в весьма высокой степени повышает Mg^{2+} - и Ca^{2+} -АТФ-азную активность и обладает способностью активировать иммунную систему [1, 4].

В литературе отсутствуют данные относительно влияния переступня белого и женьшеня на процессы образования и устранения аммиака, этого весьма токсического для организма соединения. Результаты таких исследований могут быть учтены при рекомендации препаратов этих растений для использования в качестве лечебных средств.

Материал и методика. Опыты были поставлены на половозрелых белых крысах породы Вистар массой 120–130 г. Животных быстро декапитировали, извлекали головной мозг без мозжечка или печень и после удаления кровеносных сосудов и остатков крови готовили 10%-ный гомогенат в специально подобранном ионно-К-фосфатном буфере ($mmol/L$: KH_2PO_4 – K_2HPO_4 – 16, $MgSO_4$ – 5, KCl – 20 и $NaCl$ – 76). Молярность буфера доводили сахарозой до 0,32 M. Для каждой пробы брали по 2 мл гомогената. С целью изучения влияния переступня белого и женьшеня на аммиакообразовательную функцию инкубационным пробам добавляли экстракты, полученные из 10 мг корней. Указанная доза оказалась оптимальной в предыдущих исследованиях [1]. Активность глутаматдегидрогеназы определяли ранее описанным методом [5, 6]. Реакционную смесь инкубировали при 37° в течение 30 мин в атмосфере воздуха. По окончании инкубации белки осаждали 40%-ной трихлоруксусной кислотой (конечную концентрацию доводили до 4%), спустя 30 мин пробы центрифугировали при 3,5 тыс. об/мин и центрифуге K-2 в течение 15 мин и в надосадочной жидкости определяли содержание аммиака и глутамин микродиффузионным методом [12]. Белок определяли по Лоури и соавторов [16]. Содержание реагентов в инкубационной среде составляло в конечных концентрациях: $mmol/L$: глутамата 10, малоната 20, витамина K_1 (мендиона) 0,02. Указанные химикаты были приобретены от Sigma Chemical Company, остальные являлись коммерческими.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что корни переступня белого и женьшеня содержат определенное количество связанного и свободного аммиака, которое учитывалось при изучении их влияния на аммиакообразовательную функцию (табл. 1).

Таблица 1. Содержание свободного и связанного аммиака в корнях переступня белого и женьшеня, мг / 100 г сухого корня

Переступень белый		Женьшень	
Аммиак		Аммиак	
Свободный	Связанный	Свободный	Связанный
20,2±1,13 (21)*	45,5±4,11 (9)	11,2±0,87 (18)	22,03±1,54 (9)

*) в скобках количество опытов.

При инкубации гомогенатов мозга (табл. 2) образуется определенное количество аммиака (6,84 γ N/100 мг белка). Под действием переступня образование аммиака увеличивается на 15,57 γ, что составляет 22,1%. При инкубации гомогената мозга содержание глутамина не подвергается особым изменениям, однако под действием переступня количество глутамина снижается на 14,07 γ. Согласно полученным результатам, прирост свободного аммиака при инкубации гомогенатов под действием переступня происходит за счет усиления дезамидирования глутамина. Действительно, соответствующие расчеты показали, что при инкубации гомогенатов мозга количество суммарного аммиака (свободный аммиак + амидоазот глутамина) заметно увеличивается, однако под действием переступня не подвергается существенным изменениям (табл. 3). Таким образом, под действием переступня глутамин подвергается дезамидированию, за счет чего увеличивается количество свободного аммиака. Данные табл. 2 показывают, что переступень усиливает глутаминовую активность на 20,15%, в результате чего образование свободного аммиака усиливается примерно в той же степени (22,1%).

Таблица 2. Влияние переступня белого и женьшеня на аммиакообразовательную функцию головного мозга белых крыс, γ N/100 мг белка

До инкубации	Состав инкубационной смеси	Аммиак		Глутамин	
		Количество	Разница	Количество	Разница
	Гомогенат	70,44±2,42 (8)		67,23±5,03 (6)	
После инкубации	Гомогенат	77,28±1,06 (8)	+6,84	68,7±5,46	+1,47
	Гомогенат + переступень	92,85±9,0 (8)	+15,57	54,63±2,41 (6)	-14,07
	Гомогенат + женьшень	81,23±2,1 (6)	+3,95	83,48±5,4 (6)	+14,78

Экстракт корней женьшеня, использованный в том же количестве, что и экстракт переступня, приводит к увеличению образования аммиака

лишь на 3.95 γ (5.12%), в то время как количество глутамина на 14.78 γ (23.0%). Нам представляется, что увеличение количества глутамина (табл.2) при невыраженном изменении свободного аммиака является следствием использования аммиака, образовавшегося из других источников. Под действием женьшеня количество суммарного аммиака увеличивается на 18.73 γ, что составляет 12.8% (табл.3).

Таблица 3. Влияние переступня белого и женьшеня на содержание суммарного аммиака (свободный аммиак + амидозот глутамин) в гомогенатах мозга белых крыс, γ N/100 мг белка

До инкубации	Состав инкубационной смеси	Количество суммарного аммиака	Разница
	Гомогенат	137,67±6,22 (8)	
После инкубации	Гомогенат	145,98±8,46 (8)	+8,31
	Гомогенат + переступень	147,48±4,91 (8)	+1,5
	Гомогенат + женьшень	164,7±4,18 (6)	+18,73

Обобщая полученные результаты, можно сделать заключение, что под действием переступня белого не происходит значительного увеличения суммарного аммиака. Обнаруженное увеличение свободного аммиака происходит за счет повышения глутаминазной активности. Увеличение суммарного аммиака под действием женьшеня происходит вследствие увеличения амидозота глутаминна, который не может оказывать негативное действие на организм.

В экспериментах по изучению влияния переступня и женьшеня на образование суммарного аммиака через глутаматдегидрогеназный путь использовали малонат, который подавляет переход глутамата в аспартат, ингибируя окисление янтарной кислоты, и вследствие предотвращения обратного транспорта электронов в дыхательной цепи, способствует окислению пиридиннуклеотидных коферментов и, следовательно, окислительному дезаминированию глутамата. Добавление менадиона (витамина K₃) приводит к неферментативному окислению пиридиннуклеотидных коферментов [5, 6]. Для выявления влияния переступня и женьшеня на активность глутаматдегидрогеназы проводили опыты в разных сериях и в разное время, поэтому исходное количество суммарного аммиака в разных сериях различается.

При инкубировании гомогенатов печени образуется значительное количество суммарного аммиака через глутаматдегидрогеназный путь (в присутствии ГК + малонат + витамин K₃), которое составляет 22,44 и 22,67 γ от общего N/100 мг белка. Под действием переступня образование суммарного аммиака через глутаматдегидрогеназный путь подавляется на 4.48 γ (3,25%), а под действием женьшеня на 27,5 γ (16,64%). Таким образом, переступень не оказывает выраженного влияния на дезаминирование

глутамата, а женьшень заметно подавляет этот процесс (табл. 4). Полученные результаты позволяют сделать заключение, что переступень и женьшень не способствуют усилению образования аммиака через глутаматдегидрогеназный путь, скорее всего, они оказывают ингибирующее действие, особенно под действием женьшеня.

Таблица 4. Влияние переступня белого и женьшеня на глутаматдегидрогеназную активность в гомогенатах печени белых крыс, γ N/100 мг белка

До инкубации	Состав реакционной смеси	Переступень		Женьшень	
		Количество	Разница	Количество	Разница
	Гомогенат	99,1 $\pm$ 1,59 (9)		115,0 $\pm$ 1,45 (6)	
После инкубации	Гомогенат	115,63 $\pm$ 6,11 (10)	+16,53	142,63 $\pm$ 6,5 (6)	+27,63
	Гомогенат + глутамат + малонат + менадион	138,07 $\pm$ 4,43 (11)	+22,44	165,3 $\pm$ 5,2 (8)	+22,67
	Гомогенат + глутамат + малонат + менадион + переступень(женьшень)	133,59 $\pm$ 6,06 (10)	-4,48	137,8 $\pm$ 4,7 (8)	-27,5

В наших предыдущих исследованиях было показано, что переступень белый и женьшень оказывают примерно одинаковое пролонгирующее действие на продолжительность жизни белых крыс [1, 3, 4, 13]. Обнаружена также схожесть в механизмах их действия, однако имеются и некоторые различия. Переступень повышает активность протеникиназы C, а женьшень не оказывает заметного влияния на активность этого фермента [1, 4]. В условиях стресса НАДФ-зависимая липидная пероксидация в микросомах мозга крыс под действием переступня подавляется на 35,9%, а женьшень подавляет этот процесс всего на 9,2%. В случае же аскорбатзависимой липидной пероксидации наблюдается обратная картина. В условиях стресса переступень подавляет этот процесс на 24,4%, в то время как женьшень — на 47,3%. В митохондриях мозга в одинаковых условиях переступень стимулирует потребление кислорода до 77%, а женьшень — всего на 31%. В митохондриях сердечной мышцы переступень усиливает потребление кислорода на 94,3%, тогда как женьшень — всего на 35,4% [1, 13].

В заключение следует отметить, что переступень белый повышает содержание свободного аммиака за счет возрастания глутаминазной активности, однако при этом количество суммарного аммиака не претерпевает выраженных изменений, в то время как женьшень существенно не влияет на образование аммиака, но повышает синтез глутаминна, увеличивая количество образовавшегося суммарного аммиака. Следовательно, препараты корней этих растений при применении в терапевтических дозах не могут оказывать токсического действия на организм через образование свободного аммиака.

ЛИТЕРАТУРА

1. Սպրիկյան Գ.Կ. Ծերաբանություն. առողջության ամրապնդման և երկարակեցության զաղտմիջոցները, Երևան, Զանգակ, 314-341, 2005.
2. Չարիկյան Կ. Հայաստանի բուսական աշխարհը, Երևանում, Սուրբ Հակոբի հրատարակչություն, 1968.
3. Априкян Г.В., Априкян С.В., Мкртчян Г.А., Паронян Ж.А., Армениян А.Р., Турциян Г.А., Аракелян Л.Н. Всес. Симп. Гериатрические средства, эксп. поиск и клин. использование, тез. и реф. докл. Киев, 9-10, 1990.
4. Априкян Г.В., Ли Д.В., Аракелян Л.Н., Княрян В.А., Априкян В.С., Карагезян Т.А., Паронян Ж.А., Турциян Г.А. Нейрохимия, 15, 3, 318-322, 1998.
5. Априкян Г.В., Шагинян В.А., Бунятыан Г.Г. ДАН АрмССР, LXI, 1, 54-59, 1975.
6. Априкян Г.В., Шагинян В.А. Вопр. биохимии мозга, Изд. АН АрмССР, Ереван, 8, 91-105, 1973.
7. Априкян С.В. В сб: Флора, растительность и растительные ресурсы Армянской ССР. Изд. АН АрмССР, Ереван, 171-194, 1981.
8. Варданян С.А. Медицина в древней и средневековой Армении, Изд. Советакан грох, Ереван, 1982.
9. Паносян А.Г., Никищенко М.Н., Мнацаканян В.А., Садовская В.Л. Биоорг. химия, 5, 5, 721-729, 1979.
10. Паносян А.Г., Аветисян Г.М., Диланян Э.Р., Мнацаканян В.А. Биоорг. химия, 5, 5, 242-253, 1979.
11. Сепетчян А.О. В сб. Лекарственные растения Армении и их лечебные препараты, Изд. АН АрмССР, 1, 73-110, 1949.
12. Салакова А.И., Труш Г.И., Являкова А. Вопр. мед. химии, 5, 538-545, 1962.
13. Aprikian G.V., Paronian J., Armenian A., Arakelian L., Manukian Sh., Aprikian A. 48th Annual Scientific meeting: Gerontologic challenges: Biological through societal perspectives in: The Gerontologist, 35, Special issue 1, p.243, 1995.
14. Biglino G. Ann. Chim. (Roma) 49, 4, 782-792, 1959.
15. Lavie D., Glotter E. Fortschr. Chem. Org. Naturst., Bd. 29, 307-362, 1971.
16. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. J. Biol. Chem. 193, 265-275, 1951.

Поступила 01.1.2006

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 581.132:631.165

ФОТОСИНТЕЗ И БИОПРОДУКТИВНОСТЬ СУБАЛЬНИЙСКОГО ВЫСОКОТРАВЬЯ В РАЗЛИЧНЫХ МИКРОКЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Г.Р. СААКЯН

*Ванадзорский Государственный педагогический институт
им. Ов. Туманяна, 377202*

Микроклиматические условия верхней опушки и порубленного участка леса, а также ложины склона существенным образом влияют на интенсивность и чистую продуктивность фотосинтеза и биопродуктивность субальпийского высокотравья. Выявленные различия в этих показателях обсуждаются с точки зрения влияния факторов среды, особенно влажности почвы, а также интенсивности оттока фотоассимилянтов из листьев в органы потребления.

Անտառի վերին եզրի, հատված անտառահանգակի և լանջի զոգավոր մասի միկրոկլիմայական պայմաններն էականորեն ազդել են ենթալպյան բարձրախոտերի ֆոտոսինթեզի ինտենսիվության ու մաքուր արդյունավետության և կենսարդյունավետության վրա։ Այդ ցուցանիշների վերաբերյալ հայտնաբերված տարբերությունները քննարկվում են շրջապատի գործոնների, հատկապես հողի խոնավության ազդեցության, ինչպես նաև տերևներից դեպի սպառող օրգանները ֆոտոասիմիլանտների առիուցի ինտենսիվության տեսակետից։

The microclimatic conditions of forest upper border, slope hollow and forest-offencing part essentially have an influence on intensity, pure productivity of photosynthesis and bioproductivity of high-grasses. The shown up differences in these indices are discussed from point of view environment factors influence, particularly of soil humidity, as well as intensity of photoassimilates transport from leaves to consumers organs.

Субальпийское высокотравье - микроклиматические условия - фотосинтез - биопродуктивность

В процессе фотосинтеза растения, поглощая и трансформируя энергию солнечного света, синтезируют органические вещества, которые используются в дальнейшем обмене веществ, росте, развитии и формировании биомассы. Причем, интенсивность ассимиляции CO_2 строго обусловлена видовыми особенностями растений и условиями их обитания.

С этой точки зрения особенно выделяются субальпийские высокотравяные растения, которые отличаются гигантским ростом, формируют густую и развитую травяную массу, произрастают в самых различных участках рельефа – вдоль верхней опушки леса, в балках, ложинах, оврагах, западинах, на срубленных участках, спускаются далеко вглубь леса и т.д. [3, 4, 10].

Исследованиями, проведенными в различных фитоценозах [8], выявлено, что высотой наземных органов определяется объем используемой

среды, где листья занимают сравнительно большую поверхность. Причем, как рост в высоту и формирование листовой поверхности, так и активность их функционирования зависят от условий жизни растений.

Следовательно, можно было бы полагать, что в различных условиях обитания представители субальпийского высокоотравья характеризуются неодинаковой способностью ассимиляции CO_2 и формирования биомассы.

Это положение нами проверялось в опытах с рядом высокоотравных видов, произрастающих в Лорийском марзе Армении.

Материал и методика. Объектом исследований служили борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi*), колокольчик широколистный (*Campanula latifolia*), борец восточный (*Aconitum orientale*), головчатка гигантская (*Cephalaria gigantea*), живокость извилистая (*Delphinium flexuosum*), лилия армянская (*Lilium armeniacum*), произрастающие на верхней опушке леса, в долине склона и на порубленном участке буково-грабового леса. Эти местопроизрастания имеют северо-западную экспозицию (2000-2600 м над ур. моря), на склонах этой экспозиции влажность и температура почвы более благоприятны для роста и развития высокоотравья [5].

Опыты проводили в фазе бутонизации и цветения растений.

Интенсивность фотосинтеза определяли колориметрическим методом, чистую продуктивность фотосинтеза по приросту сухой массы на единицу листовой поверхности за сутки [6], надземную и подземную массу растений по методике, принятой в геоботанических исследованиях [9]. Повторность определений 3-5-кратная.

Результаты и обсуждения. Исследования показали, что в фазе бутонизации влажность почвы верхней опушки леса составила 77,4%, долины склона 80,2%, а порубленного участка леса 68,7% от полной ее влагоемкости.

Достаточная влажность почвы на верхней опушке леса обусловлена обильностью перегноя, способного поглощать и удерживать влагу, в долине склона — активным накоплением под снеготаянием и осадков, в то время как на порубленном участке леса отсутствие древостоя, повышенная интенсивность света, формирование сухого микроклимата и сравнительно активное испарение воды с поверхности почвы приводят к уменьшению ее запаса в последней.

Несмотря на то что в фазе цветения из-за уменьшения осадков влажность почвы тоже уменьшалась на 4-5%, различия между опытными участками по этому показателю сохранялись с той же закономерностью, что и в фазе бутонизации. В период последней на верхней опушке леса температура воздуха в 12 часов дня составляла 19°, относительная влажность воздуха 71%, в долине склона 21° и 68%, на порубленном участке леса — 22° и 63% соответственно.

В фазе цветения температура воздуха соответственно составляла 21, 23, 26°, а относительная влажность 64, 62 и 58%.

Освещенность опытных участков колебалась незначительно: в фазе бутонизации 84-86, цветения — 93-97 клк.

В зависимости от микроклиматических условий субальпийское высокоотравье проявляли различную способность ассимиляции CO_2 (табл. 1).

Данные табл. 1 свидетельствуют, что как в фазе бутонизации, так и в период цветения для фотосинтеза субальпийского высокоотравья наиболее благоприятным оказались условия верхней опушки, наименьшим — порубленного участка леса. При этом, среди исследованных видов высокой

способностью ассимиляции CO_2 отличались *A. orientale* и *C. gigantea*, низкой – *C. latifolia* и *D. flexuosum*.

Таблица 1. Интенсивность фотосинтеза субальпийского высокотравья в зависимости от местопрорастания, $\text{мг CO}_2/\text{дм}^2 \text{ч}^{-1}$

Виды	Бутонизация			Цветение		
	верхняя опушка леса	лощина склона	порубленный участок леса	верхняя опушка леса	лощина склона	порубленный участок леса
<i>H. sosnowskyi</i>	16,8	13,4	12,8	23,9	18,1	17,3
<i>C. latifolia</i>	15,7	13,9	12,4	22,4	17,7	14,9
<i>A. orientale</i>	19,3	17,8	15,2	26,1	22,6	19,4
<i>C. gigantea</i>	20,8	15,7	14,8	26,3	21,3	20,1
<i>D. flexuosum</i>	15,4	14,2	12,7	20,4	17,8	16,2
<i>L. armenum</i>	18,9	16,3	14,6	22,1	19,4	17,6

Вероятно, сравнительно низкая влагообеспеченность почвы и относительная влажность воздуха порубленного участка леса не создавали гармоничных условий, при которых высокотравья проявляют наибольшую фотосинтетическую способность.

С другой стороны, на основании более ранних [1] и поздних [12 и др.] исследований, проведенных с систематически различными растениями в сложном комплексе экологических условий, сложилось единое мнение о том, что ассимиляция CO_2 растениями активизируется при определенном уровне влажности почвы, с чем согласуются также результаты наших опытов.

С переходом к цветению, независимо от местопрорастания, интенсивность фотосинтеза изученного высокотравья значительно возросла. Это естественно, поскольку развивающиеся генеративные органы предъявляют большой запрос фотоассимилянтов листовому аппарату [2, 11], тем самым активируя его функциональную активность.

Примечательно, что обнаруженные в фазе бутонизации межвидовые различия в интенсивности фотосинтеза сохранились также в фазе цветения: высокими данными этого показателя выделялись *A. orientale* и *C. gigantea*, низкими – *C. latifolia* и *D. flexuosum*.

Это позволяет заключить, что при произрастании в определенных условиях жизни видовые особенности растений относительно функциональной активности листьев проявляются в течение всего вегетационного периода.

В накоплении органической массы растений важная роль принадлежит чистой продуктивности фотосинтеза.

Проведенные в этом направлении наши исследования показали, что подопытные высокотравья различаются по этому показателю (рис.).

Как видно из рисунка, в фазе бутонизации наибольшей чистой продуктивностью фотосинтеза отличался *C. gigantea*, и наименьшей *D. flexuosum*. Эта закономерность нарушалась в фазе цветения. Теперь уже на верхней опушке леса данный показатель превалировал у *C. gigantea* и был наименьшим у *D. flexuosum*, в лошине склона – соответственно у

L. armenum и *H. sosnowskyi*, на срубленном участке леса – у *L. armenum* и *D. flexuosum*.



1. *H. sosnowskyi*, 2. *C. latifolia*, 3. *A. orientalis*, 4. *C. gigantea*, 5. *D. flexuosum*, 6. *L. armenum*

Рис. Чистая продуктивность фотосинтеза в различных микроклиматических условиях, мг/дм²/сут

Результаты опытов показали также, что чистая продуктивность фотосинтеза в фазе цветения у всех исследуемых видов уменьшалась, степень ее зависела от условий их жизни. Так, на верхней опушке леса это уменьшение колебалось от 21,5 (*C. gigantea*) до 30,7% (*H. sosnowskyi*), в ложине склона от 24,2 (*C. latifolia*) до 35,4% (*H. sosnowskyi*), на порубленном участке леса от 18,8 (*L. armenum*) до 33% (*C. gigantea*).

При активации фотосинтеза субальпийского высокоотравья в фазе цветения факт снижения его чистой продуктивности свидетельствует об усилении аттрагирующей способности генеративных органов и быстром оттоке ассимилятов к ним.

Известно, что в фазе вегетации возможно даже отрицательное значение чистой продуктивности фотосинтеза [7].

При рассмотрении данных с точки зрения местопрорастания растений выявлено, что чистая продуктивность фотосинтеза повышается на верхней опушке леса и намного уменьшается в ложине склона (кроме *D. flexuosum*).

Поскольку опытные участки в данной фазе вегетации незначительно различались по освещенности, то следует полагать, что обнаруженные различия в чистой продуктивности фотосинтеза скорее всего обусловлены влажностью почвы.

Изменения в фотосинтетической деятельности субальпийского высокоотравья в зависимости от микроклиматических и эдафических факторов оставили свой отпечаток на их биопродуктивности (табл. 2).

Представленные в табл. 2 данные показывают, что во всех микроклиматических условиях сухая масса листьев, стеблей и корней преобладает у *H. sosnowskyi*, цветков – у *D. flexuosum*, низкие показатели сухой массы листьев обнаружены у *C. latifolia*, стеблей – у *D. flexuosum*, цветков и корней – у *L. armenum*.

Сравнение органической массы подопытных растений в изучаемых микроклиматических условиях показало, что надземная и подземная масса преобладает в ложине склона, а самые низкие данные констатированы на порубленном участке леса.

Таблица 2. Биомасса надземной и подземной частей субальпийского высокоотравья в различных микроклиматических условиях, г абс. сух. в-ва/м² ($M \pm m$)

Виды	Листья	Стебли	Цветки	Всего над- зем- ная часть	Корни	Общая био- масса	Участие в биомассе, %	
							над- земная часть	корни
Верхняя опушка леса								
<i>H. sosnowskyi</i>	532,3±24,4	34,6±1,37	5,3±0,27	572,2	713,6±46,0	1285,8	44,5	55,5
<i>C. latifolia</i>	333,6±21,9	14,8±0,85	2,7±0,11	351,1	325,2±17,4	676,3	51,9	48,1
<i>A. orientale</i>	439,4±30,2	25,6±0,79	5,7±0,26	470,7	558,3±31,4	1029,0	45,7	54,3
<i>C. gigantea</i>	349,3±17,1	12,7±0,44	3,8±0,20	365,8	417,7±23,8	780,5	46,8	53,2
<i>D. flexuosum</i>	336,1±20,7	10,2±0,51	8,0±0,37	354,3	425,8±26,3	780,1	45,4	54,6
<i>L. armenum</i>	440,8±28,4	15,3±0,61	2,4±0,19	458,5	206,8±11,9	665,3	68,9	31,1
Лощина склона								
<i>H. sosnowskyi</i>	574,1±31,8	38,5±1,28	5,7±0,28	618,1	756,4±51,9	1374,5	44,9	55,1
<i>C. latifolia</i>	363,6±21,6	14,6±0,76	2,6±0,18	380,8	343,7±24,3	724,5	52,5	47,5
<i>A. orientale</i>	508,7±31,6	28,7±1,22	6,9±0,24	544,3	598,1±38,6	1142,4	47,6	52,4
<i>C. gigantea</i>	369,6±18,7	13,4±0,92	4,2±0,13	387,2	425,8±18,4	813,0	47,6	52,4
<i>D. flexuosum</i>	373,4±20,8	10,9±0,43	8,6±0,41	392,9	438,6±25,2	831,5	47,2	52,8
<i>L. armenum</i>	476,2±33,1	19,4±0,97	2,6±0,17	498,2	211,8±12,6	710,0	70,0	30,0
Порубленный участок леса								
<i>H. sosnowskyi</i>	458,8±22,7	32,7±1,74	4,3±0,21	495,8	681,4±37,1	1177,2	42,1	57,9
<i>C. latifolia</i>	272,2±23,1	12,2±1,07	2,1±0,14	286,5	308,3±15,8	594,8	48,1	51,9
<i>A. orientale</i>	383,9±26,1	24,4±1,41	5,7±0,32	414,0	532,4±30,4	946,4	43,7	56,3
<i>C. gigantea</i>	303,1±22,6	11,3±0,67	3,7±0,22	318,1	389,7±18,7	707,8	44,9	55,1
<i>D. flexuosum</i>	305,7±11,5	8,2±0,31	8,1±0,51	322,0	399,6±9,4	721,6	44,6	55,4
<i>L. armenum</i>	382,5±31,6	14,5±0,86	2,1±0,12	399,1	204,4±10,6	603,5	66,1	33,9

Сопоставление данных чистой продуктивности фотосинтеза и сухой массы отдельных органов приводит к убеждению, что продукты ассимиляции CO_2 более интенсивно расходуются на рост и накопление большей органической массы листьев, стеблей, цветков и корней в лощине склона, в результате чего регистрировались низкие значения чистой продуктивности фотосинтеза высокоотравья именно на этом опытном участке.

В этом плане расчеты, проведенные на основании средних данных, показали, что сухая масса листьев высокоотравья в лощине склона - 10%, стеблей - 10,6%, цветков - 9,6%, всей надземной части - 12% и корней - 4,9% и всего растения на 7,2% больше, чем на верхней опушке леса.

Аналогичные, однако более выраженные различия получены в отношении порубленного участка леса.

Из этих расчетов становится очевидным, что с переходом от более влажных условий к сухим биопродуктивность субальпийского высокоотравья падает. Причем, изменения в накоплении органической массы в различных микроклиматических условиях носят коррелятивный характер.

Это выражалось в том, что сухая масса листьев, стеблей, цветков и корней в лощине склона возрастала, а на порубленном участке леса параллельно уменьшалась.

Привлекает внимание то обстоятельство, что в зависимости от микроклиматических условий менялась доля надземных органов и корневой системы в общей биомассе высокотравья.

В этой связи следует, во-первых, отметить, что у *L. armenum* во всех местопроизрастаниях надземная часть составляла почти 2/3 общей биомассы, на втором месте оказалась *C. latifolia* (48-52%), а самая низкая доля обнаружена у *H. sosnowskyi*.

В отношении корневой системы получена обратная закономерность.

Во-вторых, с переходом от более влажной ложины склона к сравнительно сухому участку порубленного леса доля листьев в общей биомассе высокотравья сократилась, а корневой системы возросла.

Это логично, поскольку в сухих условиях для удовлетворения потребности растений в воде, несомненно, усилился рост корневой системы.

Таким образом, результаты исследований позволяют прийти к выводу, что биопродуктивность субальпийского высокотравья строго зависит от микроклиматических условий местопроизрастания, в которых значительная роль принадлежит влажности воздуха и почвы.

Будучи влаголюбивыми растениями и обладая большой высотой и мощной корневой системой и, следовательно, атмосферными и почвенными ресурсами, субальпийское высокотравье успешно сочетает эти качества в обеспеченных достаточной влажностью местопроизрастаниях. Это приводит к повышению их биопродуктивности, что в свою очередь является свидетельством продуктивного использования влаги окружающей среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадалян В.С. Изв. АН Арм.ССР, сер. биол. и сельхоз.н., 29, 5, 15-25, 1956.
2. Курсанов А.Л. Транспорт ассимилятов в растении. Изд-во "Наука", М., 1976.
3. Магакян А.К. Растительность Армянской ССР. Изд. АН СССР, М., 1941.
4. Морозов В.Л., Белая Г.А. Экология дальневосточного крупнотравья. Изд-во "Наука", М., 1988.
5. Нахуришвили Г.Ш. Проблемы ботаники, 14, 2. Экология и биология высокогорных растений. Изд-во "Наука" СО. Новосибирск, 1979.
6. Ничипорович А.А., Строгонова Л.Е., Чмора С.П., Власова М.П. Фотосинтетическая деятельность в посевах. Изд. АН СССР, М., 1961.
7. Ничипорович А.А. В кн.: Физиология сельскохозяйственных растений, 1. Изд-во Моск. ун-та, 1967.
8. Работнов Т.А. Фитопенология. Изд-во Моск. ун-та, 1978.
9. Родин Л.Е., Ремезов Н.П., Базилевич Н.И. Методические указания к изучению динамики и биологического круговорота в фитопенозах. Л., 1968.
10. Тахтаджян А.Л. Тр. БИН АН Арм.ССР, 4, 51-107, 1946.
11. Bobadjanova M.D., Abdullaev Kh.A., Karimov Kh.Kh., Solieva B.A., Kasparova I. Photoassimilates partitioning in *Gossypium hirsutum* L. during vegetation period. XVI Inter. Bot. Cong. Abstract. St.Louis (USA), p.626, 1999.
12. Slavcheva T. Photosynthetica, 24, 1, 182-185, 1990.

Поступила 09.XII.2003

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 632.651

ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ ПАРАЗИТИЧЕСКИХ НЕМАТОД ВИНОГРАДНИКОВ ТАВУШСКОГО И ВАЙОЦДЗОРСКОГО МАРЗОВ

Дж.А. КАРАПЕТЯН, Р.С. МКРТЧЯН, С.Х. ГАЛСТЯН

Институт зоологии ИАН Армении, 375014, Ереван

Изучено и выявлено видовое разнообразие паразитических фитонематод, а также паразитические и вирусоносительные виды из прикорневой почвы виноградной лозы в Тавушском и Вайоцдзорском марзах, в частности *Xiphinema index*, *Helicotylenchus dihystera*, *Macroposthonia xenoplax*. Максимальное количество особей было обнаружено в апреле-мае на глубине 10-40 см.

Տափուչի և Վայոց Ձորի մարզերում խաղողի վազի մերձարմատային հողի տարբեր խորությունների, տարբեր շերտերից՝ 10-20, 20-40, 40-60 սմ վերջված նմուշներում որոշվել են ֆիտոնեմատոդների տեսակային բազմազանությունը, ինչպես նաև մի շարք մակարոսյո, էկտոմակարոսյո և վիրուսակիր տեսակներ՝ *Xiphinema index*, *Helicotylenchus dihystera*, *Macroposthonia xenoplax* Ամիստների մեծ քանակությունը հայտնաբերվել է ապրիլ-մայիս ամիսներին 10-40 սմ խորությունից:

The researches were conducted in the vineyards in Tavush and Vayots Dzor regions. Soil samples were taken from the depth of 10-20, 20-40, 40-60 cm. A range of ectoparasite species of phytonematodes has been distinguished among them such as *Xiphinema index*, *Helicotylenchus dihystera*, *Macroposthonia xenoplax*. These ectoparasite species of phytonematodes are found together at the same time with large quantities. The highest number of species is detected at the soil depth 10-40 cm in April-May.

Виноград - нематоды - вирусоносители

В Армении исследования растительноядных нематод были начаты в конце пятидесятих годов. В различных областях республики исследовалось видовое разнообразие фитонематод, выявлялись как экто-, так и эндопаразитические виды, наносящие ощутимый вред хозяйствам. Нами были изучены и выявлены видовое разнообразие паразитических фитонематод, а также паразитические и вирусоносительные виды виноградной лозы в Тавушском и Вайоцдзорском марзах.

Исследовались виноградники сёл Ачаджур, Хаштарак, Акпахпюр, Айгеовит, Каянаван, Ноемберян, Бердаван, Кохб, Баганис, Паравакар Тавушского марза, где в основном возделываются сорта Ркацители. Особенно большое количество вредных нематод выявлено в виноградниках сёл Хаштарак, Каянаван и Айгеовит.

В Вайоцдзорском марзе исследовались виноградники сёл Матышка, Аганалзор, Арени, Геган, Арни, где в основном возделывается виноград сорта Арени. Большое количество паразитических нематод обнаружено в виноградниках сёл Аганалзор и Арени.

Материал и методика. Материалы собирали маршрутными методами. Выбирали внешне поврежденные, с полувясытыми листьями карликовые растения виноградной лозы и каждый месяц брали образцы из прикорневой почвы. Для оценки вертикального распределения личинок и самок и их суммарной численности почвенные пробы отбирали по вертикали, начиная с поверхности почвы в следующих слоях почвенного горизонта: 10-20 см, 20-40 см, 40-60 см и, по возможности, до 80 см.

Нематоды выделяли методом промывки почвы через сито из мельничного газа с диаметром ячеек 64 мкм и вороночным методом Бермана. Фиксацию нематод проводили 4%-ным раствором формалина с предварительным подогревом. Препараты изготавливали по методу Кирьяновой — Краля и глицерин-желатинные [1]. Нематод исследовали под микроскопом БИОЛАН Р-17 с использованием фазово-контрастного устройства КФ-4 и под микроскопом МБИ-3 [1, 2].

Результаты и обсуждение. Нами выявлены и определены эктопаразитические нематоды из родов *Macroposthonia*, *Helicotylenchus*, *Rotylenchus*, *Pratylenchus*, *Criconea*, *Tylenchus*, *Longidorus*, *Xiphinema*. Выявлен 51 вид нематод. Из них самыми опасными видами являются *Xiphinema index*, *Helicotylenchus dihystra*, *Macroposthonia xenoplax*. Наиболее часто встречаются на обследованных нами виноградниках нематоды семейства *Criconeematidae*. Представители его обитают в почве близ корней растений и питаются их соками, в результате чего вызывают некроз клеток корня и одновременно способствуют проникновению фитопатогенных бактерий и грибов [3]. Кроме того, имеются предположения, что отдельные представители семейства, в частности *Macroposthonia xenoplax*, могут участвовать в передаче вирусных заболеваний [4].

Наиболее благоприятная температура их развития 22-26°. Питание происходит на кончиках корней или вдоль всего корня.

Вредоносной группой нематод являются также представители семейства *Hoplolaimidae*. Многие их виды ведут полужизнопаразитический образ жизни, внедряясь передней частью тела в корни растений. Среди них наиболее патогенные виды имеются в составе родов *Helicotylenchus*. Серьезным вредителем винограда и других ценных растений является *Helicotylenchus dihystra*. Тропический вид размножается при температуре 10-35°, питается на корнях как экто- или полужизнопаразит, иногда как эндопаразит. Зараженные корни отличаются от здоровых наличием по всей поверхности многочисленных некротических участков.

Следующей группой паразитических нематод являются представители рода *Xiphinema* — эктопаразиты многих сельскохозяйственных культур, которые наносят непосредственный вред растению, паразитируя на корнях и питаясь за счет их клеточного содержимого, а также, будучи вооруженным мощным стилетом, ранят кончики корней, открывая путь для проникновения гнильной, грибковой и бактериальной микрофлоры. Больные растения отстают в росте, понижается их морозостойкость и засухоустойчивость. Помимо этого, ксифинемы известны как инкуляторы фитопатогенных вирусов. *Xiphinema index* известна как переносчик вируса короткоузлиния (веретенистости винограда — *Grapevine fanleaf virus*). Она может обитать в различных типах почв. Основное значение имеет наличие предпочитаемых растений — хозяев в данной местности. К таковым относится виноград. На

орошаемых виноградниках, где основная часть всасывающих корней размещается в верхних слоях почвы, *X. index* сосредоточена в верхних слоях 10-20 см почвы, в то время как на неорошаемых виноградниках как корни, так и нематоды находятся в более глубоких слоях. Половозрелые особи и личинки *X. index* являются мигрирующими эктопаразитами. Теплолюбивый вид завершает свой жизненный цикл в оптимальных тепличных условиях при температуре 24° за 22-27 дней. При снижении температуры развитие нематод может замедлиться и длиться 2-3 года. Половозрелые самки и личинки питаются и кончиками корней, и по всей поверхности корней, где в течение 24 ч наблюдается заметное вздутие галлы.

В связи с широким распространением эктопаразитической нематоды *X. index* на виноградниках и большим практическим значением ее для культуры изучали некоторые вопросы биоэкологии этой нематоды (сезонная динамика численности, распределение в почве).

Так как *X. index* эктопаразит корней и встречается по всему профилю проникновения корневой системы, почвенные пробы отбирали в ризосфере растений по вертикали в следующих слоях почвенного горизонта: 20-40 см, 40-60 см. Нематода обнаружена во всех обследуемых горизонтах почвы, однако в максимальном количестве на глубине 20-40 см, возможно, за счёт наиболее благоприятных для ксифинем условий питания и развития (оптимальная влажность, обилие мелких корешков). Численность паразита на протяжении всего годичного цикла развития виноградной лозы колеблется в значительных пределах как по отдельным почвенным горизонтам, так и по основным фазам вегетативного развития винограда. Вегетация винограда в Армении длится с апреля по ноябрь.

Данные о численности динамики популяции *X. index* представлены на рис. 1.

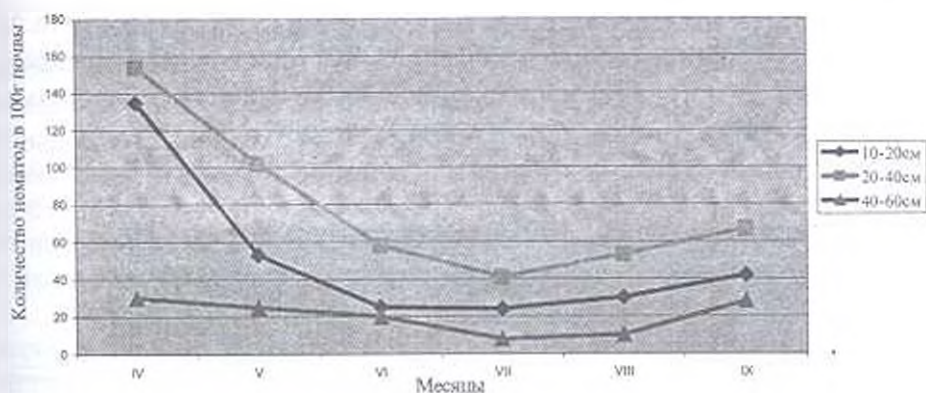


Рис. 1. Сезонная динамика численности нематод *Xiphinema index* в ризосфере винограда на различной глубине

Анализ полученных результатов показывает, что максимальное количество особей обнаружено в апреле, на глубине 10-20 см численность нематод составляла 135 особей в 100 г почвы, на глубине 20-40 см - 154 особи в 100 г почвы. Определённую роль здесь играет начало периода

активного вегетативного развития винограда. В летние месяцы (июнь-август) численность нематод оставалась невысокой во всех обследуемых горизонтах почвы. На глубине 10-20 см обнаружены 24 особи, на глубине 20-40 см – 41 особь, а на глубине 40-60 см – 8 особей в 100 г почвы. Возможно, они мигрировали в более глубокие почвенные слои.

Осенью наблюдалось некоторое повышение численности нематод, которое совпадает в фазе полной физиологической зрелости ягод в октябре. В этот период в почвенном горизонте 20-40 см установлено 105 особей в 100 г почвы. В почвенных горизонтах 10-20 см и 40-60 см численность популяции *X. index* достигала только 60 и 32 особей в 100 г почвы соответственно. Анализ количественных изменений популяции *X. index* по основным фазам развития виноградной лозы и сезонам года выявил два пика численности: весенний (апрель-май) и осенний (октябрь).

Пики численности нематод совпадают с фазами развития винограда: с фазой сокодвижения, когда растения начинают вегетировать и происходит активизация жизнедеятельности корневой системы, и с фазой физиологической зрелости ягод, в период осеннего активного роста корней.

Самки *X. index* с яйцами в половой трубке отмечались нами в апреле, мае и июне, за исключением глубины 10-20 см, в эти же месяцы численность самок в почвенных пробах преобладала над личинками. На глубине 20-40 см количество самок составляло в апреле 51%, в мае – 66%, в июне – 65% от общей численности популяции *X. index*, а на глубине 40-60 см – 67,76 и 85% соответственно.

В летние месяцы в почве преобладали личинки, преимущественно II – III возрастов, на глубине 10-20 см численность личинок в июле составляла 87%, в августе 83% от общей численности популяции, а на глубине 20-40 см – 52 и 53% соответственно.

Во все сезоны года более 50% личинок находились в верхних (10-20 см и 20-40 см) горизонтах почвы (рис. 2). С глубиной почвы численность личинок постепенно снижалась, и на глубине 40-60 см она составляла только 10% общей численности их по всем горизонтам (рис. 3, 4).

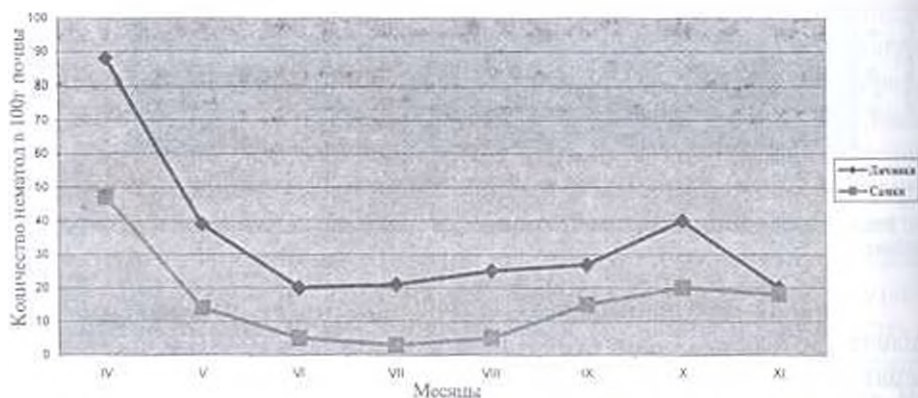


Рис.2. Сезонная динамика численности самок и личинок *Xiphinema index* на винограде на глубине 10-20 см

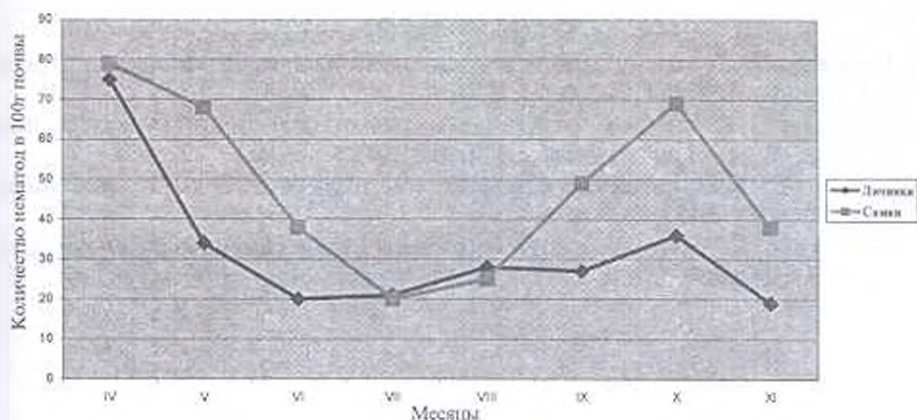


Рис. 3. Сезонная динамика численности самок и личинок *Xiphinema index* на винограде на глубине 20-40 см

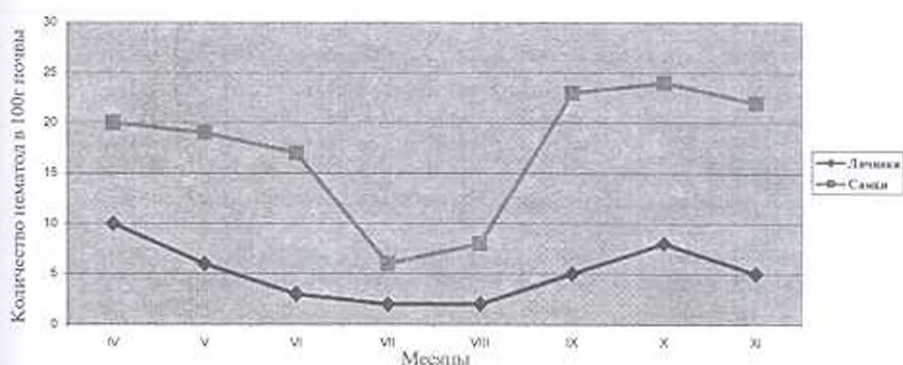


Рис. 4. Сезонная динамика численности самок и личинок *Xiphinema index* на винограде на глубине 40-60 см

Характер распределения в почве взрослых особей *X. index* во все периоды обследования имел следующие особенности: более 50% взрослых особей находились на глубине 20-40 см. В верхних (10-20 см) слоях почвы было обнаружено около 15% общей численности взрослых особей. Очевидно, имеет место возрастная миграция, при которой самки перемещаются в более глубокие слои почвы. Максимальная численность их была сосредоточена в почвенном слое 20-40 см. С глубиной число взрослых особей сокращалось, и на глубине 40-60 см составляло 20% от общего числа взрослых особей.

Период размножения *X. index* в условиях Армении имеет место ранней весной, так как именно на это время приходится пик численности яйцеоткладывающих самок.

Максимальная численность *X. index*, обнаруженная на глубине 20-40 см весной и осенью, указывает на целесообразность обследования виноградников на наличие нематод в эти периоды, с отбором почвенных проб на глубине не менее 40 см и применением в борьбе с ними глубокопроникающих препаратов (нематодицидов).

ЛИТЕРАТУРА

1. Кирьянова Е., Крамль Э. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними. Т. II. Изд. "Наука", с.520, Л., 1969.
2. Кирьянова Е., Крамль Э. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними. Т. II. Изд. "Наука" с.520, Л., 1972.
3. Иванова Г. Паразитические корневые нематоды семейства *Criconemadidae*, изд. "Наука", с.177, Л., 1976.
4. Романенко Н. Фитогельминты-вирусоносители семейства *Longidoridae*, М. ВО "Наука", с.280, 1993.

Поступила 09.XII.2005

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ СМЕШАННОМ БРОЖЕНИИ У *ESCHERICHIA COLI* В ГИПЕРОСМОТИЧЕСКОЙ ЩЕЛОЧНОЙ СРЕДЕ

Г.Р. КИРАКОСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 375025

Escherichia coli MC4100 is able to grow in anaerobic conditions in hyper-osmotic media containing either 0.3 M or 0.5 M sodium chloride or with equivalent quantity sucrose at pH 9.0. In this case in the alkaline medium with glucose they implement mixed fermentation, during which occur decrease of oxidation-reduction potential (ORP) with produced of fermentative gas – molecular hydrogen. In the experimental conditions it also decreases of ORP from positive ($+140 \pm 10$ mV) to negative (-465 ± 52 mV) values. However sodium chloride decreased duration of bacterial growth rate and intensity of oxidation-reduction processes and production of molecular hydrogen has been reduced. Proline of 2mM is able to increase the growth rate but not intensity of oxidation-reduction processes and doesn't restore the production of molecular hydrogen.

Escherichia coli – гиперосмотический стресс – окислительно-восстановительный потенциал – производство H_2 – пролин

Escherichia coli могут расти в анаэробных и аэробных условиях, в гипер- и гипоосмотической, кислой и щелочной среде.

В анаэробных условиях в отсутствие внешних акцепторов электронов эти бактерии сбраживают сахара, в результате их окисления происходит образование H_2 и его выделение в среду [11]. Последний процесс осуществляется посредством мембранно-связанного фермента – формат водородлиазы (ФВЛ), включающей в себя формат дегидрогеназу H , переносчики электронов и гидрогеназу 3 [11], или гидрогеназу 4 [4]. Предполагается, что ФВЛ (с гидрогеназой 4) взаимодействует с механизмом, образованным протонной F_0F_1 -АТФазой и TrkA системой поглощения K^+ и осуществляющим обмен $2H^+$ цитоплазмы на один K^+ среды [12], когда окислительно-восстановительные эквиваленты, отделяемые от продукта брожения формата, переходят на F_0F_1 и TrkA, обеспечивая дитиол-дисульфидное превращение на TrkA с высвобождением энергии, используемой для поглощения K^+ . Такой механизм $2H^+/K^+$ -обмена играет роль в регуляции внутриклеточного pH и тургора бактерий, поддержании $\Delta\mu_H^+$ и в других процессах [12]. Он имеет, возможно, первостепенное значение для роста

бактерий в гиперосмотических средах, содержащих хлорид натрия или другие соли и сахара.

При гиперосмотическом стрессе, создаваемом хлоридом натрия или несбраживаемыми сахарами, поглощение K^+ с высокой скоростью может осуществляться посредством TrkA [13] и через Kup [14], а в регуляции гургора бактерий важна роль не только глутамата [8], но и, как показано ранее [8], пролина или других осмотически активных веществ. Однако в щелочных средах, когда TrkA система, по-видимому, не взаимодействует с F_1F_0 -АТФазой с формированием механизма $2H^+/K^+$ -обмена [13] и Kup скорее всего неактивен [14], а ФВЛ, возможно, не индуцируется [11], особенности окислительно-восстановительных процессов и преодоление гиперосмотического стресса бактериями не изучены.

В настоящей работе показано, что в щелочной среде (рН 9,0) интенсивность окислительно-восстановительных процессов при росте *E. coli* в анаэробных условиях в гиперосмотических средах, содержащих NaCl, уменьшается, производство H_2 подавляется. Однако при таком рН пролин, увеличивая скорость роста бактерий в средах с высокой осмотичностью, не усиливает окислительно-восстановительные процессы и не восстанавливает производство H_2 .

Материал и методика. Бактерии и их выращивание. В работе использовали штамм *E. coli* MC4100 [2], который был получен от С. Айдрюса (Школа зоологии, микробиологии университета Рединга, Великобритания).

Выращивание бактерий в анаэробных условиях в пептонной или минимально солевой среде с глюкозой описано ранее [1]. Осмотичность среды увеличивали внесением NaCl или сахарозы, эквивалентность которых рассчитывали как ранее [9]. Удельную скорость роста определяли как частное от деления $0,693 (\ln 2)$ на время удвоения оптической плотности (при длине волны в 600 нм) в интервале, когда изменение логарифма оптической плотности во времени носило линейный характер [10], продолжительность лаг-фазы определяли как описано [2].

Измерение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП). Величину ОВП суспензии бактерий измеряли с помощью пары окислительно-восстановительных электродов — платинового типа ЭПВ-01 (E_{H_2}) и титан-силикатного типа ЭО-021 (E_{Fe}^{3+}), как описано ранее (завод измерительных приборов, г. Гомель, Беларусь) [1, 2, 5].

Определение производства H_2 . Выделение ферментативного газа при росте бактерий наблюдали в тест-трубках [6]. Производство H_2 бактериями в экспериментальной среде определяли по разности значений электродных (платинового и титан-силикатного) потенциалов [1, 2, 6], когда в отличие от платинового титан-силикатный электрод был нечувствителен к H_2 и O_2 , и его показания не "искажались" последними. При рН 7,5 разность и скорости падения электродных потенциалов в 4,7–6,7 мВ/мин.мг сухого веса в суспензии *E. coli* MC4100 указывала на производство H_2 [1, 5]. При рН 9,0 эта же разность составляла 2,0 мВ/мин.мг сухого веса (табл.). Образование H_2 подтверждали и химическим методом, основанным на обесцвечивании раствора перманганата в присутствии H_2 [2, 5].

Другие методы и реактивы. Подготовка бактерий к измерениям не отличалась от ранее описанной [1, 2, 6]; в качестве экспериментальной среды использовали 200 мМ фосфатно-трисогового буфера (рН 9,0), содержащего 0,1 мМ сульфата магния, 1 мМ KCl. Количество бактерий в единице объема определяли подсчетом колоний после высева клеток на твердые питательные среды, а сухой вес — взвешиванием после высушивания суспензии [3]. Приводятся средние арифметические величины двух-трех независимых измерений, стандартная ошибка которых не превышает 5 %.

Применяли глюкозу от Борисовского завода медицинских препаратов (Беларусь), бактериальный агар, пептон, пролин от фирмы "Sigma" (г. Сент-Луис, США) и другие реактивы аналитической чистоты.

Результаты и обсуждение. Бактерии *E. coli* в гипертонической щелочной среде. Рост *E. coli* в гипертонической среде в анаэробных или аэробных условиях, в слабощелочных и кислых средах показан во многих работах [1, 9]. Весьма интересным является то, что эти бактерии способны расти в такой среде, но достаточно чувствительны к присутствию ионов натрия. Возможно, это связано с низкой активностью Na^+/H^+ -антипортеров [15], недостаточной для выведения накапливающихся в цитоплазме ионов натрия, оказывающих токсичный эффект.

На самом деле рост *E. coli* MC4100 подавляется в присутствии 0,3 М NaCl и еще более - 0,5 М NaCl при росте бактерий в среде с pH 9,0 (рис. 1А). При этом значительно увеличивается (в 2 раза) продолжительность лаг-фазы (рис. 1Б). Интересно, что при таком pH скорость роста *E. coli* в гипертонической среде, содержащей 0,5 М NaCl, значительно ниже, чем в слабощелочной среде [15].

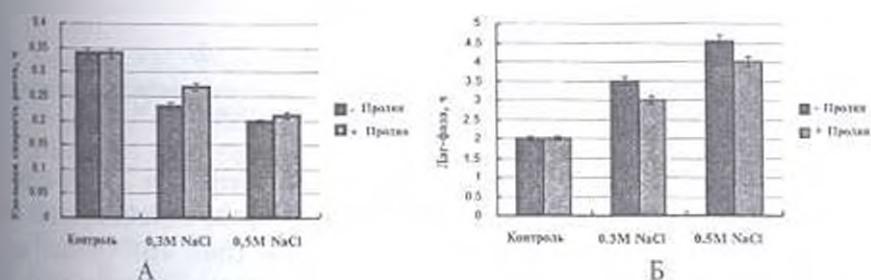


Рис. 1. Влияние NaCl на ростовые характеристики *E. coli* MC4100 в щелочной среде в отсутствие и в присутствии пролина. А - удельная скорость роста, Б - продолжительность лаг-фазы роста. Проллин добавляли в концентрации 2 мМ, в остальном см. Материалы и методика.

С падением скорости роста бактерий в среде с NaCl при pH 9,0 уменьшается и интенсивность окислительно-восстановительных процессов: значение E_h снижается до -205 ± 15 мВ (рис. 2А и 2Б), а производство H_2 практически отсутствует (табл.). Подобные эффекты не наблюдаются в гипертонической среде, содержащей 0,75 М сахарозы, когда E_h падает до -170 ± 10 мВ (не показано). Вместе с тем, разность в падении значений E_h и E_h' (табл.) может свидетельствовать о выделении H_2 . Этот результат указывает на то, что ФВЛ, ответственная за образование H_2 [4, 5, 11], чувствительна к осмотичности и pH среды. При щелочном pH нельзя исключить и возможность выделения H_2 через другой путь.

Влияние пролина на интенсивность окислительно-восстановительных процессов и производство H_2 бактериями. Проллин, как было показано ранее [1], увеличивает скорость роста *E. coli* в анаэробных условиях в гипертонической среде. Такое действие он может оказывать, по-видимому, за счет прохождения во внутрь клетки с участием ProP системы, катализирующей сопряженный с ионами натрия транспорт пролина [16], или же с участием второй, ProU системы, активируемой при гипертоническом стрессе посредством K^+ или глутамата [8]. Активность

этих транспортных систем в щелочной среде мало изучена. Затем пролин, возможно, взаимодействует с белками, приводя к замене ионов в окружении белков и снимая ингибирующее действие Na^+ на их активность [7]. В то же время показано, что накопление пролина повышает внутриклеточное содержание K^+ и глутамата, что сопровождается или определяет значительным увеличением объема воды в цитоплазме [6]. Здесь нельзя исключить и включение пролина в метаболические пути с образованием соединений, воздействующих на отмеченные процессы.

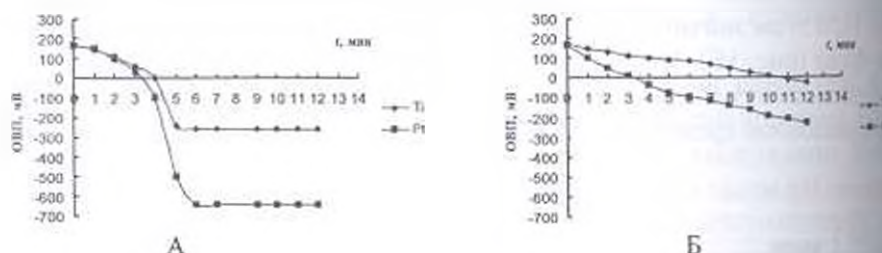


Рис. 2. Кинетика изменения ОВР в суспензии *E. coli* MC4100, выращенных в анаэробных условиях при pH 9,0 в средах с различной осмотическостью в отсутствие (А) и в присутствии (Б) 0,5 М NaCl.

Нам удалось показать, что пролин (в концентрации 2 мМ) может стимулировать рост *E. coli* в гиперосмотической среде с NaCl при pH 9,0 (рис. 1А) и снижать продолжительность лаг-фазы (рис. 1Б). Однако при pH 9,0 он не увеличивает интенсивность окислительно-восстановительных процессов в анаэробной суспензии *E. coli* и не восстанавливает производное H_2 (табл.), как это происходило при pH 7,5 [1]. Такой результат может указывать на изменения в PtoP и PtoU транспортных системах, либо на роль внутриклеточного K^+ , содержание которого за счет отличной работы TrkA системы ниже в щелочной среде.

Таблица. Влияние пролина на интенсивность окислительно-восстановительных процессов и производство H_2 у *E. coli* MC4100, выращенных в анаэробных условиях в гиперосмотической среде при pH 9,0.

Условия роста и эксперимента	Изменение ОВР, мВ/мин.мг сухого веса		Производство H_2
	E_0	E_{∞}	
без NaCl или сахарозы	3,7	1,8	+ (1,9)
без NaCl, пролин	3,8	2,0	+ (1,8)
0,3 М NaCl	2,2	1,6	- (0,6)
0,5 М NaCl	1,2	1,1	- (0,1)
0,75 М сахарозы	3,0	1,4	+ (1,6)
0,3 М NaCl, пролин	2,1	1,8	- (0,3)
0,5 М NaCl, пролин	1,5	1,1	- (0,4)

В скобках приводится разность начальных скоростей падения этих электропотенциалов в среде, содержащей 22 мМ глюкозы.

Автор выражает благодарность проф. А. Трчуняну за ценные советы и замечания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киракосян Г., Баграмян К., Трчунян А. Биофизика. 46, 245, 2001.
2. Киракосян Г., Баграмян К., Трчунян А.А. Биофизика. 50, 1097, 2005.
3. Трчунян А.А., Василян А.В. Биохимия. 58, 1064, 1993.
4. Andrews S.C., Berks B.C., McClay J., Amhler A., Qiaill A.M., Golby P., Guest R.G. Microbiology. 143, 3633, 1997.
5. Bagramyan K., Mnatsakanyan N., Poladian A., Vassilian A., Trchounian A. FEBS Lett. 516, 172, 2002.
6. Cayley S., Lewis B.A., Record M.T. J. Bacteriol. 174, 1586, 1992.
7. Csonka L.N., Epstein W. In *Escherichia coli* and *Salmonella*. Molecular and Cell Biology. C. Neinhart (Editor-in-Chief). ASM Press, Washington DC. 1, 1210, 1996.
8. Gowrishankar J.M.D. Genetica. 97, 363, 1996.
9. Houssin C., Eynard N., Schechter E., Ghazi A. Biochim. Biophys. Acta. 1056, 76, 1991.
10. Neidhardt F.C., Bloch P.L., Smith D.F. J. Bacteriol. 119, 736, 1974.
11. Sauter M., Bohm R., Bock A. Mol. Microbiol. 6, 1523, 1992.
12. Trchounian A. Biochem. Biophys. Res. Commun. 315, 1051, 2004.
13. Trchounian A.A., Ogandjanian E.S., Vanian P.A. Curr. Microbiol. 29, 187, 1994.
14. Trchounian A., Kobayashi H. FEBS Lett. 447, 144, 1999.
15. Trchounian A., Kobayashi H. Curr. Microbiol. 39, 109, 1999.
16. Quick M., Jung H. Biochemistry. 36, 4631, 1997.

Поступила 19.IV.2006

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 579.846

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕРМОАЦИДОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ ШТ.86

Н.С. ВАРДАНЯН*, И.А. ЦАЦЛИНА**, Т.И. БОГДАНОВА*, А.М. ЛЫСЕНКО*

*Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

**Институт микробиологии РАН, Москва

Some physiological and biochemical peculiarities of the thermoacidophilic bacteria strain 86 have been studied. High activities of sulfur metabolism enzymes such as thiosulfate-oxidizing, rhodanese and sulfite oxidase were revealed. Low activity of ribulose bispophate carboxylase was found in mixotrophic culture of the strain. The key enzyme of TCA cycle 2-oxoglutarate dehydrogenase was not detected in cellular extracts of strain 86. Based on these physiological, biochemical and genetic features strain 86 was described as *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* ssp. *asporogenes*.

*Сульфобациллы - ферменты метаболизма серы - железооксидаза -
рибулозобисфосфаткарбоксилаза*

В настоящее время известно несколько видов умеренно термофильных серо- и железоокисляющих бактерий, относящихся к роду *Sulfobacillus*: *S. thermosulfidooxidans* ВКМ В-1269 (=DSM 9293), шт. 41 и BC1 [3], *S. acidophilus* (шт. NAL и ALV) [17], *S. "montserratensis"* L-15 [21], *S. yellowstonensis* YTF1 [14] и *S. sibiricus* N1 (ВКМ В-2280) [6], а также к роду *Acidimicrobium* - *A. ferrooxidans* [10].

Исключительное разнообразие эколого-природных условий Армении вместе с богатствами недр цветными и другими металлами предоставляют широкие возможности для изучения биоразнообразия хемолитотрофных микроорганизмов и вызываемых ими процессов в природе. Исследованиями установлено, что в природных и техногенных биотопах месторождений Армении наряду с мезофилами широко представлены термофильные хемолитотрофные бактерии. Недавно нами из медного месторождения Армении Шамлуг выделена умеренно термофильная серо- и железоокисляющая бактерия, отличающаяся высокой активностью в окислении пирита и халькопирита [2].

Целью настоящей работы являлось изучение некоторых физиологических и биохимических особенностей, а также генетических характеристик выделенной термоацидофильной бактерии шт. 86.

Материал и методика. Штамм 86 серо- и железоокисляющих бактерий был выделен из рудничной воды медно-рудного месторождения Шамлуг Армении. Для выделения его использовали модифицированную среду Брауна, содержащую 2,0 г/л Fe^{2+} и дополнительную 0,02% дрожжевого экстракта [1], при 50°. Чистую культуру получали путем высева на

плотную среду Маннинга, содержащую 0,5% агарозы (Type 1; Low EEO Sigma), с последующим изолированием отдельно выросших колоний.

Для выделения ДНК использовали метод Мармура [16]. Определение содержания ГЦ оснований в ДНК проводили методом термической денатурации [5]. Степень ДНК-ДНК гибридизации определяли методом оптической реассоциации [11].

Ионы Fe^{2+} и Fe^{3+} определяли комплексометрическим методом трилоном Б [7]. сульфаты - спектрофотометрически [12].

Рибулозобисфосфаткарбоксилазу (КФ 4.1.1.39) определяли радиоизотопным методом [8], α -оксoglутаратдегидрогеназу - по восстановлению НАД [18], железокисляющую активность - колориметрическим методом [9]. Тиосульфатокисляющий фермент (тиосульфатдегидрогеназу, НФ 1.8.2.2) и сульфитоксидазу (сульфит - цитохром *c*-оксидоредуктазу, НФ 1.8.2.11) измеряли по восстановлению феррицианида в присутствии тиосульфата или сульфита соответственно [19]. Роданазу (тиосульфат-цианидосульфотрансферазу, НФ 2.8.1.1) измеряли по скорости образования тиоцианата из тиосульфата и цианида [15].

Результаты и обсуждение. Морфология. Клетки выделенного штамма представляют собой палочки размером 0,9-1,0 x 1,5-3,5 мкм. Неподвижные, спор не образуют. В активно развивающейся культуре клетки одиночные или спаренные. По Граму окрашиваются положительно.

Отношение к температуре и pH. Оптимальная температура роста шт.86 55°. Рост бактерии возможен в диапазоне температур от 25° до 60°.

Оптимальные значения pH при росте бактерий на среде с Fe^{2+} находятся в пределах pH 1,6-1,8. При значениях pH выше 2,2 наблюдается резкое снижение активности окисления Fe^{2+} . Рост бактерий на среде с элементной серой имеет место в интервале pH 2,0-4,5, оптимальные значения pH составляют 2,3-2,5.

Источники энергии и углерода. Источниками энергии для выделенного штамма являются Fe^{2+} , S^0 и ряд сульфидных минералов (FeS_2 , $CuFeS_2$ и др.). В автотрофных условиях скорость роста бактерии и окисления неорганических субстратов очень низкая. Однако в миксотрофных условиях в присутствии 0,02% дрожжевого экстракта наблюдалось увеличение скорости окисления Fe^{2+} примерно в 10 раз. Некоторое увеличение удельной скорости роста и окисления Fe^{2+} у шт.86 наблюдалось также в присутствии 0,1% глюкозы и глутаминовой кислоты. В последнем случае, по данным тонкослойной хроматографии, наблюдалось уменьшение в среде количества глутаминовой кислоты, по-видимому, она используется бактериями в конструктивном обмене. Подтверждением тому может служить низкая активность РБФ-карбоксилазы. Так, у миксотрофно растущей культуры шт.86 активность РБФ-карбоксилазы составляла 0,8-1,5 мМ CO_2 /мин на 1 мг белка). В ряде работ показано, что внесенный в среду в виде органических веществ углерод, может частично потребляться умеренно термофильными бактериями как дополнительный источник углерода [3].

Добавление к среде 0,02% дрожжевого экстракта приводило также к стимулированию роста шт.86 на элементной сере, что выражалось в активном образовании SO_4^{2-} и резком снижении pH среды. При этом установлено, что по скорости окисления элементной серы шт.86 значительно превосходит *S.thermosulfidooxidans ssp. asporogenes* шт.41 как в автотрофных, так и миксотрофных условиях (рис.1). Так, за 11 дней культивирования штаммов

41 и 86 в автотрофных условиях образовалось 0,7 и 1,65 г/л SO_4^{2-} , а в присутствии 0,02% дрожжевого экстракта - 3,5 и 12,9 г/л SO_4^{2-} соответственно (рис. 1а). При этом реакция среды снижалась от 3,1 до 2,2 и 1,7 (рис. 1б). Вероятно, этим обстоятельством можно объяснить высокую активность шт.86, проявленную при окислении кислоторастворимых минералов, таких как халькопирит [2].

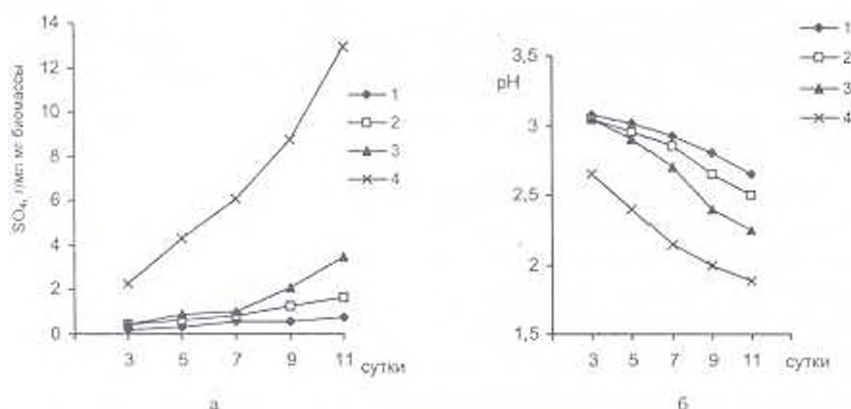


Рис. 1. Динамика образования SO_4^{2-} (а) и изменения pH (б) при окислении S^0 в автотрофных условиях (1, 2) и в присутствии 0,02% дрожжевого экстракта (3, 4) *S.thermosulfidooxidans* subsp. *asporogenes* шт.41 и шт.86, соответственно

Следует отметить, что глюкоза при содержании в среде в концентрации 0,1% примерно в 1,5 раза активизировала ее окисление у шт. 86, тогда как рост шт. 41 на сере в ее присутствии ингибировался. Однако шт. 86 не способен к гетеротрофному росту на среде с глюкозой в отсутствии неорганического источника энергии. По-видимому, бактерия не обладает эффективным механизмом получения энергии при окислении органических соединений. Изучение ферментов пика трикарбоновых кислот (ЦТК) показало, что цикл прерван на уровне 2-оксоглутататдегидрогеназы. Вероятно, реакции ЦТК у этого штамма скорее всего служат для обеспечения клетки некоторыми синтетическими процессами.

Активность ферментов окисления железа и серы. В бесклеточных экстрактах *S.thermosulfidooxidans* шт.86, выращенного на среде с Fe^{2+} , в миксотрофных условиях удельная активность железooksидазы составляла 82-158 нМ FeSO_4 /мин на 1 мг белка. В экстракте обнаружены также сульфитоксидазная (109-124 нмоль) и тиосульфатдегидрогеназная активность (6,7-10,6 нмоль), несмотря на отсутствие соответствующих субстратов. Это свидетельствует о конститутивной природе указанных ферментов у выделенного штамма, что ранее было установлено для тиобацилл [13, 20]. При росте *S.thermosulfidooxidans* шт.86 на элементной сере активность сульфитоксидазы увеличилась до 287 нМ/мин на 1 мг белка. Однако значительных изменений в активности тиосульфатдегидрогеназы и роданазы (тиосульфат пианисульфотрансферазы), участвующих в превращении тиосульфата, не наблюдалось. Отсюда следует, что промежуточным продуктом

окисления серы у этой бактерии, подобно тионовым бактериям, является сульфит. Следовательно, при росте *S.thermosulfidooxidans* шт.86 на среде с элементарной серой имеет место субстратная индукция сульфитоксидазы. Субстратная индукция сероокисляющих ферментов была отмечена у *S.thermosulfidooxidans* ВКМ В-1269 [3].

Таким образом, изучение ферментов метаболизма восстановленных соединений серы подтверждает, что схема окисления этих соединений у шт.86 идентична, установленной Сузуки с соавторами для тионовых бактерий [20].

Анализ ДНК. Содержание Г+Ц оснований в ДНК штамма 86 равно 46,5% и близко к таковым *S.thermosulfidooxidans*, *S.thermosulfidooxidans* ssp. *asporogenes* шт.41 и *S.sibiricus* [3, 6]. Однако результаты ДНК-ДНК гибридизации показали, что выделенный штамм имеет внутривидовой уровень сходства с *S.thermosulfidooxidans* ВКМ В-1269 (85%) и особенно высокую степень сходства с *S.thermosulfidooxidans*, subsp. *asporogenes* шт.41 (94%), между тем уровень сходства с *S.sibiricus* (45%) находится в пределах межвидового (табл. 1).

Таблица 1. Нуклеотидный состав и уровень сходства ДНК выделенных бактерий с сульфобациллами

Штаммы бактерий	Г+Ц, мол. %	Уровень сходства ДНК, %			
		<i>S.thermosulfidooxidans</i> 1269	<i>S.sibiricus</i> N1	<i>S.thermosulfidooxidans</i> 41	<i>S.thermosulfidooxidans</i> 86
<i>S.thermosulfidooxidans</i> 1269	47,2	100			
<i>S.sibiricus</i> N1	48,2	-	100		
<i>S.thermosulfidooxidans</i> 41	46,5	89	-	100	
<i>S.thermosulfidooxidans</i> 86	46,9	85	45	94	100

Вместе с тем следует отметить, что выделенный шт.86 подобно *S.thermosulfidooxidans* subsp. *asporogenes* шт.41, характеризуется отсутствием спорообразования.

Таким образом, по сходству основных физиологических и биохимических свойств, а также по содержанию Г+Ц в ДНК, по уровню

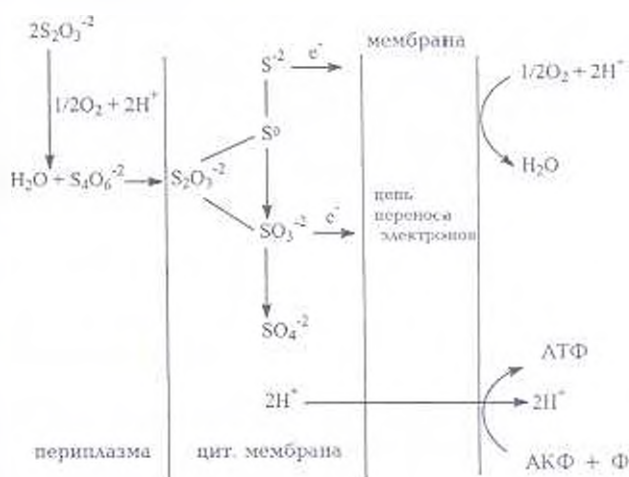


Схема окисления восстановленных соединений серы у тионовых бактерий (по Suzuki et al., 1994).

гомологии в ДНК и по отсутствию спорообразования выделенная бактерия была идентифицирована как неспорообразующий подвиid *S.thermosulfidooxidans* - *S.thermosulfidooxidans* subsp. *asporogenes*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биоготехнология металлов. Практическое руководство (под ред. Г.И.Каравайко, Дж. Росси, А.Агате, С. Грудева, З.А.Авакян). М.: Центр Международных проектов ГКНТ, 375с., 1989.
2. Варданян Н.С. Биотехнология, 6, 48-55, 1998.
3. Красильникова Е.Н., Богданова Т.Н., Захарчук Л.М., Цапина И.А., Каравайко Г.И. Микробиология, 67, 2, 156-164, 1998.
4. Каравайко Г.И., Турова Т.П., Цапина И.А., Богданова Т.Н. Микробиология, 69, 857-860, 2000.
5. Мандель М., Шильокраут К., Мармур Д. Методы исследования нуклеиновых кислот. М., Мир, 183-192, 1970.
6. Меламуд В.С., Пиноварова Т.А., Турова Т.П., Колганова Т.В., Осипов Г.А., Лысенко А.М., Кондратьева Т.Ф., Каравайко Г.И. Микробиология, 72, 5, 681-688, 2003.
7. Ретиков А.А., Муликовская Е.П., Соколов Н.Ю. Методы анализа природных вод. М., Недра, 1970.
8. Романова А.К. Биохимические методы изучения автотрофии у микроорганизмов. М.: Наука, 51-133, 1980.
9. Blaylock B.A., Nason A. J. Biolog. Chemistry, 10, 238, 1963.
10. Clark D.A., Norris P.R. Microbiology, 142, 785-790, 1996.
11. Deley J., Cattoir H., Reynaerts A. Eur. J. Biochem, 12, 143, 1970.
12. Dodgson R.S. Biochem. J., 78, 312-319, 1961.
13. Hallberg K.B., Dopson M., Lindstrom E.B. J. Bacteriol. 178, 1, 6-11, 1996.
14. Johnson D.B., Okihe N., Roberto F.F. Arch. Microbiol. 180, 60-68, 2003.
15. Key J.O., Suzuki I. J. Gen Microbiol. 99, 397-412, 1977.
16. Marmur J.A. J. Mol. Biol. 3, 208-218, 1961.
17. Norris P.R., Clark D.A., Owen J.P., Waterhouse S. Microbiology, 142, 775-783, 1996.
18. Sanadi D.R. Methods in Enzymology, New York, Acad. Press Inc., 13, 52, 1969.
19. Schook I.B., Berk R.S. J. Bacteriology, 133, 3, 1377-1382, 1978.
20. Suzuki I., Chan C.W., Takeuchi T.I. Oxidation of inorganic sulfur compounds by *Thiobacilli*. Environmental Geochemistry of sulfide oxidation (Eds. Alperg C.N., Blowers D.W., Washington D.C.) American Chemical Society, 60-67, 1994.
21. Yahya A., Roberto F.F., Johnson D.B. Novel mineral-oxidizing bacteria from Montserrat (W.I.): physiological and phylogenetic characteristics. In: Amilis R., Ballester A. (Eds.) Biohydrometallurgy and Environment Toward the Mining of the 21st Century. Elsevier, Amsterdam, 94, 729-740, 1999.

Поступила 17.IV 2006

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 618.1-324/25

К МЕТОДИКЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ПРОСТАГЛАНДИНОВ НА МАТОЧНО-ПЛАЦЕНТАРНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИКЕ

Л.Р. АБРАМЯН

*Институт перинатологии, акушерства и гинекологии
Республики Армения, 375096 Ереван
Государственное учреждение Институт акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта РАМН, СПб*

With the aim of delivery induction various methods and drugs, in particular, oxytocin, natural prostaglandins, prostaglandins analogues, 15-methyl prostaglandin, E_2 - type sulprostonmisoprostol have been applied, as well as mifepriston, which is the antagonist of progesterone. In the hospital the misoprostol was used before the preinduction or with the aim of induction in the gestational period from 38-41 weeks. The cardiotaehography was used, also dopplerometria of uterine and umbilical arterie, and medium cerebral vein, amniocopy, ultrasound examination, later the histomorphological examination of placenta after the delivery. The results of the examination proved the effectiveness and reliability of the above mentioned methods, and misoprostol (sinitotec).

Простагландин - гиперстимуляция матки - родовозбуждение - маточно-плацентарное кровообращение - мизопростол

Несмотря на более высокую частоту развития гиперстимуляции матки при родовозбуждении простагландином E_2 , частота нарушения сердечного ритма плода остается одинаковой при его применении.

Нет достаточного количества данных о влиянии различных методов родовозбуждения на такие показатели, как количество новорожденных, нуждающихся в оказании реанимационных мероприятий и интенсивной терапии. Никаких различий при использовании простагландина E_2 или окситоцина на основании имеющихся данных выявить не удалось. Сведения о количестве новорожденных с низкой оценкой по шкале Апгар на 1-й и 5-й мин не позволяют выявить какие-либо различия в воздействии простагландина E_2 и окситоцина. При родовозбуждении простагландином, по сравнению с окситоцином, ниже частота гипербилирубинемии (желтухи) в неонатальном периоде, однако это может быть результатом погрешностей, возникающих в ходе исследования.

Для индукции родов используется целый ряд препаратов и методов, включая окситоцин, естественные простагландины, аналоги простагландинов типа 15-метил-простагландин $F_{2\alpha}$, сульпростонмизопростол, а также антагонист прогестерона мифепристон.

Внутривенное введение простагландинов в настоящее время повсеместно вытесняется другими способами из-за относительно высокой частоты побочных осложнений. В то же время при использовании внутривенно энзапроста (11ПГ-2α) при первичной, так и вторичной слабости родовой деятельности двигательная активность плода характеризуется генерализованными движениями, преимущественно сочетавшимися с маточными сокращениями, отсутствием изолированных движений плода [2]. При сравнении с двигательной активностью плода, зарегистрированной в контрольной группе, не было выявлено достоверных различий, что свидетельствовало в пользу физиологичности и безопасности местного способа родостимуляции. Метод их интраамниального введения сейчас постепенно вытесняется другими.

Внутриамниальное введение простагландинов или их аналогов обычно в виде суппозиторий, гелей или pessaries в настоящее время является наиболее распространенным методом, благодаря удобству и простоте применения. Однако в этом случае уровень побочных осложнений высок. Наиболее часто применяются простагландин E₁ (гемепрост, церваем), ПГЕ₂ и его аналоги.

Мизопростол - аналог простагландина E₁ - оказался наиболее эффективным для родовозбуждения на всех стадиях при пероральном или вагинальном назначении. Поскольку препарат не зарегистрирован для использования в акушерстве и гинекологии, то никаких рекомендаций по его применению и дозировкам не имеется. Главная опасность состоит в гиперстимуляции матки, которая может закончиться даже ее разрывом. Поэтому применение препарата в настоящее время должно ограничиваться его изучением с целью определения оптимальных и безопасных режимов введения.

Мифепристон, стероидное вещество - антагонист прогестерона, представляется многообещающим препаратом для родовозбуждения при антенатальной гибели плода. Возможно, его следует применять в комбинации с простагландинами для усиления эффективности действия препарата. Считается, что улучшение методики использования простагландинов или их аналогов приведет к ограничению применения мифепристона [1, 3]. Особого внимания заслуживает изучение влияния мизопростала на маточно-плацентарное кровообращение. Имеются лишь единичные работы о влиянии мизопростала на маточный артериальный кровоток и частоту сердечных сокращений (ЧСС) плода в ранние сроки беременности [7], а также действие вагинально введенного мизопростала на сердечно-сосудистую систему во II триместре беременности [5] и влияние мизопростала на маточный и плодовой кровоток при индукции родов в связи с перенашиванием беременности [4].

Так, в работе [7] у 40 беременных в сроки 7-15 недель беременности перорально однократно назначался мизопростол в дозе 200 мкг. У этих беременных было изучено соотношение кровотока (A/B) и индекса пульсации (PI) в маточной артерии и ЧСС методом доплерометрии до и через 1 ч после применения мизопростала. По данным доплерометрии, мизопростол

через 1 ч после введения существенно повышал сосудистую резистентность в правой и левой маточных артериях, а также и индекс пульсации (PI). В правой маточной артерии повышение сосудистой резистентности (соотношение A/B) отмечено с $7,16 \pm 1,09$ до $10,26 \pm 0,67$ ($p=0,001$), а в левой маточной артерии соотношение A/B повысилось с $7,40 \pm 0,72$ до $9,21 \pm 0,82$ ($p=0,03$). Не выявлено различия в частоте сердечных сокращений плодов до и через 1 ч после введения мизопростала, а также внутриутробной гибели плодов в этот период наблюдения. Таким образом, по данным доплерометрии, сосудистая резистентность в маточных артериях на 7-15 нед. беременности существенно повышается после применения однократной дозы мизопростала, что приводит к уменьшению маточного кровотока. Однако эти изменения кривых скоростей кровотока (КСК) в маточных артериях не приводили к внутриутробной гибели плода. Скорее всего, эти изменения в кровообращении плода могут объяснить аномалии развития плода, связанные с применением мизопростала в первом триместре и начале второго триместра беременности.

Из работ, посвященных сердечно-сосудистым эффектам у плода при вагинально введенном мизопростале во II триместре беременности, следует отметить работу Рамзея и соавт. [6]. Авторы задались целью оценить эффекты высоких доз вагинально введенного мизопростала на сердечно-сосудистую систему плода путем мониторинга с использованием методики трансторакального электрического биоимпеданса до и после введения 600 мкг мизопростала в течение 1 ч с наблюдением каждые 15 мин в течение 4 ч у пациенток, находящихся в левом боковом положении во время исследования. Определялись ЧСС, среднее артериальное давление (АД), сердечный и ударный индексы, а также индекс систолической сосудистой резистентности и конечно-диастолический объем крови, которые были зафиксированы в среднем через 30 мин после применения мизопростала у 9 пациенток. В результате проведенных исследований установлено, что нет достоверных изменений в изученных параметрах сердечно-сосудистой системы в течение 4 ч после его введения (т.е. во время пика концентрации мизопростала в крови) [2].

Таким образом, высокие дозы мизопростала, введенного вагинально в середине беременности, не изменяют параметры сердечно-сосудистой системы матери и плода, полученные с помощью трансторакального электрического биоимпеданса.

Большой интерес представляет сравнительная оценка влияния мизопростала и окситоцина на маточно-плацентарное кровообращение во время индукции родов.

В работах Левансвиг и др. 91 пациентке было назначено 50 мкг мизопростала вагинально каждые 4 ч или внутривенную инфузию окситоцина [4]. Доплерометрию проводили в пупочной, маточной и аркуатных артериях непосредственно перед введением препарата и через 2-3 ч после назначения мизопростала или окситоцина. При оценке артериального кровотока использовались следующие показатели: максимальная систолическая скорость

(МСС), пульсационный индекс (ПИ - отношение разницы максимальной систолической и минимальной диастолической скоростей кровотока к средней скорости кровотока), индекс резистентности (РИ - отношение разницы максимальной систолической и минимальной диастолической к максимальной систолической скорости кровотока и отношение S/D в маточных артериях. В результате проведенных исследований выявлено, что вагинально введенный мизопростол повышает маточно-плацентарную резистентность, но, возможно, несущественно влияет на плацентарную перфузию. Нами была разработана методика исследования возможных вазоконстрикторных свойств мизопростола.

Материал и методика. На первом этапе наших исследований эксперименты были проведены на изолированных кольцах а. Umbilicalis пуповины плода. Препараты а. Umbilicalis получали из отесенной после срочных физиологических родов пуповины у 14 пациенток с физиологическим течением беременности. Средний возраст беременных составил 26 ± 3.4 года. Для исследований использовали неповрежденный зажимами участок пуповины длиной 10 см, максимально приближенный к плаценте, которую после отеснения немедленно помещали в охлажденный до $+4^\circ$ раствор Кребса, содержащий, mM: NaCl - 120; KCl - 4,0; $CaCl_2$ - 1,8; $MgCl_2$ - 1,0; NaH_2PO_4 - 0,4; $NaHCO_3$ - 19; глюкозу - 5,4. Выделение а. Umbilicalis производили в течение первых 2-х ч после родов. После выделения и очистки от соединительной ткани кольца сосудов (3-4 мм в диаметре) были подвешены в 30 мл термостатируемой ванночке, при $+37^\circ$, содержащей физиологический раствор указанного состава, через который пропускали смесь из 95% O_2 и 5% CO_2 , pH 7,4.

В клинике при применении мизопростола непосредственно перед индукцией или индукцией родая проводили комплексное обследование беременных на сроках 38-41 нед. гестации, которая включала:

1. запись в динамике кардиотокографии с одновременной записью возможности определения плодовой ацидемии кардиотокографом 8002 фирмы "Оксфорд";
2. доплерометрию в маточных артериях, пупочной артерии, средней мозговой артерии;
3. амниоскопию;
4. ультразвуковое исследование состояния плода, плаценты;
5. сразу после рождения - изучение гистоморфологических особенностей плаценты в сопоставлении с данными клиники и аппаратных методов исследования.

Результаты и обсуждение. Сокращения сосудов регистрировали в изометрическом режиме после предварительного растяжения сосудов на 3,0, используя тензометрические датчики, изготовленные на основе тензорезисторов КТД-2Б. Запись сокращений регистрировали самописцем КСПд/м-4. Через 180 мин после помещения колец артерий пуповины в ванночку вызывали контрольные сокращения 80мМ раствором хлористого калия. После отмывания дожидались исходного расслабления сосуда, после чего вводили исследуемые препараты. Препараты сосудов использовались в течение первых 24 ч после родов.

Использование данных методов исследования как в эксперименте, так и в клинике показало целесообразность и надежность их при внедрении в акушерскую практику различных схем и дозировок применения простагландинов и, в частности, аналога простагландина E_1 - мизопростола (сайтептека).

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамченко В.В. Современные методы подготовки беременных к родам. Изд-во "Санкт-Петербург", 255 с., 1991.
2. Сидорова И.С., Свешникова Т.З., Данилова О.С., Фандеева Е.В. Рос. вестник перинатологии и педиатрии. 2, 14-17, 2005.
3. Энкин М., Кейрс М., Нейлсон Дж., Краутер К. и др. Руководство по эффективной помощи при беременности и рождении ребенка. Пер. с англ. под ред. А.Б.Михайлова. Санкт-Петербург: Изд-во "Петрополис", 480 с., 2003.
4. Lemanciewicz A., Urban R., Skotnicki M.Z. et al. Int. J. Gynaecol. Obstet., 67/3, 139-145, 1999.
5. Ramsey P.S., Hogg B.B., Savage K.G. et al. Am. J. Obstet. Gynecol., 183/5, 1100-1102, 2000.
6. Ramsey P.S., Ogburn P.L., Harris D.I. et al. Am. J. Obstet. Gynecol., 82/6, 1616-1619, 2000.
7. Yip S.K., Tse A.O., Haines G.J., Chung T.K. Obstet. Gynecol., 95/2, 232-235, 2000.

Поступила 02.11.2006

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 618.1-324/25

ВЛИЯНИЕ ПРОСТАГЛАНДИНА E_1 - САЙТОТЕКА, ОКСИТОЦИНА, УНИТИОЛА И МИЛДРОНАТА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МАТКИ БЕРЕМЕННЫХ КРЫС

Л.Р. АБРАМЯН

Институт перинатологии, акушерства и гинекологии

Республики Армения, 375096, Ереван

*Государственное учреждение Институт акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта РАМН, СПб*

The influence of different doses of saltotec (misoprostol) on contractive activity of the uterus of 70 pregnant rats before delivery has been examined. 25, 50, 100 mkg/kg of saltotec (misoprostol) intrauterine injections increase either the amplitude or the frequency of the bioelectric activity of miometrium. The highest influence has been recorded in case of 100 mkg/kg dose. In one hour its activity decreases up to starting point. The application of oxytocin together with saltotec increases the uterotonic influence, in 90 minutes the amplitude and frequency of the miometrium biopotentials recover, reaching the norm point. Initial application of unitiol and mildronate with further injection of saltotec brings to expressed uterotonic influence.

Простагландин E_1 - сайтотек - окситоцин - унитиол - милдронат - мизопростол - родовозбуждение

Улучшение созревания шейки матки и родовозбуждение с использованием простагландина является дорогой методикой. Кроме того для хранения препарата требуется холодильник. Мизопростол (сайтотек), представляющий собой метилэстер простагландина E_1 , был разработан для предупреждения и лечения пептической язвы желудка, вызванной ингибиторами синтеза простагландинов. Это - недорогой препарат, который может храниться при комнатной температуре и оказывает маловыраженное побочное действие, при пероральном или интравагинальном применении происходит его быстрое всасывание.

Мизопростол широко используется в акушерской практике, несмотря на то что не зарегистрирован для этих целей. Именно поэтому не проводилось исследований, посвященных определению оптимальных дозировок и безопасности применения данного препарата. Тем не менее опубликованы данные [1, 3] об эффективности перорального, вагинального и ректального введения мизопростола в целях созревания шейки матки при доношенном сроке беременности и применяемого для родовозбуждения.

Результаты нескольких клинических исследований свидетельствуют о том, что вагинальное введение мизопростола (в дозе 25 мкг каждые 2-3 ч.

50 мкг каждые 4 ч или 100 мкг каждые 6-12 ч) является более эффективным для родовозбуждения по сравнению с окситоцином или динопростомом в обычных дозировках. Однако использование мизопростола сопровождается увеличением частоты окрашивания околоплодных вод меконием, развитием гиперстимуляции матки или тахисистолии маточных сокращений и снижением частоты сердечных сокращений (ЧСС) плода. Следует принимать во внимание возможность искажения данных в связи с методологическими погрешностями в исследованиях (не использовался слепой метод) и данные исследований имели слишком малую выборку.

В то же время применение мизопростола в низких дозах (25 мкг каждые 6 ч) менее эффективно по сравнению с более высокими дозами (25 мкг каждые 3 ч), но уровень гиперстимуляции матки при использовании первой схемы ниже [2].

Таким образом, мизопростол представляется весьма эффективным, недорогим и удобным в использовании препаратом для родовозбуждения и подготовки беременных к родам. В связи с экономическими и, возможно, клиническими преимуществами применения мизопростола возникает насущная потребность в проведении дальнейших исследований для определения его безопасности и эффективности различных доз на маточную активность в эксперименте и в клинике.

Однако до настоящего времени в литературе отсутствуют данные о влиянии различных доз простагландина E₁ на маточную активность, а также о применении его в сочетании с окситоцином и антигипоксантами и антиоксидантами (унитиол, мидронат) на сократительную активность матки в эксперименте.

Целью данного исследования было изучить влияние различных доз сайтотека (мизопростола) на сократительную активность матки беременных крыс (перед родами).

Материал и методика. Опыты проведены на 70 половозрелых беременных (20-21-й день) крыс линии "Вистар" массой 180-200г. Все животные получены из питомника "Ранпологи" РАМН и содержались в регламентированных условиях вивария ГУ НИИАГ им.Д.О.Оппа РАМН (СПб) на стандартном сбалансированном рационе при свободном доступе к пище и воде.

Крысы самки, прошедшие 10-14-дневный карантин, разделены на 7 рандомизированных групп:

1. Контрольная группа, получавшая физиологический раствор, 0,2 мл/на животное.
2. Сайтотек, 25 мкг/кг, внутривбрюшинно (в/б).
3. Сайтотек, 50 мкг/кг, в/б
4. Сайтотек 100 мкг/кг, в/б
5. Окситоцин, 0,5 МЕ/на животное, в/б
6. Сайтотек, 100 мкг/кг, в/б, через 20 мин окситоцин, 0,5 МЕ/животное, в/б
7. Унитиол, 250 мг/кг, в/б + мидронат 250 мг/кг, в/б, через 20 мин сайтотек 100 мкг/кг, в/б.

Каждая группа состояла из 9-10 крыс.

Ежедневно проводили цитологический анализ влагалищных мазков. День обнаружения сперматозоидов в мазке рассматривали как первый день беременности.

На 21-й день после покрытия животным подопытных групп вводили внутривбрюшинно испытуемые препараты - сайтотек, окситоцин, унитиол в сочетании с

милдронатом в дозах, адекватных клиническим и перерасчете на кг массы беременной женщины.

Сайтотек вводят в дозах 25, 50, 100мкг/кг; окситоцин - 0,5МЕ в 0,1мл на животное, унитюл - 250 мкг/кг, милдронат - 250 мг/кг.

О сократительной активности матки судили на основании регистрации биопотенциалов миометрия.

Регистрацию амплитуды и частоты биопотенциалов матки осуществляли с помощью 8-канального электроэнцефалографа фирмы "Galileo" в острых условиях опыты *in vivo* по методике, разработанной проф. Б.Б. Корховым.

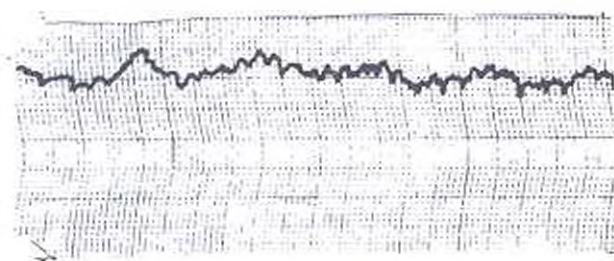
Результаты и обсуждение. Результаты исследования влияния испытуемых препаратов на биопотенциалы миометрия беременных крыс (перед родами) представлены в табл. 1 и на рис. 1.

Установлено, что сайтотек (мизопростол в дозах 25, 50, 100 мкг/кг) при внутривагинальном введении усиливает биоэлектрическую активность (как амплитуду, так и частоту) миометрия. Наиболее выраженный эффект наступает при введении сайтотека беременным крысам в дозе 100мкг/кг. Так, через 30 мин после применения препарата амплитуда возрастает на 70,2%, а частота на 66,1% по сравнению с исходным уровнем. Через 60 мин активность снижается и достигает исходных величин через 90 мин.

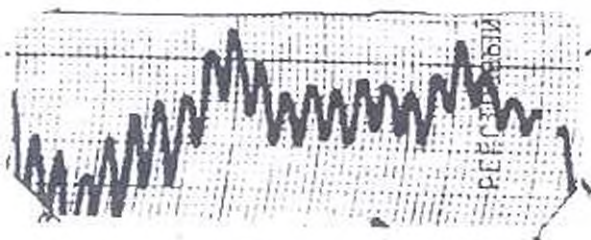
Введение окситоцина на пике активности сайтотека усиливает биоэлектрическую активность миометрия, которая на 60-й мин снижается, достигая исходных величин (амплитуды и частоты) на 90-й мин.

В опытах с введением только окситоцина (контроль) констатировали его утеротоническую активность.

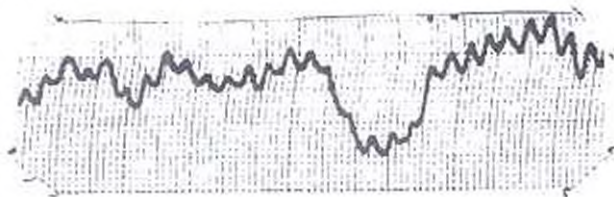
Введение антиоксидантов в сочетании с антигипоксантами - унитюла с милдронатом несколько увеличивает биоэлектрическую активность (амплитуда возрастает на 29,1%, частота на 31,8%) миометрия через 20 мин после применения препаратов. Последующее



1. Исходный уровень биоэлектрической активности



2. Введение сайтотека (100мкг/кг) и затем (через 20 мин) окситоцина (0,5МЕ).



3. Введение унитюла (250мкг/кг) милдроната и через 20 мин сайтотека (100мкг/кг)

Рис. 1. Влияние испытуемых препаратов на биоэлектрическую активность миометрия беременных крыс.

Таблица 1. Влияние испытуемых препаратов на сократительную активность беременных крыс (перед родами)

	Препарат, доза, способ введения	Биопотенциалы матки	Исходный уровень	Через, мин				
				10	20	30	60	90
1	Контроль (физиол. раствор)	I II	100 100	98.9±2.2 100.0±3.5	101.2±2.1 100.1±3.4	98.3±4.2 101.2±3.5	101.2±4.3 103.6±3.7	100.6±3.9 102.1 ± 4.6
2	Сайтотек, мкг/кг, в/б 25	I II	100 100	108.2±7.5 106.1±5.6	132.4±7.9 P<0.001 144.2±10.8 P<0.01	136.4±5.2 P<0.001 155.0±12.0 P<0.001	109.2±3.5 112.1±7.2	106.2±4.2 109.1±9.7
3	50	I II	100 100	102.0±7.4 101.0±8.9	136.6±7.6 P<0.001 161.5±9.7 P<0.01	152.4±16.1 P<0.001 17.6±14.4 P<0.001	108.1±3.6 111.1±7.4	100.2±7.6 105.6±8.1
4	100	I II	100 100	100.0±7.1 101.2±6.8	132.6±6.4 P<0.001 151.1±13.1 P<0.001	170.2±14.1 P<0.001 166.1±9.6 P<0.001	116.4±3.1 110.2±4.9	100.0±11.2 108.1±3.7
5	Окситоцин, 0,5 МЕ/жив, в/б	I II	100 100	118.4±4.5 P<0.01 121.6±8.2 P<0.01	164.2±10.4 P<0.001 120.6±8.9 P<0.01	166.9±7.8 P<0.001 129.1±8.1 P<0.01	110.3±3.6 P<0.01 118.8±3.7 P<0.01	100.2±7.8 100.0±8.2
6	Сайтотек, 100 мкг/кг, в/б, через 20 мин окситоцин, 0.5 МЕ/жив	I II	100 100	106.0±5.9 101.2±4.4	131.2±6.3 P<0.01 156.2±11.2 P<0.001	188.4±12.6 P<0.001 170.4±11.8 P<0.001	120.6±6.0 P<0.01 119.2±7.1 P<0.01	105.1±7.8 100.2±5.6
7	Унитиол 250 мкг/кг, в/б, через 20 мин сайтотек, 100 мкг/кг, в/б	I II	100 100	110.2±4.1 100.6±5.7	129.1±7.1 P<0.01 131.8±10.7 P<0.01	168.8±12.5 P<0.001 111.1±9.6 P<0.001	119.8±7.0 P<0.01 120.1±4.6 P<0.001	100.4±10.7 101.4±7.1

Примечание: I - амплитуда (%), II - частота (%) биопотенциалов миоэлектрик. * - введение окситоцина, ** - введение сайтотека, P - статистически значимые различия по сравнению с исходным уровнем (100%).

введение сайтотека (100 мкг/кг) на фоне унитиола и милдроната приводит к усилению (на 30-й мин) биоэлектрической активности миометрии - амплитуды на 68,8%, частоты - на 71,1% по сравнению с исходным уровнем.

Следовательно, предварительное комбинированное введение унитиола и милдроната, обладающей умеренной утеротонической активностью, способствует стимулирующему влиянию сайтотека в примененной дозе на контрактильную активность миометрии беременных крыс.

Таким образом: сайтотек в дозах 25, 50, 100 мкг/кг при внутрибрюшинном введении беременным крысам вызывает дозозависимое увеличение биоэлектрической активности (амплитуды и частоты) миометрии. Наибольшей активностью сайтотек обладает в дозе 100 мкг/кг. Через 60 мин после введения его активность снижается до исходных величин.

Введение окситоцина (0,5 МЕ/на животное) на фоне сайтотека несколько усиливает утеротонический эффект у беременных крыс. Через 90 мин уровни амплитуды и частоты биопотенциалов миометрии возвращаются к норме.

Предварительное применение унитиола и милдроната у беременных крыс с последующим введением сайтотека приводит к выраженному утеротоническому эффекту.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамченко В.В. Современные методы подготовки беременных к родам. Изд-во "Санкт-Петербург", 255с., 1991.
2. Энкин М., Кейрс М., Нейлсон Дж., Краутер К. и др. Руководство по эффективной помощи при беременности и рождении ребенка. Пер. с англ. под ред. А.В.Михайлова, Санкт-Петербург, Издательство "Петрополис", 480с., 2003.
3. Ramsey P.S., Ogburn P.L., Harris D.I. et al. Am. J. Obstet. Gynecol, 82/6, 1616-1619, 2000.

Поступила 02.11.2006

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 612.821.6

ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В ОТКРЫТОМ ПОЛЕ ПОСЛЕ РАЗРУШЕНИЯ КЛАУСТРУМА

Г.Т. САРКИСОВ, Ж.С. САРКИСЯН, И.Р. МАДАТОВА, Л.М. КАРАНЕТЯН,
Л.Г. КАЗАРЯН

Институт зоологии НАН Армении, 375014, Ереван

The behaviour of intact rats and animals with destruction of the claustrum in an open field was studied. The stress at intact rats on the one hand suppresses a research component of behaviour in an open field, on the other hand – strengthens the impellent activity connected to display of fear. It is supposed, that destruction of the claustrum at rats in some cases strengthens the specified effects caused by stress.

Открытое поле – клауструм – стресс

Вопрос о функциях ограды (клауструм) – глубинного образования мозга, относящегося к базальным ядрам, является наиболее противоречивым разделом ее физиологии [1, 4, 5]. Сравнительно небольшое число экспериментов на животных, а также наблюдения клиницистов за патологиями, обусловленными поражениями клауструма, затрагивают различные спорные вопросы участия ограды в организации двигательной деятельности, поведения, регуляции мотивационно-эмоциональных проявлений.

В настоящем сообщении представлены результаты изучения влияния разрушения клауструма на поведение крыс в «открытом поле» (ОП).

Как известно, тест ОП позволяет оценить целостную физиологическую реакцию животного на новую обстановку, включающую элементы двигательного исследовательского, эмоционального и стереотипного поведения [2]. Заметим, что двигательное поведение животного в ОП отражает конкуренцию двух мотиваций: стремление исследовать новизну (неофилия) и страха перед ней (неофобия, тревога).

Материал и методика. Опыты проводили на 30 белых беспородных крысах – самках, масса которых к началу опыта составляла в среднем 190-230 г. Тест ОП представляет из себя квадратный ящик 60 х 60 см с полом, разделенным на 16 квадратов. При исследовании животных помещали в какой-либо угол ящика и в течение 2-х мин регистрировали число пересеченных квадратов, число подъемов на задние лапы (вертикальная ориентация), число болюсов, время груминга. Использовали 2 режима тестирования поведения в ОП: стрессорный и бесстрессорный. При стрессорном режиме над открытым полем устанавливали 2 электрические лампы мощностью 150 Вт и одновременно с тестированием подавали звуковой сигнал (50 Дб). При бесстрессорном режиме эксперименты проводили в тишине при обычном дневном освещении.

Опыты проводили на интактных, ложно-оперированных крысах (контроль) и

животных с разрушенной оградой. Разрушение ограды производили электролитически по координатам атласа мозга крысы [3], билатерально, током силой 2 мА, экспозиции 30 с. При проведении ложной операции производили все манипуляции как при обычном попреждении, кроме пропуска тока через опущенный электрод. По окончании экспериментов мозг животных извлекали и фиксировали в 10%-ном растворе формалина для дальнейшего морфологического контроля.

Результаты и обсуждение. Первоначально проводили изучение поведения интактных крыс в ОП при бесстрессорной и стрессорной ситуациях (рис 1).

Выявлено, что в условиях стресса значительно возрастает двигательная и вертикальная активность в 1-й день тестирования. В то же время заметно подавляется вторая волна двигательной активности (3-4 день тестирования). Мы полагаем, что на начальном этапе тестирования в ОП двигательная активность мотивирована преимущественно страхом. Это подтверждается сравнительно высоким уровнем вегетативных реакций (дефекации), сопровождающих эмоцию страха в начале опыта. Вторая волна двигательной активности, очевидно, отражает исследовательское поведение животных. Как видно из рис. 1, стресс подавляет прежде всего именно исследовательскую составляющую поведения животных в ОП, в то же время страх проявляется более усиленной реакцией активного избегания.

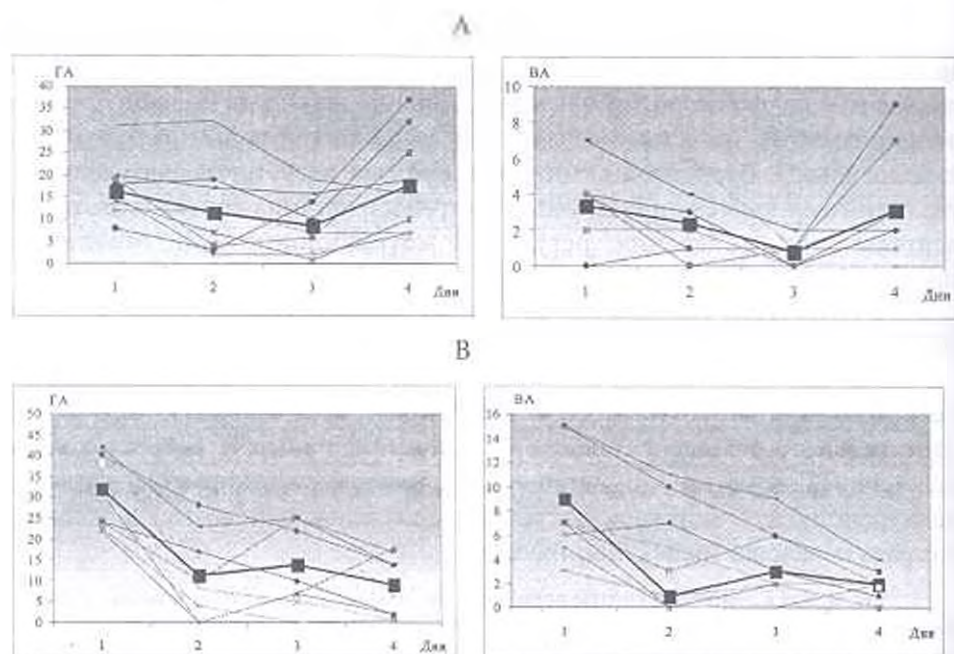


Рис. 1. Горизонтальная (ГА) и вертикальная (ВА) активность интактных крыс в открытом поле в бесстрессорной (А) и стрессорной (В) ситуациях.

На рисунке представлены соответствующие показатели отдельных животных, а усредненные данные показаны выделенными кривыми.

Проводили специальные тесты по оценке сохранения опыта адаптации в ОП в бесстрессовой и стрессовой ситуациях. Через 15 дней после первого

помещения в открытое поле в группе интактных животных повторное тестирование показало значительное снижение показателей адаптации (ГА, ВА). В условиях стресса аналогичное испытание не обнаружило изменения соответствующих показателей, т.е. можно допустить, что стресс препятствует процессу адаптации животных в ОП, наблюдаемому при повторном предъявлении ситуации.

В следующей серии опытов изучалось поведение крыс в ОП после двухстороннего разрушения ограда. Опыты показали, что у предварительно оперированных животных (10 крыс) в бесстрессовой ситуации (3-й день после операции) наблюдается примерно такая же картина динамики горизонтальной и вертикальной активности, как у контрольных животных в условиях стресса (рис. 1). В другой группе оперированных животных (10 крыс) стрессорная ситуация приводила к значительному усилению двигательной активности (горизонтальная и вертикальная ориентация) в среднем в 1,5 раза ($p < 0.05$) по сравнению с соответствующими показателями оперированных крыс в обычной ситуации. В то же время у этих животных примерно в 2 раза ($p < 0.05$) уменьшалось количество болюсов.

Что же касается способности сохранения опыта адаптации при повторном испытании в ОП, то у оперированных крыс в бесстрессорной ситуации наблюдается такая же картина, как у контрольных животных в аналогичных условиях тестирования, т.е. имеет место заметное снижение показателей адаптации (ГА, ВА).

Подобное испытание оперированных животных в условиях стресса так же, как и у контрольных крыс, не обнаружило изменения отмеченных показателей.

Таким образом, в условиях наших экспериментов - стресс у интактных крыс, с одной стороны, подавляет исследовательскую составляющую поведения в ОП, с другой - усиливает двигательную активность, связанную с проявлением страха. В то же время можно высказать предположение о том, что деструкция клауструма у крыс в ряде случаев усиливает отмеченные эффекты, вызванные стрессом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ваколюк Н.Н. Успехи физиологических наук. 10, 4. 116-135, 1979.
2. Маркель А.А. Журн. высш. нервн. деят., 31, 2. 301-307, 1981.
3. De-Groot J. The rat forebrain in stereotaxic coordinates. Amsterdam. 120 p., 1959.
4. Majak K., Pikkarainen M., Kemppainen S., Jolkkonen E., Pitkänen A. J. Comp. Neurol. 451, 236-249, 2002.
5. Juhn A. Epilepsia. 38, 8, 897 p., August 1997.

Поступила 29.IV.2005

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 591.1.05

АРГИНАЗА И РЕГУЛЯЦИЯ ЕЕ АКТИВНОСТИ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ *PARASALMO MIKISS*

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

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

The stabilization of arginase activity in different organs of speckled trout has been studied. Received data are the evidence of the fact that the highest activity of arginase is in liver, in comparison with other organs. The lower activity of arginase is found in hard-roe. Co^{2+} , Cd^{2+} and Fe^{2+} ions stimulate arginase activity in liver and repress its activity in heart. Two isoenzymes of arginase are found by the gel filtration of homogenates of liver and gills.

Аргиназа - регулирование аргиназы - форель

Активность аргиназы регулируется различными веществами, которые либо активируют, либо ингибируют ее. Большой интерес представляет ингибция аргиназы пролином. Выявлено, что у инфузорий, крыс, жуков фасоловой зерновки пролин является неконкурентным ингибитором для аргиназы [1].

Ионы Co^{2+} и Ni^{2+} активируют аргиназу быка и лошади, а свиньи, собаки, кролика и мыши ингибируют [6].

Аргиназа печени быка активируется ионами Cd^{2+} , которые не влияют на фермент, выделенный из печени лошади [4].

Изофермент аргиназы, связанный с плазматической мембраной гепатоцитов, в печени крысы активируется ионами Mn^{2+} , а ионы Cu^{2+} , Zn^{2+} и Mg^{2+} при всех испытанных концентрациях не влияют на фермент [3].

Хюс-Цитарел и Левиллайн [5] исследовали активность аргиназы в нефроне *Meriones shawi* и показали, что в проксимальных каналах коркового и мозгового слоев и собирательных грубочках существуют 2 изофермента: E1 и E2.

Настоящая работа посвящена изучению регулирования и изоферментного спектра аргиназы в различных органах радужной форели.

Материал и методика. Объектом исследований служили различные органы радужной форели (*Parasalmo mikiss*), масса рыбы 0,7-1 кг. Повторность исследований пятикратная. Аргиназную активность определяли методом Ратнера [7] с небольшими изменениями, мочевины - методом Арчибалда [2]. Гель-фильтрацию проводили на колонке с сефадексом G-150.

Результаты и обсуждение. Мы изучали активность аргиназы в различных органах радужной форели (табл. 1).

Таблица 1. Активность аргиназы в различных органах форели, мкмоль мочевины / г свежей ткани, $n=5$, $M \pm m$

Органы	Активность аргиназы
Печень	$738,82 \pm 45,9$
Почки	$51,36 \pm 3,19$
Сердце	$113,19 \pm 7,03$
Жабры	$155,01 \pm 9,63$
Икринки	$14,65 \pm 0,91$

Из данных таблицы видно, что активность аргиназы в большей степени проявляется в печени по сравнению с другими органами и примерно в 14 раз превосходит таковую в почках, а самая низкая активность - в икринках.

Было изучено также влияние некоторых ионов на активность аргиназы в различных органах радужной форели (табл. 2).

Таблица 2. Влияние некоторых ионов на активность аргиназы в различных органах форели, мкмоль мочевины / г свежей ткани, $n=5$, $M \pm m$

Органы	Ионы металлов	Активность аргиназы
Печень	Без эффектора	$781,2 \pm 48,52$
	Co^{2+}	$931,4 \pm 57,91$
	Cd^{2+}	$919,8 \pm 57,13$
	Fe^{3+}	$919,8 \pm 57,13$
Почки	Без эффектора	$62,8 \pm 3,9$
	Co^{2+}	$75,36 \pm 4,68$
	Cd^{2+}	-
	Fe^{3+}	$9,4 \pm 0,58$
Жабры	Без эффектора	$119,32 \pm 7,36$
	Co^{2+}	$169,56 \pm 10,46$
	Cd^{2+}	$200,96 \pm 12,39$
	Fe^{3+}	$138,16 \pm 8,52$
Сердце	Без эффектора	$100,48 \pm 6,19$
	Co^{2+}	$94,20 \pm 5,81$
	Cd^{2+}	$31,4 \pm 1,94$
	Fe^{3+}	$94,2 \pm 5,82$

Согласно данным таблицы, в печени и жабрах ионы Co^{2+} , Cd^{2+} и Fe^{3+} повышают активность аргиназы, а в почках ионы Cd^{2+} полностью подавляют активность аргиназы. Также видно, что в сердце все ионы в какой-то степени подавляют активность аргиназы, в большей степени она подавляется ионами Cd^{2+} , почти в 3 раза.

Путем гель-фильтрации гомогенатов печени и жабр форели было обнаружено по два изоэнзима аргиназы. Полученные данные приведены на рис. 1 и 2, из которых видно, что и в печени, и в жабрах активность II изоэнзима значительно уступает таковой I изоэнзима.

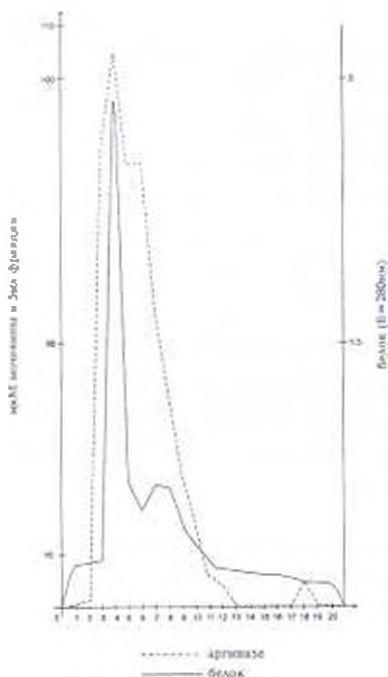


Рис. 1. Изоэнзимы аргиназы печени радужной форели.

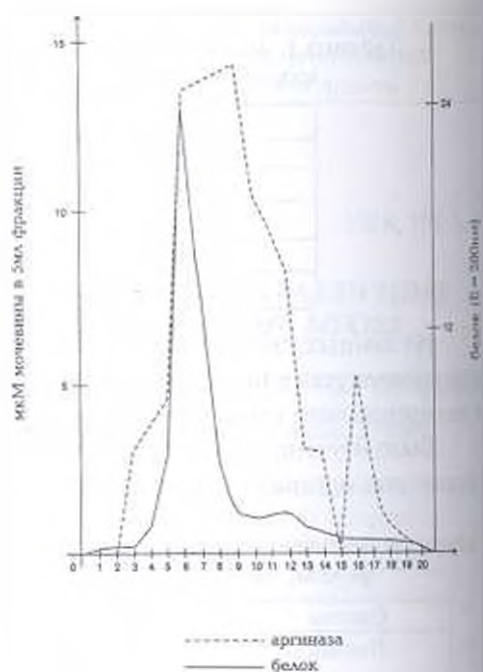


Рис. 2. Изоэнзимы аргиназы жабер радужной форели.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х. Док. дисс., Ереван, 1990.
2. Archibald R.M. J. Biol. Chem., 156.121-142, 1944.
3. Fuentes J.M., Campo M.L., Soler G. Arch. Int. Physiol. Biochem. Biophys. Sep.-Oct., 102(5), 255-258, 1994.
4. Greenberg D.M., Bagot A.E., Roholi A.O. Arch. Biochem. Biophys., 62, 453, 1965.
5. Hus Citharel A., Levillain O. Pflugers Arch. 437(3), 423-431, 1999.
6. Hirsh-Kolb H., Hein J.P., Kolb H.J., Greenberg D.M. Comp. Biochem. Physiol. 37, 345-359, 1970.
7. Rather S., Pappas A. J. Biol. Chem., 119, 1183-1198, 1949.

Поступила 14.II.2000

Биол. журн. Армении. 1-2 (58). 2006

УДК 619:616.98:579.852.13

ԽՇԽՇԱՆ ՊՍԼՍՐԻ ԿՍՆԽԱՐԳԵԼՍԱՆ ՆՈՐ ԿԵՆՍԱՊԱՏՐԱՍՏՈՒԿ

Տ.Տ. ԱՆՈՅԱՆ, Ա.Լ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Ս.Յ. ԴՈՎՅԱՆՆԻՍՅԱՆ

Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան, համաճարակաբանության և
մակարոծաբանության ամբիոն, 375009, Երևան

A new emulsified vaccine with the purpose of preventing of the emphysematous carbuncle under experimental conditions has been obtained. As an adjuvant slight mineral oil and lanolin has been used. The biopreparation was not exfoliated and formatted into separate components, when being kept for a long time.

Համաճարակային օջախ - կենսապատրաստուկ - հակածին - իմունիտետ

Խշխշան պալարն առանձնացվում է ոչ միայն որպես հողային ինֆեկցիա և
ստացիոնար համաճարակային օջախներ ձևավորելու յուրահատկությամբ, այլև
դրանք էական նախապայման են համարվում տարվա որոշակի սեզոններում
ընկալունակ կենդանիների մոտ ստեղծել կայուն վարակամեթոմ:

Համաճարակաբանական հետազոտության արդյունքները վկայում են, որ
չնայած ինֆեկցիան արժանագրվում է հատուկներտ դեպքերում, այնուամենայնիվ
նախապայման է մշտական, կայուն օջախների առաջացման և տևական ժամանակ
պահպանման համար: Եթե հաշվի չառնենք, որ բնական պայմաններում
հիվանդության հարուցիչը հողի մեջ բարենպաստ պայմանների առկայության
դեպքում կարող է ենթարկվել վեգետացիայի, ուրեմն հողին հիմնական
նատակարարողը համարվում է հիվանդ կենդանին և այդ վարակից սատկած
կենդանիների դիակները:

Կայուն համաճարակային օջախների առաջացմանը նպաստում է նաև
հիվանդ կենդանիների բուժման արդյունավետ միջոցների բացակայությունը:
Ձեռնաբար, խշխշան պալարի կանխարգելման և պայքարի միակ եղանակը
ընկալունակ կենդանիների պատվաստումն է, որի դեպքում պետք է հաշվի առնել
հիվանդության հարուցիչի կենսաբանական առանձնահատկությունները,
կենդանիների հասակը, աշխարհագրական համաճարակաբանությունը,
արոտային պահվածքի, ինչպես նաև հետապատվաստային վարակամեթոման
ստեղծությունները:

Հիվանդության առանձնահատուկ կանխարգելումն այժմ իրականացվում
է խտացված հիդրօբսիդալյումինային ֆորմով պատվաստամյութով, որն ի դեպ,
գուրկ է թերություններից: Խնդիրն այն է, որ արտերկրից ներկրվող
կենսապատրաստուկի ստացումը կապված է մեծ ծախսերի հետ: Բավական է
նշել, որ հակածին բավարար խտություն ապահովելու նպատակով հեռացվում է
նրա վերնստվածքային հեղուկի 2/3-ը, այսինքն այժմյան պայմաններում

խոտանվում է լյարդաարգանակային միջավայրի բաղադրամասերի, մասնավորապես տավարի մսի շուրջ 67% -ը: Ինչ վերաբերվում է հակածնի կլանիչ համարվող ալյումինի հիդրօքսիդին, ապա նրա ձեռք բերումը պահանջում է մեծ ծախսեր: Բացի նշվածից, մեր կարծիքով, կապված աշխարհագրական համաճարակաբանության հետ, նպատակահարմար է պատվաստանյութերը պատրաստել մշտական կայունության համաճարակային օջախներից անջատված մանրէներից: Անշուշտ, վերջինս, պայմանավորված համաճարակային և վակցինային հակածիմների համաձայնությամբ, դրական ազդեցություն կունենա տևական և լարված իմունիտետի ձևավորման գործում:

Հաշվի առնելով վերը նշվածը մեր առջև խնդիր է դրվել Հայաստանի Հանրապետության տարածքից անջատված խշխշան պալարի հարուցիչի Հ-98 շտամից ստանալ բարձր իմունածին հատկությամբ օժտված էմուլսացված կենսապատրաստուկ:

Լյուր և մեթոդ: Էմուլսացված ֆորմուլ վակցինա ստանալու նպատակով որպես աղյուսակ օգտագործվել 1 քեթև հանքային յուղի և անջուր լանոլինի խառնուրդը, ընդ որում կլանիչ բաղադրության 83 %-ը կազմել է քեթև, հանքային յուղը և 17% -ը անջուր լանոլինը:

Վակցինայի պատրաստման համար օգտագործվել է տեղական Հ-98 շտամը: Հարուցիչ անջատվել է Կիտտ-Տարոցցի լյարդաարգանակային միջավայրում:

Խշխշան պալարից սատկած 3 տարեկան խոշոր եղջերավոր կենդանու չորացված մկանների կտորներից ֆիզիոլոգիական լուծույթում պատրաստվել է 1:4 կախուկ: Կողմնակի մանրէների հնարավոր աճը կասեցնելու նպատակով վերջինս ջրային բաղնիքում պահվել է 2 րոպե տևողությամբ 80° ջերմաստիճանի պայմաններում:

Հաշվի առնելով *Clostridium chauvoei*-ի արագ սպորացոյացումը 24 ժամյա աճեցվածք վեգետատիվ ձևի ակտիվացրկման համար օգտագործել ենք 0.7% ֆորմալին 0.28% ֆորմալինից պարունակությամբ և լավ խառնել բափահարելու միջոցով: Այնուհետև մանրէախնայազանացվածով միջավայրը, պարբերաբար խառնելով, 38° պայմաններում պահել ենք 3 օր: Մանրէների աճեցվածքային և ձևաբանական տիպիկությունը ինչպես նաև աերոբ և անաերոբ սննդարար միջավայրում ստերիլությունը որոշելուց հետո բացահայտել ենք նաև անվտանգության ձուլախոգուկների վրա Ակտիվացրկված կենսազանգվածի քի-ը սահմանվել է 7.4:

Ստերիլ անվտանգ ինակտիվացված բակտերիալ կախուկը օգտագործել ենք էմուլսացված վակցինայի պատրաստման համար: Ախժամանակ վերցրել ենք համապատասխան քանակով (83%) քեթև հանքային յուղ և անջուր լանոլին (17%), մեխանիկական խառնիչով խառնել ենք այնքան ժամանակ, մինչև համասեռ զանգված դառնալը:

Հակածնի կլանիչով էմուլսացված վակցինայի ստացման համար օգտագործել ենք ակտիվացրկված մանրէական կախուկ և յուղալանոլինային խառնուրդ այն հաշվով, որ նրանց ծավալները կազմեն համապատասխանաբար 52% և 48%: Նշված բաղադրամասերը խառնել ենք մազնիսական խառնիչով այնքան ժամանակ, որ ստացվի անհետադարձ համասեռ զանգված:

Արդյունքները և քննարկում: Կենսապատրաստուկներին ներկայացվող պահանջների բավարարման նպատակով, որը սահմանված է ամասնաբուժական օրենսդրությամբ, ստացված կենսապատրաստուկի ստուգումը կատարվել է ըստ ստերիլության (անվտանգության) և իմունածին ակտիվության:

Ստերիլությունը ստուգելու համար նրանից ցանքս ենք կատարել Կիտտ-Տարոցցի լյարդաարգանակային միջավայրում, մասպեպտոնային արգանակում, հոտոտինգերի ազարի վրա: Առաջնային ցանքսերը պահել ենք 37° ջերմաստիճանային պայմաններում 10 օր տևողությամբ: Նախնական ցանքսերում 5 օր հետո չի դիտվել մանրէական աճեցվածք, այնուհետև նույնանման սննդային միջավայրերում կատարել ենք փոխացանքսեր և նույն ջերմային պայմաններում պահել ենք ևս 5 օր:

Մանրէաբանական հետազոտության արդյունքներով չի արձանագրվել

մերեւելան ած, որը վկայում է սննդամիջավայրերի ստերիլության մասին Կակցինայի կայունությունը և ռեվերսիայի ենթարկվելու հատկությունը որոշելու համար տակվ կենսապատրաստուկը 14 օր տևողությամբ պահել ենք թերմոստատում 37° ջերմաստիճանային պայմաններում: Այդ ժամանակահատվածում չի դիտվել Կակցինայի բաղադրամասերի շերտավորում հանքային յուղի, լանոլինի և հեղուկ զանգվածի: Համասեռ զանգվածը պահպանելով իր հավաքությունը, մնացել է միփոփոխ, բացի չնչին քանակության (սրվակի 1 սմ մակարդակով) դեղնավուն շերտավածքային հեղուկի առկայության:

Ներկայումս տարվում են վակցինայի անվտանգության և իմունածին հատկության ստուգման հետ կապված աշխատանքներ, որից հետո կկատարվեն նոր էմուլսացված և ՈՂ-ից ներմուծվող վակցինաների իմունաբանական և օրտեսական արդյունավետության հետ կապված համեմատական աշխատանքներ:

Այսպիսով, ընդհանրացնելով հետազոտության արդյունքները, անհրաժեշտ ենք համարում նշել, որ խշխշան պալարի հարուցիչի մաքուր աճեցվածքի տաքման համար արդյունավետ է համարվում ֆիզիկական եղանակի օգտագործումը:

Հանքային յուղի, լանոլինի և մանրեական կենսազանգվածի համակցումը և հակածնի կլանումը իրականացվում է բաղադրամասերը երկարատև խառնելու միջոցով: Ստացված համասեռ զանգվածը կայուն է, չի ենթարկվում շերտավորման և ռեվերսիայի:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Գրիգորյան Ս.Լ. Գյուղատնտեսական կենդանիների համաճարակաբանություն և ինֆեկցիոն հիվանդություններ, 324-331, Երևան, 2002.
2. Биологические и химиотерапевтические ветеринарные препараты, 195-203, М., 1963.
3. Ветеринарные препараты, справочник, 240-244, 274-278, М., 1981.
4. Урзев К.Р., Атаев У.И. Ветеринария, 4, 48-51, 1977.

Поступила 05.XII.2005

Биол. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 574.5+582.232/275/479.25

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИТОПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА ЕРЕВАНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА В ПЕРИОД «ЦВЕТЕНИЯ» 2003 И 2005 гг.

Л.Г. СТЕПАНЯН, Л.Р. ГАМБАРЯН, Р.О. ОГАНЕСЯН, А.Л. МИКАЕЛЯН

Институт гидроэкологии и ихтиологии, НАН РА, 375019, Ереван

The results of study of phytoplankton community of Yerevan reservoir during period of "blooming" in 2003 and 2005 have been summarized. The specific structure, quantity and biomass of algae have been investigated

Фитопланктонное сообщество - зеленые водоросли - цветение

Ереванское водохранилище было создано в 1963-66 гг. в устье р. Раздан в юго-западной части Еревана. Площадь водохранилища составляет 650 тыс.м², средняя глубина - 8 м, максимальная - 18 м, объем воды в среднем - 5 млн м³. Ереванское водохранилище имеет большое значение для формирования ландшафта города и микроклимата окружающей среды [1].

Несмотря на то что фитопланктон в разной степени реагирует на изменение экологического состояния водоема, состав водорослей в целом может быть использован для биоиндикации и оценки качества воды водохранилища. В работе обобщается состояние летнего фитопланктона Ереванского водохранилища, его видовой состав и количественные характеристики.

Материал и методика. Наблюдения проводили в летний период в 2003 и 2005 гг. Исследовали одну точку в Ереванском водохранилище, которая входит в сеть мониторинговых исследований ереванской части р. Раздан.

Изучали количественный и качественный состав фитопланктонного сообщества. Особое внимание уделяли видам, вызывающим цветение водоема. Консервирование и обработку проб проводили в соответствии с общепринятыми современными гидробиологическими методами [4]. Определение видовой принадлежности водорослей проводили с помощью определителей [2, 3, 6, 7]. Биомассу определяли счетно-объемным методом.

Результаты и обсуждение. Основу альгофлоры Ереванского водохранилища в летний период 2003 и 2005 гг. (84% и 81% общего состава водорослей по численности) составляли зеленые водоросли (рис.1). Максимальное число видовых и внутривидовых таксонов отмечено в порядке *Chlorococcales*.

Родовой спектр флоры зеленых водорослей представлен главным образом родами *Coelastrum* (2003 г. и 2005 г.) и *Scenedesmus* (2005 г.).



Рис. 1. Процентные соотношения средних показателей численности фитопланктона в летний период 2003 и 2005 гг.

В июне исследуемого периода наблюдалось обильное «цветение» воды зелеными водорослями.

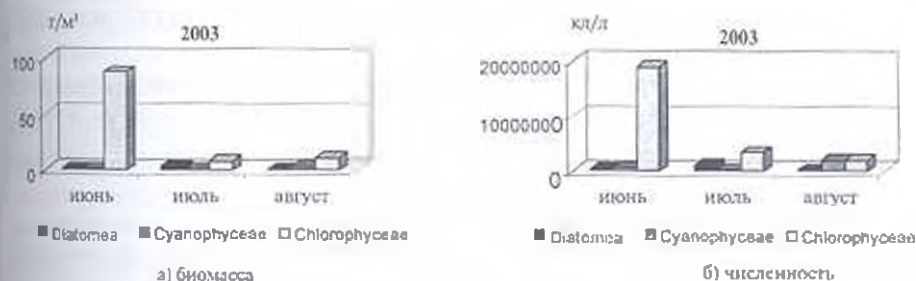


Рис. 2. Динамика средних показателей фитопланктона в летний период 2003 г.

В 2003 г. наибольшее развитие наблюдалось у водорослей, принадлежащих видам *Coelastrum microporum* и *C. sphaericum*, численность которых составила 18 млн. кл/л, а биомасса равнялась 85 г/м³.

В июле численность водорослей снизилась с 20 млн. кл/л до 4.9 млн. кл/л, биомасса с 90,5 г/м³ до 12,7 г/м³. Состав доминантов остался таким же, как и в июне, при этом заметного развития достигли *Binuclearia lauterhornii*, диатомовые *Stephanodiscus astraea* и *Melosira gran*.

С июля по август произошла сукцессия видов. В данный период наблюдалось цветение воды сине-зелеными водорослями, которое было вызвано представителями родов *Aphanizomenon* и *Anabaena*. Значительно уменьшилась численность зеленых водорослей (с 3,4 млн кл/л до 2 млн кл/л), но поскольку преобладали крупные колониальные виды *Coelastrum microporum* и *C. sphaericum*, то по биомассе их доминирование в планктоне сохранилось.

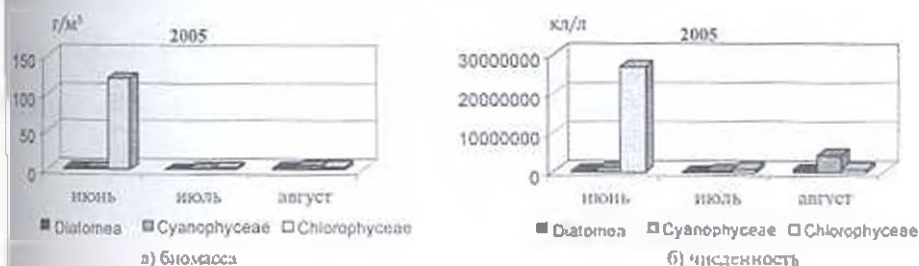


Рис. 3. Динамика средних показателей фитопланктона в летний период 2005 г.

В июне 2005 г. обильное «цветение» воды было обусловлено следующими видами водорослей: *Scenedesmus quadricauda* (18 млн кл/л и 81 г/м³) и *Coelastrum westella botrioedes* (5.6 млн кл/л и 26 г/м³).

В конце июля 2005 г., как и в 2003 г., наблюдалось снижение численности и биомассы фитопланктона соответственно с 28 млн. кл/л до 1 млн. кл/л и 123 г/м³ до 2,8 г/м³. Зеленые водоросли сохраняли свое доминирующее положение, однако в данный период наблюдалась пететация видов синие-зеленых водорослей *Microcystis wesenbergii* и *Aphanizomenon stagnina*, которые по численности достигали 300 тыс. кл/л, а по биомассе – 0,68 г/м³.

В августе общая численность фитопланктонных водорослей достигла 5,7 млн. кл/л, биомасса – 7 г/м³ за счет развития синие-зеленых, составивших 74% от общей численности сообщества. Наблюдаемое увеличение произошло за счет видов *Aphanizomenon flos-aquae* и *Anabaena flos-aquae* (3.9 млн кл/л и 4,5 г/м³ соответственно).

Фитопланктон Ереванского водохранилища в летний период формируют преимущественно зеленые, синие-зеленые и диатомовые водоросли. Роль диатомовых водорослей в летнем фитопланктоне незначительна, эти виды не входят в состав доминирующего комплекса.

Зеленые водоросли преобладают в фитопланктоне в июне, вызывая цветение водоема. Ведущими формами являются водоросли, принадлежащие родам *Coelastrum* (2003г. и 2005г.) и *Scenedesmus* (2005 г.).

С июня по июль 2003 и 2005 гг. наблюдалось существенное уменьшение биомассы и численности фитопланктона. Доминировали зеленые водоросли.

В конце лета произошла сукцессия видов. Основными доминантами фитопланктонного сообщества в августе являются представители видов *Aphanizomenon* и *Anabaena*.

Согласно эколого-санитарной оценке качества воды по Романенко [5], вода Ереванского водохранилища по биомассе фитопланктона в летний период 2003 и 2005 гг. колеблется между классами загрязненный и грязный.

ЛИТЕРАТУРА

- Հայկական սովետական հանրագիտարան. Երևան, 3. Էջ 582, 1977.
- Гуревич А.А. Водоросли пресных вод. Ереван, 1973.
- Киселев И.А., Зипова А.Д., Курсанов Л.И. Определитель низших растений. Водоросли, 2. М., 1953.
- Методические указания по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах, 32. Л., 1981.
- Романенко В.Д., Оксикюк О.П. и др. Экологическая оценка воздействия гидротехнического строительства на водные объекты, Киев, 1990.
- Belcher H., Swale E. Freshwater Algae. Institute of Terrestrial Ecology Natural Environment Research Council, 1978
- Strehle H., Krauter D. Das Leben im Wassertropfen, Kosmos, 2002.

Поступила 08.11.2006

Լրատի • Хроника • Chronics

Биол. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

**ПЛЕЯДА ВЫДАЮЩИХСЯ УЧЕНЫХ, ОСНОВОПОЛОЖНИКОВ
ОБЩЕЙ И ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ В АРМЕНИИ**

В этом году исполняется столетие со дня рождения выдающихся микробиологов Армении члена-корреспондента АН Армении, профессора Арутюна Карпетовича Паносяна и блистательной супружеской четы - профессором, доктором биол. наук Левона Акоповича Ерзинкяна и Фараидзем Георгиевны Саруханиян, с именами которых связано становление и развитие в нашей Республике общей, сельскохозяйственной и технической микробиологии. Оценка их вклада в развитие науки и промышленности Армении требует краткого изложения основных вех развития микробиологии в нашей Республике.

Микробиология в Армении стала развиваться в 20-ые годы прошлого века, причем ее развитие было вызвано острыми нуждами борьбы с инфекционными болезнями. В стране свирепствовал голод, а инфекционные болезни довели народ до грани физического исчезновения. Особенно свирепствовала малярия, которая составляла в 1921г. около 50% от всех инфекций, а смертность от них превышала рождаемость. В 1923г. в Ереване была создана первая и-и организация - Тропический Институт, а в результате широких санитарно-эпидемиологических мероприятий и самоотверженного труда многих специалистов малярия, другие опасные инфекционные и паразитарные болезни в Армении были практически ликвидированы. Развитие микробиологии, равно как эпидемиологии и паразитологии в Армении, тесно связано с именами крупных ученых, приглашенных в Республику и внесших большой вклад в создание очагов микробиологической науки и подготовку кадров в этой области.



Рис. 1. Группа сотрудников Сектора микробиологии АН Арм. ССР с академиком Н.Г. Хачатряном в 1943 г.
Сидят (слева-направо) — Ф.Г. Саруханиян, А.Н. Исаакян, Н.Г. Хачатрян, Р.О. Мирзакбян;
стоят: Р.С. Каримян, С.А. Алахян, А.К. Паносян, А. Саруханиян, Н.А. Карапетян, Р.М. Гальчан

Становление в Армении сельскохозяйственной микробиологии связано с именем проф. П. Б. Калантаряна, который в 1922г. организовал микробиологическую группу в Центральной химической лаборатории Наркомзема. Его учениками явились А. К. Папоян — руководитель Сектора микробиологии и первый директор Института микробиологии АН Армении, А. П. Петросян, А. В. Киракосян и многие наши видные микробиологи. Развитие в Республике технической микробиологии определялось спецификой традиционных производств Армении, прежде всего виноделия, сыроделия и выработкой кисломолочных продуктов. Успехи в этой области связаны с именами крупных ученых — основоположника русского виноделия Н. Н. Простосердова и выдающегося ученого по молочному делу Ав. А. Калантаряна, много лет работавших в Армении и воспитавших большую школу специалистов.

Вопросы развития микробиологической науки и промышленности неизменно находились в центре внимания руководства Республики, что находило отражение в директивных постановлениях. В этом отношении крупной вехой в развитии микробиологической науки и промышленности в нашей Республике явилось Постановление 1964 года «О мерах по развитию научно-исследовательских работ в области технической биохимии и микробиологического синтеза кормовых, пищевых и других биологически активных продуктов и организации их промышленного производства в Армянской ССР». Это Постановление стало основой осуществления конкретной и развернутой системы мероприятий по созданию в Армении необходимой материально-технической базы для развития наиболее перспективных отраслей микробиологической науки и промышленности. В районе г. Абовяна с 1966г. было развернуто строительство крупного комплекса научно-производственных зданий Института микробиологии АН Арм. ССР. В это же время началось строительство завода лизина в Чаренцаване, завода биохимических препаратов и дрожжевого завода в Абовяне. Следует подчеркнуть, что большой комплекс научно-исследовательских, проектно-технологических и строительно-монтажных разработок по созданию этих производств был выполнен в основном местными кадрами — специалистами Армении. В 1970г. в Республике был организован филиал Всесоюзного н-и института генетики и селекции промышленных микроорганизмов Главмикробиопрома СССР, развернувший комплекс научно-производственных работ по генетике и селекции микроорганизмов для микробиологического получения аминокислот. На базе указанного филиала в Ереване был создан н-и технологический институт аминокислот Главмикробиопрома СССР, преобразованный в последующем в ЗАО Институт биотехнологии.

Основной научной базой для развития общей и прикладной микробиологии явился Институт микробиологии АН Арм. ССР, созданный в 1961г. на базе одноименного Сектора. Становление и развитие Сектора, а в дальнейшем Института микробиологии, а также других организаций микробиологического профиля в Армении многим обязано активной помощи центральных научно-исследовательских учреждений и ведущих ученых Союза — Б. Л. Исаченко, А. А. Имшенецкого, Н. А. Красилюнкова, Е. Н. Мишустина, Г. К. Скрыбина, М. Х. Чайлахяна, С. И. Алиханяна.

Арупон Каранетонич Папоян родился 14 августа 1906г. в с. Чифлик Связского вилайета Турции. Он испытал тяжелые годы потери родителей, близких родственников и страшные события геноцида 1915 года. Сиротой проводит детство и юношеские годы в Эчмиадзинском и Ленинаканском приютах. В 1924г. А. К. окончил Индустриальный техникум и поступил на Сельскохозяйственный факультет Ереванского государственного Университета, окончив его в 1928г. Тяга к науке и микробиологии проявилась у него рано, особенно в студенческие годы, когда он выполнил ряд научных исследований в области почвенной микробиологии под руководством проф. П. Б. Калантаряна. В 1936г. А. К. успешно защищает кандидатскую диссертацию в Институте с/х микробиологии в Ленинграде, посвященную микробиологическим процессам окисления серы и сернистого

включена в солончаках Армении. В последующие годы он успешно развил и расширил свои работы в этой области, успешно защитив в 1945г. диссертацию на степень доктора биологических наук. Существенно дополнения, она была издана в 1948г. отдельной монографией, являющейся фундаментальным трудом по микробиологической характеристике солончаков и перспектив их освоения. В 1947г. А.Паносян было присвоено звание профессора, в 1956г. он был избран членом-корреспондентом Академии наук, а в 1966г. удостоен почетного звания Заслуженного деятеля науки Республики.

А.К.Паносян — автор более 200 научных работ и 10 книг по вопросам общей и сельскохозяйственной микробиологии. Под его руководством выполнено 20 кандидатских и 4 докторских диссертаций. А.К. пользовался заслуженным уважением в Союзе и активно работал в составе ряда Научных советов и редколлегий. Скончался 13 апреля 1973г. в Ереване.



Рис. 2. А.К.Паносян с сотрудниками Института микробиологии в 1969г. Стоят (слева направо): П.Серебин, М.Падеткян, Э.Африкян, А.Кирикосян, В.Никогоси. Сидят: Р.Ахшиян, В.Тумян, А.Паносян, Р.Каримян, О.Карапетян.

Неоспоримой заслугой А.К.Паносяна являлась его успешная организационная деятельность. Его трудами в 1943г. в системе Академии наук Республики был создан Сектор микробиологии как самостоятельное подразделение Академии. Именно его усилиям обязана организация на базе этого Сектора Института микробиологии, который им был возглавлен. А.К., правильно оценив имевшийся тогда кадровый потенциал и нужды Республики, организовал в составе этих учреждений группы сотрудников по актуальным направлениям микробиологии, а именно, - почвенной микробиологии (А.П.Петросян, А.В.Кирикосян, Н.А.Карапетян), технической микробиологии (Ф.Г.Саруханян, Л.А.Ерзинкян), изучению фитопатогенных микроорганизмов (Р.М.Галачьян, С.А.Авакян). В дальнейшем были созданы и развиты новые направления по общей, сельскохозяйственной микробиологии, изучению и применению микробов-антагонистов и антибиотиков, литотрофных бактерий (А.Д.Назбандян, М.Н.Малатян, Р.О.Мирзабекян, З.В.Маршавина, Г.Е.Маркосян и др.).

Заслугой А.К.Паносяна, несомненно, явилось создание и развитие у нас экологического направления в микробиологии. Известно, что резкие контрасты эколого-географических и почвенно-климатических условий Кавказа, в частности

Армении, явилась благодатной основой фундаментальных работ в области выявления закономерностей распространения в природе растительных и животных формаций. Именно на своих наблюдениях на Кавказе В.В.Докучаевым было сформулировано и обосновано учение о зонах природы, горизонтальной и вертикальной зональности почв. А.К.Паносяном и Секторе, а в дальнейшем в Институте был организован широкий комплекс экологических исследований и изучения специфики микрофлоры и микробиологических процессов разных типов почв Армении. Характеристика микрофлоры и динамики биологических процессов почв, ризосферы и их взаимодействие исследовались на фоне специфики растительного покрова и на фоне различной агротехники. Успехи в этой области, достигнутые в Армении, в значительной мере определялись тесным сотрудничеством с ведущими микробиологами Союза, как-то: Е.Н.Мишустиным, Н.А.Красильниковым, В.И.Кудрявцевым и другими специалистами, которых А.К.Паносян активно привлекал к сотрудничеству. В результате этих работ в Армении был решен ряд основополагающих проблем по экологии различных групп микроорганизмов, выделены и описаны их новые виды и роды, а также установлена специфика многих микробиологических процессов разных типов почв. Нельзя не отметить, что положение Е.Н.Мишустина о вертикальной зональности почвенной микрофлоры, отражающей широтную зональность и подтверждающей учение В.Докучаева о зонах природы, было развито на основе выполненных им работ в Армении, в частности микробиологических исследований образцов почв склона г.Арагац. Работы в этой области, также проведенные в Армении, привели к обоснованию идеи о показательных свойствах спорообразующих бактерий для характеристики процессов минерализации органического вещества почвы и в целом, об индикаторных свойствах отдельных групп микроорганизмов почв. Надо отметить, что развитие этого направления нашло отражение в успешных многолетних исследованиях в Армении по экологической систематике молочнокислых бактерий (С.Ш.Тер-Казарян).

Следует отдать должное А.Паносяну: экологическая направленность микробиологических исследований им постоянно реализовывалась во всех работах руководимых им Сектора, а в дальнейшем и Института микробиологии. Они увенчались у нас получением принципиально важных данных о биологии азотфиксирующих (азотобактер, клубеньковые бактерии), молочнокислых, фитопатогенных, литотрофных, спорообразующих и других групп микроорганизмов.

А.К. в течение многих лет изучал солончаки Армении и его монография о микрофлоре и микробиологических процессах этих почв является фундаментальным трудом для разработки рациональной системы их с/х освоения. Под его руководством у нас были развернуты (А.И.Минасяном) микробиологические исследования обожженных почвогрунтов оз.Сепан, имеющие важное значение для их освоения. А.К. проявлял постоянный интерес к использованию бактериальных земледобрытельных препаратов на основе азотфиксирующих микроорганизмов. Следует отметить, что наша Республика была одной из первых в СССР по изготовлению и применению нитрагина и азотобактерина. До войны при Минсельхозе был создан завод бактериальных удобрений, на базе которого были внедрены в производство изготовление сухого илеводного порошководного азотгена и торфяного препарата нитрагина. Особо следует отметить работы по изысканию и использованию новых эффективных штаммов клубеньковых бактерий (А.П.Петросян, А.Д.Налбандян, А.В.Киракосян), некоторые из которых были внедрены в широкомасштабное производство нитрагина в бывшем Союзе.

А.К. вложил много труда в подготовку кадров в различных отраслях микробиологии и вел активную педагогическую деятельность. Он руководил кафедрой Сельскохозяйственного института и читал курсы микробиологии в Университете и других ВУЗ-ах. Его перу принадлежат многочисленные пособия и книги по различным вопросам микробиологии на армянском языке.

Ф.Г.Сарухян родился в 1906г. в г.Гаваре (Нор-Баязет), в семье учителя.

Окончив в 1924г. сельскохозяйственный факультет Азербайджанского Политехнического Института в Баку, она поступила в 1930г. в аспирантуру Всесоюзного института животноводства ВАСХНИЛ, после окончания которой с 1933г. начала работать в Армянском филиале Всесоюзного н-и молочной промышленности в Ереване, а с 1939г. — в Институте биологии Арм. филиала АН СССР, где с 1941г. была назначена зав. Сектором микробиологии, а с 1944г. — ученым секретарем. Со дня организации в 1947г. Института микробиологии АН Арм.ССР до своей кончины (1 декабря 1988г.) Ф. Сарухян работала ст. науч. сотрудником этого Института. Защитила диссертацию на степень кандидата биологических наук в 1941г., а в 1961г. — доктор биологических наук. В 1967г. ей было присуждено почётное звание Заслуженного деятеля науки Республики.

Научная деятельность Ф.Г. охватывала многие проблемы изучения брожденных микроорганизмов и их использования в консервной, хлебопекарной, ликёро-винной, винодельческой и молочной промышленности. Ей принадлежат около 150 опубликованных научных работ и фундаментальная монография о микрофлоре брожденных производств Армении. Она была признанным крупным специалистом по изучению дрожжей и тесно участвовала свои работы с запросами промышленности.

Л.А. Ерзинкян родилась в 1906г. в Тбилиси, окончив там в 1924г. Промышленно-экономический техникум. В 1930г. окончила сельскохозяйственный факультет Ереванского государственного университета, где в годы учебы работал на кафедрах по молочному делу, агрохимии и с/х микробиологии. Был командирован в Вологодский молочный институт, где работал у известных специалистов — профессоров С.А.Королева и Г.С.Ивникова. В 1931-33гг. был аспирантом Всесоюзного н-и животноводства



Рис. 2. Левон Ахолович Ерзинкян и Фараня Георгиевна Сарухян

и после защиты диссертации был направлен на работу в Армянский филиал Всесоюзного н-и молочной промышленности. В годы Великой Отечественной войны работал на руководящей работе в директивных органах, с 1944г. в должности заведующей Сектора, а в последующем Института микробиологии Академии наук Республики. В 1945г. защитила диссертацию на ученую степень кандидата, в 1947г. — доктор биологических наук, в 1973г. ему было присвоено звание профессора.

Исследования Л.А., обобщенные им в двух монографиях и в более чем 250 опубликованных научных работах, посвящены вопросам общей и технической микробиологии, и основном — изучению экологии, биологии и применению молочнокислых бактерий.

Основными объектами исследований Ф.Г.Сарухян и Л.А.Ерзинкян являлись дрожжи и молочнокислые бактерии, что было связано с приоритетными и традиционными отраслями Армении — виноделием и производством хлебопродуктов. Творческое сотрудничество сохранилось и продолжение всей доброй супружеской жизни, а их работы были неотрывно связаны в течение многих лет с развитием микробиологической науки в нашей Республике.

Изучение дрожжей составляло одно из ведущих мест в микробиологии Армении. Исследования в этой области были начаты с 1928г. Н.Н.Простосердовым, развернувшим систематическое изучение дрожжевой микрофлоры винограда и вин Армении. Важнейшим результатом этих работ явилось выделение Простосердовым и Р.Л.Африкян Аштаракской расы 53 хересных дрожжей, названной *Sacch. cheremensis var. armeniensis* и вырабатывающей в условиях естественного брожения вино с

содержанием до 19° спирта. На основе использования дрожжей указанной разновидности была разработана технология производства хересных вин, а в Ошакане построен крупный винный завод. Армения стала второй после Испании страной в мире по производству этих вин.

Ф.Г. Сарухян выполнен большой объем исследований по изучению дрожжей и эпифитной микрофлоре винограда, плодов и почв, в результате которых выделены и подробно изучены новые перспективные штаммы дрожжевых организмов, имеющие ряд преимуществ перед описанными в литературе культурами (1960).

В течение многих лет обстоятельно изучались дрожжи плодов и ягод Армении, в результате чего были выделены и описаны новые штаммы и разновидности, характеризующиеся ценным комплексом производственных признаков (1949). Особый практический интерес представляют культуры дрожжей с высокой спиртообразующей способностью и большим выходом биомассы (1951).

Ею выявлена определенная экологическая приуроченность отдельных видов дрожжей к условиям обитания. Наряду с широким распространением в эпифитной микрофлоре плодов *S. ellipsoides*, установлено их обилие на ягодах *S. oviformis*, *H. apiculata*. Из микрофлоры хизила выделен новый вид *S. cornuina* var. *armeniensis*, лесных групп *S. coreanus* var. *armeniensis* (1946-1960). Используя селекцию в определенных условиях, были получены активные штаммы винных дрожжей, активно сбраживающих как виноградный сок, так и плодово-ягодные сусла. Ряд полученных новых культур рекомендован для производства плодово-ягодных вин и напитков. Установлена специфика микробиологических процессов созревания продуктов квашения и особенности взаимодействия молочнокислых бактерий и дрожжей.

Важное значение придавалось изучению кормовых дрожжей и возможностям их использования для обогащения белком растительных отходов и получению белково-витаминных концентратов (1974).

В этом отношении весьма интересные данные получены при изучении дрожжевой микрофлоры национальных хлебных заквасок (тххмор), являющихся исключительно богатым источником селекции этих форм микроорганизмов (1946-1957). В результате этих работ были получены новые производственные ценные термостойкие хлебопекарные дрожжи (Армения 17 и Кировскан 405) с высокой подъемной силой, успешно внедренные в хлебопекарную промышленность.

Особенно высокий выход биомассы достигнут с использованием оригинального штамма *T. dattila*, выделенного Ф. Сарухяном, который хорошо утилизирует пентозу, ксилитозу и хорошо развивался на гидролизатах соломы, хлопковой шелухи, отрубей и других отходов сельского хозяйства (1950-1976).

В период 1935-41 гг. в Армении проводились работы по выделению, изучению и применению новых активных форм молочнокислых бактерий, Ф. Сарухяном и Л. Ерзинкяном были выделены психрофильные штаммы *Str. lactis*, успешно использованные в производстве кислосливочного масла. Ф.Г. Сарухяном получена стойкая раса *L. casei*, использование которой в сыроделии повышало качество и ускоряло процессы созревания сыров. На основе этих культур Л. Ерзинкяном было разработано производство жидких заквасок на обрате, успешно внедренное на сырзаводах Республики. Показано, что при использовании чистой культуры *L. casei* качество тушинского (чаных) сыра значительно повышается. Было установлено, что бактерии этого вида являются возбудителями созревания швейцарского (эмментальского) сыра, причем было выявлено наличие трех групп бактерий с различной степенью кислотообразования. В производстве этих сыров были с большим успехом использованы оригинальные культуры пропионовокислых бактерий. Надо подчеркнуть, что работы имели большое практическое значение, поскольку Армения вырабатывала более половины производимых в СССР швейцарских сыров. В последующие годы была разработана методика получения пропионовокислой закваски. Им проведены первые исследования по микробиологии айодзорского (дирагагязского) сыра, вырабатываемого в Армении с глубокой древности и обладающего высокими вкусовыми и питательными качествами.

Из кисломолочных продуктов уже в ранние годы изучался широко распространенный мацуни. Подробно изучена микрофлора этого продукта и выявлены характерные особенности входящих в состав его закваски молочнокислых бактерий и дрожжей. В последующие годы усилиями Л.А.Ерзинкяна и его сотрудников из мацуна были выделены и изучены местные штаммы йогурта, которые прошли успешные производственные испытания.

Под руководством Л.А.Ерзинкяна выполнен большой объем научно-производственных работ по изучению экологии, биологических особенностей и практическому использованию новых перспективных форм молочнокислых бактерий. В этом отношении существенно важным явилась разработка им рациональных основ отбора культур этих бактерий на основе их фенолостойкости, антибиотических и витаминсинтезирующих свойств. С использованием новых высокопродуктивных штаммов было налажено производство в Республике и в других районах нашей страны лечебно-питательного ацидофильного молока и молока «Наринэ», которые успешно применялись в профилактике и лечении кишечных болезней в медицине и животноводстве. Из местной флоры выделен ряд экстремальных форм молочнокислых бактерий, из которых некоторые галофильные и термофильные штаммы представляют значительный практический интерес для промышленного применения (1963, 1968, 1974). Л.А.Ерзинкян хорошо знал производство, постоянно увязывал свои работы с запросами практики и много сделал по организации в Армении новых видов продукции. Его характеризовала отличительная особенность: любой прорабатываемый вопрос он доводил до логического конца с успешной практической реализацией. Это отнесется к его работам с уксуснокислыми бактериями, когда в результате широких экологических изысканий были выделены и внедрены в производство новые силосные закваски. Работая в тесном содружестве с Ф.Саруханяном, он вложил много труда во внедрение высокоэффективных штаммов дрожжей и виноделие и хлебопекарную промышленность.

Выдающейся заслугой Л.Ерзинкяна явилось создание и внедрение в практику лечебно-диетического кисломолочного продукта «Наринэ» на основе выделенного им оригинального штамма молочнокислых бактерий. Этот препарат оказался высокоэффективным средством в предотвращении и лечении кишечных и других заболеваний, особенно в детском возрасте, могущим заменить материнское молоко и обладающим высокой пробиотической активностью. Прошло более сорока лет со времени описания культуры «Наринэ» и его широкого внедрения в практику, он вырабатывается и используется во многих странах и полученный Л.Ерзинкяном штамм остается непревзойденным.

Л.Ерзинкяну принадлежат и исследования по характеристике микрофлоры и микробиологических процессов оз.Севан (1946-49). Вместе с известными работами других авторов (М.Гамбарян, А.Петросян) этими исследованиями была выявлена биогенная природа образования травертинов, изучена специфика микрофлоры вод оз.Севан, их динамика и установлена роль биологических процессов в повышении продуктивности оз.Севан и предотвращении его эвтрофикации.

Наша научная общественность заслуженно чествует своих выдающихся ученых, заложивших основы развития одной из перспективных отраслей науки и промышленности Армении.

Э.Африкян

Академик ИАН Армении

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

Армен Амбарцумович Трчунян
(К 50-летию со дня рождения)



Исполнилось 50 лет со дня рождения известного ученого-биофизика, крупного организатора науки и образования, доктора биологических наук, профессора Армена Амбарцумовича Трчуняна.

Он родился в 1956г. в г. Ереване. В 1973г. окончил с золотой медалью Ереванскую русскую среднюю школу №132, а в 1978г. — с отличием биологический факультет Ереванского госуниверситета по специальности "биофизика". За годы учебы в университете он проявил выдающиеся способности к творческой деятельности, а его дипломная работа была отмечена памятной медалью Минвуза республики как лучшая научная работа студентов. Мы, его преподаватели, давно выделили этого многообещающего, организованного и талантливого

студента. В 1982г. А. Трчунян защитил кандидатскую диссертацию, в 1990г. — докторскую, а в 2002г. ему было присвоено ученое звание профессора.

Научная деятельность А. Трчуняна развернута на кафедре биофизики биологического факультета ЕГУ, где он работает после окончания аспирантуры, а с 1993г. — профессором. Он уделяет основное внимание изучению биофизики и энергетики ионного транспорта и его роли в физиологии клетки, включая понимание основополагающих и принципиально новых механизмов ионного транспорта, используя генетически точечные и делеционные мутанты бактерий с применением строгих физико-химических методов.

Работами, выполненными в Армении и известных научных центрах США, Японии и других стран, А. Трчуняном обоснован принцип прямого внутримембранного взаимодействия транспортных систем. Им предложена модель протонно-кальевого насоса у бактерий, допускающая прямую передачу энергии от одного белка к другому внутри ферментных комплексов. Эти работы существенно дополняют современные представления о принципах протонного транспорта, разработанные нобелевским лауреатом П. Митчеллом и другими ведущими биофизиками.

А. Трчуняну удалось показать механизм такой передачи энергии через дитиол-дисульфидные переходы между белками в суперкомплексе. Эти переходы требовали окислительно-восстановительных эквивалентов, которые могли бы поставляться продуктами брожения. С использованием новых мутантов из лаборатории А. Бока (Мюнхенский университет, Германия) и С. Андрюса (университет Рединга, Англия) была установлена природа такого поставщика — им оказалась муравьиная кислота, продукт смешанного брожения у *Escherichia coli* и выявлена роль мембраносвязанного фермента — форматводородоксидазы.

Экспериментально подтвердилась и роль тиоловых групп белков, а сконструированные А. Трчуняном совместно с Р. Накамото в Вирджинском университете США новые мутанты позволили показать именно роль остатка цистеина в субъединице протонной АТФазы: наличия двух таких субъединиц в комплексе достаточно для дитиол-дисульфидного перехода.

Фактически А. Трчуняном сформулирована гипотеза протонной АТФазы, играющей ключевую роль в трансформации энергии, а при взаимодействии с другими мембранными белками выполняющей новые функции, например, в обеспечении накопления K^+ внутри клетки или в осуществлении последних этапов брожения у бактерий. Выдвинуто также предположение о двойном характере функционирования транспортных систем, что на конкретных примерах ныне широко рассматривается в различных лабораториях. Важно, что изучены внешние и внутриклеточные факторы, регулирующие взаимодействие протонной АТФазы с мембранными белками, среди которых окислительно-восстановительный потенциал, pH, осмотическое давление, температура, протонная проводимость мембраны, один из *trk* генов, кодирующих калиевую транспортную систему, двухкомпонентная сигнальная система (Arc) контроля синтеза ферментов аэробных цепей переноса электронов и др.

Особое значение приобретают перспективные исследования лаборатории А. Трчуняна в области образования молекулярного водорода у бактерий. Разработаны новые методы его определения и изучены оптимальные условия и механизмы его выделения в среду: выделены новые перспективные штаммы микроорганизмов, генерирующих водород, и разрабатываются пути их практического применения, важные в плане реализации топливно-энергетической программы.

Привлекают внимание и выяснение совместно с Х. Кобаяши (университет Чибы, Япония) роли второй калиевой транспортной системы бактерий в кислых средах; обнаружение усиления чувствительности бактерий к осмотическому давлению, создаваемому натриевыми солями; а также установление мембранотропных эффектов миллиметровых волн и др.

Большой объем исследований проводится А. Трчуняном по международным грантам и проектам. А. Трчунян — автор более 200 научных работ, опубликованных в основном в известных международных журналах в США, Англии, Голландии, России и др. Он участник многих международных научных форумов, на которых выступал с докладами и сообщениями. По приглашению неоднократно выезжал за границу, где читал лекции и проводил научные семинары (Россия, США, Англия, Япония, Италия). А. Трчуняна как “ученого-профессионала высокого уровня” характеризует академик В.П. Скулачев, отмечая также его “решимость в развитии научной школы в Армении при активном международном сотрудничестве, — и это удается!”

За цикл работ по изучению транспортной и ферментативной активности мембран бактерий А. Трчунян удостоен премии Президента Республики Армения в области естественных наук (2003г.). Он награжден также орденом Креста и медалью имени Р. Вирхова Европейской академии естественных наук (Германия).

Научную деятельность А. Трчунян успешно сочетает с научно-педагогической работой. Он читает лекции по общей биофизике, биофизике мембран и биоэнергетике в ЕГУ. Является автором путеводного учебного пособия “Биологические мембраны” (2001г.), редактором учебника “Общая биология” (Н. Бегларян, 2005г.). Проводит активную работу по подготовке кадров: под его руководством уже защищены 9 докторских и кандидатских диссертаций, подготовлено много курсовых, дипломных и магистерских работ.

Под его руководством разработаны концепция и программы школьного курса биологии, он редактировал, переработал и дополнил учебник для 9-го класса "Общая биология" (2000г.).

Многогранна научно-организаторская деятельность А. Трчуниана, развернутая на постах начальника Управления науки и подготовки научно-педагогических кадров Министерства образования и науки (2001-02гг.), затем - председателя Высшей аттестационной комиссии Республики Армения. Он вносит большой вклад в создание и организацию деятельности специализированных советов и научной аттестации, подготовил книгу "Современное состояние и тенденции развития высшей научной аттестации" (2004 г.). Он участвовал в программе по управлению университетами и менеджменту высшего образования Евросоюза (ТЕМПУС, 1997-98гг.), в конференциях по обмену опытом работы в Италии, Швеции, Эстонии и др.

Его научно-организаторская деятельность осуществляется в советах ЕГУ и Армянского педагогического университета им. Х. Абовяна, специализированных советах по присуждению ученых степеней, в редакциях научных и научно-практических журналов, в международных академиях, а также международных и национальных научных организациях и экспертных советах. Существенна его деятельность как члена Координационного комитета Международного научно-технического центра и Совета по сотрудничеству в области образования стран-участников СНГ.

За большой вклад в науку он удостоен Благодарственной грамоты Председателя Национального Собрания Республики Армения (2005 г.), награжден памятной золотой медалью Министерства образования и науки (2004 г.).

Характеризуя А. Трчуниана как крупного ученого, педагога и организатора науки, хотелось бы сердечно пожелать ему новых успехов на благо науки и образования.

*Почетный зав. кафедрой биофизики ЕГУ,
засл. деятель науки, профессор Г. ИАНОСЯН*

Академики ИАН Армении М. ДАВТЯН, Л. ОСИПЯН

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

Цовак Минасович Авакян
(к 80-летию со дня рождения)

Доктор биологических наук Цовак Минасович Авакян родился в г. Ереване 24.06.26. Он - председатель Всеармянской ассоциации биофизики, член Международной Академии наук (отделение биофизики) ФРГ, Научного Совета радиобиологии АН РФ, член Европейского совета радиобиологов.

Ц.М. Авакян в 1952г окончил радиотехнический факультет Московского института инженеров связи и после окончания аспирантуры (1956-58 гг.) работал в Институте физиологии им.И.Орбели НАН РА.

В 1968 г. он организовал в Армении Центр биофизических исследований (в составе НИИ земледелия МСХ РА) и в этом же году по приглашению директора Ереванского института физики Госкомитета по атомной энергии СССР академика Алиханяна А.И. создал в этом институте лабораторию радиационной биофизики, которую возглавлял в течение многих лет.

Научные работы Ц. Авакяна посвящены радиобиологии зрительной рецепции, радиационной хемилюминесценции, биологическому действию сверхвысоких электронов и гамма фотонов на микробиологические объекты и растения. Им исследовано биологическое действие синхротронного излучения (СИ) разных длин волн на биологические организмы. Совместно с сотрудниками Института радиобиологии атомного центра в Карлсруе и Института биофизики Франкфурта на Майне (ФРГ) методом ЭПР изучал свободнорадикальное состояние при облучении гамма лучами oleиновой кислоты. Совместно с сотрудниками лаборатории он показал защитное действие лазерного облучения при обработке различных организмов рентгеновскими лучами и альфа-частицами. В области мембранной биофизики исследовал проблему полного транспорта через БЛМ.

Ц. Авакян теоретически и экспериментально обосновал феномен видимости рентгеновских лучей глазом человека, показав вклад исторических физических процессов в сетчатке глаза. В 1957 г. впервые обнаружил (методом регистрации электроретинограмм) действие достаточно малых доз рентгеновских лучей на сетчатку глаза лягушки (см. З.Бак, П.Александр "Основы радиобиологии"). Совместно с Н.Аджяном он создал и внедрил в практику установку для регистрации хемилюминесценции. Этот метод, по словам проф. Московского гос. университета им. Ломоносова И.И. Иванова, "привел к своеобразному перевороту в методах регистрации сверхслабых световых сигналов". Указанный метод был внедрен по всех лабораториях СССР и ряда других стран. Новая методика позволила Ц. Авакяну выполнить ряд уникальных пионерских исследований в области сверхслабого свечения нормальных и облученных организмов. Убедительными опытами Ц.



Авакян показал на растительных объектах связь сигналов свечения и спектр ЭПР при облучении X-лучами. Им была раскрыта роль токоферола при радиационном поражении растений, что подтвердила важную роль последнего как естественного ингибитора при ионизирующих излучениях. На синхротронных лучах Ереванского кольцевого ускорителя Ц. Авакяном впервые была показана "специфичность" действия СИ.

Ц. Авакян неоднократно выезжал в зарубежные страны, где выступил с докладами.

Ц. Авакян был организатором ряда Международных научных конференций в Армении и в России.

За заслуги в области биофизики, подготовку кадров и цикл лекций по радиационной биофизике Авакян Ц.М. награжден орденами и медалями. За распространение учения Н.В.Тимофеева-Ресовского и цикл работ по СИ в 1992г. награжден дипломом и медалью им. Н.В.Тимофеева-Ресовского АМН РФ. За заслуги при организации Американского университета Армении награжден именной медалью. За большие заслуги при освобождении Арцаха приказом Президента Нагорно-Карабахской республики награжден медалью.

Ц. Авакян является активным членом редакционных советов и коллегий ряда периодических изданий. Редакция Биологического журнала Армении сердечно поздравляет Цовака Минасовича и желает ему доброго здоровья и творческих успехов.

Редакция Биологического журнала Армении

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

THE SECOND INTERNATIONAL N.W.TIMOFEEFF-RESSOVSKY CONFERENCE "MODERN PROBLEMS OF GENETICS, RADIOBIOLOGY, RADIOECOLOGY AND EVOLUTION"

(Yerevan, Armenia, 8-11 September 2005)

This N.W.Timofeeff-Ressovsky conference (confined to 105-th anniversary) was dedicated to the seventy years of the famous publication "On the Nature of Gene Mutations and Gene Structure" ("green Pamphlet") by N.W. Timofeeff-Ressovsky, K.G. Zimmer, and M. Delbrück <http://www.jinr.ru/~drrr/Timofeeff>. The conference should analyse not only the results of Timofeeff-Ressovsky's classical ideas but demonstrate their transferring to modern research on mutagenesis, DNA structure and evolution. The organizers of the conference were many academies, scientific societies, organizations, institutions, including the Department of Biological Sciences, the Russian Academy of Sciences (RAS); the Genetics Society of America; the International Union of Radioecology; the Joint Institute for Nuclear Research; the Medical Radiological Scientific Centre, Russian Academy of Medical Sciences (RAMS); National Academy of Sciences (NAS) of Armenia; NAS of Belarus; NAS of Ukraine; the N. I. Vavilov Society of Geneticists and Selectionists; the N.W. Timofeeff-Ressovsky Scientific Society "Biosphere and Mankind"; the Max-Delbrück Molecular Medicine Centre. In parallel to the conference, the NATO Advance Research Workshop "Impact of radiation risk estimates in normal and emergency situations" was held, which connected fundamental problems of DNA variability with biospherology and radioecology.

The programme of the conference consisted of plenary morning sessions (Genetics, Radiobiology, Evolution, and Radioecology & Biospherology), and after-dinner sections with oral and poster presentations. All sections were headed by leading scientists: R.M. Aroutiounian, M. Cox, J.W. Drake, S.G. Inge-Vechtomov, S. Rosenberg (Genetics); M. Durante, Ju. Kiefer, D. Lloyd, C. Mothersill, C. Seymour (Radiobiology); R.M. Alexakhin, A.A. Cigna, I.N. Gudkov, G. Guegamian, Yu.A. Kutlakhmedov (Biospherology & Radioecology); E. Afrikan, A. Leitch, I. Matic, S. Rutherford (Evolution).

The Genetics section was opened by S.G. Inge-Vechtomov who presented a detailed history of the mutation theory from G. de Vries up to Timofeeff-Ressovsky (convariant reduplication principle). Furthermore, he outlined the theory of mutational process today, wider problems encountered by the general theory of variability destined to embrace inherent and non-inherent variations such as modifications, ontogenetic variability and epigenetic variations (and inheritance). In his lecture, J.W. Drake reported about the almost completely unanticipated complication of DNA repair and, especially, damage circumvention. He spoke about some kind of complexity, characterized the non-randomness of mutation: the strikingly non-random distribution of point mutations within a gene: non-randomly assorting of mutations among mutants,

in particular, a minority of mutants which contain two or more mutations that appear to have arisen in bursts as a result of some kind of transient hypermutability. The Lecture by *S. Rosenberg et al.* was devoted to mutation as a stress response in the bacterium *Escherichia coli*. The authors suggested multilayered control by stress response that severely limits the dangerous process of global mutagenesis to times of stress. They showed that stress-induced point mutagenesis is caused by a switch from high-fidelity to error-prone double-strand breaks (DSBs) repair, using the special error-prone DNA polymerase. DNA near a DSB is mutated but another molecule is not. They suggested that coupling of stress-induced mutagenesis to DSB-repair could be a regulatory strategy that both reduces deleterious mutations in cells, and potentially facilitates concerted evolution of genes and gene clusters. *M. Cox* presented a talk on genome reconstitution and its mechanisms: genome organization and three types of DNA repair. *R. M. Aroutounian* spoke about the principles and results of genetic monitoring of chemical mutagens and radiation in Armenia. It is necessary to mention oral presentations by *V. G. Kornelyan* (section: mutation processes in gene and genome), *Martinyan I. A.* (section: mutations in natural populations); *H. Mkrtchyan*, *M. Manvelyan* (section: problems of medical genetics).

The Radiobiology session began with minute for memory to Prof. Vladimir Andreevich Shevchenko, who should have been Chairman and first lecturer on that day but died on 29 July. In this section, some aspects of the problems of low radiation effects were presented: targeted and non-targeted mechanisms, reviews of epidemiological data, and new methods of investigations. *Ju. Kiefer* reviewed the problems of quantitative description of biological radiation action. *C. Mothersill & C. Seymour* presented a review on adaptive response and radiation-induced bystander effects in human and non-human biota and revealed that bystander effects vary between species and between organs within individuals. The ultimate outcome after low dose irradiation exposure appears to be determined mainly by the genetic makeup of the exposed individual and by environmental factors such as other stressors. Very little change in response can be detected with increasing dose in the low dose range. *A. S. Saenko* presented a report by *V. Ivanov & A. F. Tsyb* on the radiation epidemiological investigations and the problems of potential risk groups, which were realized in the Medical Radiological Research Centre. The new methods of investigations were reported by *D. Lloyd* ("Radiation cytogenetics and biological dosimetry: the past, the present and the future") and *M. Durante* ("Radiation cytogenetics: the colour revolution"), who showed us the power of FISH and multiFISH techniques in visualising damage to chromosomes. In oral sections, features and mechanisms of bystander effects (*J. B. Masse*), their contribution to variability and viability in nature (*V. L. Korogodina et al.*), and radiation biology of polluted areas (*M. Tondel*, *L. S. Mkrtchyan*) were discussed. Additionally, section of Radiation Biophysics was organized that was headed by *Ts. M. Avakian*.

In the Radioecological plenary session, vice-president of the International Union of Radioecology *R. M. Alexakhin* spoke on the actual issues of radioecology. *A. A. Cigna* talked on radioecological assessment of the Chernobyl Nuclear Power Plant accident in Western Europe and adjacent areas, with special reference to the modern problems of radioecology in the Mediterranean. *Yu. A. Kutlakhmedov* presented the modern approaches to evaluation of ecosystems radiocapacity. Radiation protection of the environment was discussed in the reports of *S. A. Gerasimov et al.* and *I. N. Gudkov et al.*

The session "Adaptive Evolution" was devoted to the mechanisms of evolution and analysis of adaptive processes in populations under low radiation. *S. Rutherford*

talked about the mapping between genotype and phenotype, which is modified by developmental and physiological processes including genetic buffering by the Hsp90 protein chaperone. It was shown that Hsp90 controls over canalization, modularity and evolvability that means tempering the effects of mutation in a changing environment. *I. Matic* spoke about a role of mutator alleles. He said that there must be positive selection for higher mutation rate in spite of the fact that majority of newly generated mutations are deleterious or lethal. Mutator alleles rise to a high frequency through their association with the favorable mutations they generate that counterbalance the load of deleterious mutations. *Leitch et al.* presented studies on plant chromosome evolution and speciation. Authors showed relationships between rates of speciation and of karyotype divergence. *E.A. Salina* continued and detailed this theme by the description of the dynamics of subtelomeric repetitive DNA changes during evolution and amphiploids formation. *Yuri B. Lebedev* spoke about the retroposon impact on primate genome evolution. *B.F. Chadov* reported that a new class of mutations, which form severe developmental abnormalities in offspring and give rise to genomic instability, were identified in *Drosophila*. *V.I. Glazko* presented studies of population-genetic consequences of the Chernobyl catastrophe, which resulted in the occurrence of the new mutant organisms, which are the less specialized (marginal) representatives of each species in species communities.

The International Committee announced a young scientists' competition <http://www.jinr.ru/drrr/Timofeeff/2005/Awards/Untitled.htm> on genetics, radiobiology and radioecology. Prizes were distributed among young scientists (not older than 35 years old) in order of the quality ranking of their submitted papers, which were reviewed and evaluated by the international expert commission. The submitted papers of young scientists are placed on the N.W. Timofeeff-Ressovsky web-site and published in the "Abstracts. Short papers by young scientists", Dubna, 2005. INTAS, Genetics Society of America and N.W. Timofeeff-Ressovsky fund on private donations (<http://www.jinr.ru/drrr/Timofeeff/2005/fund/Untitled.htm>) supported the young scientists' awards (money and travel awards, journal one-year subscriptions).

The cultural programme of the conference was very extensive and interesting. The participants visited several of the most important places of Armenia. These are Matenadaran, Armenian Genocide museum, Armenian brandy factory 'Aramat', Sevan, Echmiadzin. They heard fine concert, had a meeting with Catholicos of All Armenians Garegin II.

J.W. Drake, USA; Ts.M. Avakian, Armenia; V.L. Korogodinu, Russia

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Ձևորգյան Ս.Լ., Դավթյան Մ.Ա. ԷՂՏԱ-ի և դիալիզի ազդեցությունը արգինազի ակտիվության և ֆլուորեսցենցիայի վրա	3
Հովսեփյան Լ.Ս., Ջանապուրյան Ե.Գ., Դազարյան Ս.Պ., Ջախարյան Գ.Վ., Ջախարյան Ս.Վ., Ավետիսյան Ի.Վ. Չիստոդեղում և սրտում ցիստեինի ածանցյալների ազդեցությունը զերօքսիդացման պրոցեսների և ֆոսֆոլիպիդների փոխանակության վրա հիպոքսիայի ժամանակ	10
Պողոսյան Լ.Ա. Սպիտակ առնետների աչքի ցանցաթաղանթի կառուցվածքային առանձնահատկությունների համեմատական հետազոտությունը լուսավնասման ժամանակ	14
Պետրոսյան Ս.Ս., Պողոսյան Լ.Ա. Տաուրինի պարունակության հետազոտությունը մոդելի, զորտի և առնետի ցանցաթաղանթում մթնային և լուսային աղապտացման պայմաններում նրբաշերտ թրոմատոգրաֆիայի մեթոդով	20
Վարդանյան Ս.Ա., Յան Պին, Հարությունյան Ս.Ժ., Ադաջանյան Ս.Ե., Սադյան Ս.Ս. Աերացիայի ազդեցությունը միկրոկենսաբանական եղանակով D-ալանինի ստացման վրա	25
Ջոյդյան Հ.Օ. L-արգինին սինթեզող շտամների ստացումը <i>Brevibacterium flavum</i> ATCC 14067-ի հիման վրա	29
Պարոնյան Ա.Խ. Արարատյան հարթավայրի աղուտների անջատած ալկալոիդ ծծմբային պուրպուր բակտերիայի բնութագիրը	34
Պարոնյան Ա.Խ., Աֆրիկյան Է.Գ. Երկաթի իոնների ազդեցությունը <i>Spirulina platensis</i> ջրիմուռի աճի և պիգմենտացացման վրա	38
Ստեփանյան Թ.Հ., Ալեքսանյան Ն.Ս., Մաթևոսյան Ֆ.Ս. Հարությունյան Ս.Ս. Պայարաբակտերիաների և հողի բակտերիաների ասոցիացիայի ազդեցությունը տոյայի և ցորենի ազոտֆիքսացիայի վրա	43
Մելիքսեթյան Ի.Բ., Մարգարյան Ս.Ս., Աբրահամյան Ս.Ս., Սիմոնյան Լ.Ա., Բադալյան Ռ.Բ., Բատիկյան Ի.Հ., Սիմոնյան Ս.Ա. Սպիտակ առնետների լյարդի հյուսվածաբանական և անդրկառուցվածքային փոփոխությունները CCl ₄ -ով մակածված ցիռոզի դեպքում	48
Դազարյան Ս.Ա., Դալյան Ծ.Բ., Վարդանյան Վ.Ի., Հարությունյան Ս.Գ. Չալիկյոն S և TAIPyP(4) և AgTAIPyP(4) պորֆիրինների ՈՆԹ դուպլեքսների հետ փոխազդեցության ջերմադինամիկան	55
Սիրակյանյան Ս.Ս., Սիմոնյան Գ.Ս., Ալեքսանյան Ս.Ս., Սիմոնյան Ռ.Ս., Սիմոնյան Ս.Ա. Առնետի արյան մետաղապրոտեինների մակարդակը ինկուբացման ժամանակ մոլիբդենի և կադմիումի իոնների հետ <i>in vitro</i>	61
Սարգսյան Գ.Տ., Մադատովա Ի.Ռ., Կարապետյան Լ.Ս., Դազարյան Լ.Գ. Աջ-ծախկողմային կարմիր կորիզի վնասման ազդեցությունը առնետների տարածաշարժողական անհամաչափության վրա	67
Հովհաննիսյան Հ.Հ., Մինասյան Ս.Ս., Հովհաննիսյան Կ.Ո. Աղմուկի և մատուտակի համակցված ազդեցությունը սուլցինատոհիդրոգենազի ակտիվության վրա	71
Հարությունյան Բ.Ռ., Հարությունյան Ռ.Ա., Մարտիրոսյան Ս.Ե., Նահապետյան Խ.Հ. Սիմպատոլիտիկ ամինազինի և սիմպատոմիմետիկ կոֆեինի ազդեցությունն առնետների ջերմային հոմեոստազի վրա	76
Սահակյան Գ.Վ., Արթուրյան Գ.Գ. Արտաքին էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունը սեռական հորմոնների մակարդակի վրա	80
Դալլաջյան Ս.Ռ., Հակոբյան Ս.Հ., Դուկաչյան Է.Խ. Հրազդան գետի տզրուկների ֆաունայի արդի վիճակը	85
Պիպոյան Ս.Խ. Ծածանագզի ձկների (<i>Cyprinidae</i> , <i>Pisces</i>) ձևաչափական հատկանիշների չափային փոփոխականությունը և դրա նշանակությունը	

կարգաբանության մեջ	91
Մեհրաբյան Ա.Զ., Գոգինյան Վ.Բ. Հայաստանի որոշ դեղաբույսերի հակաօքսիդանտային ակտիվությունը	104
Պարոնյան Ժ.Ա., Թուրշյան Գ.Հ., Միսակյան Գ.Ս., Ապրիկյան Գ.Վ. Սպիտակ լոշտակի և ժենշենի ազդեցությունը սպիտակ ափսեների զլխուղեղի և լյարդի հոմոգենատների ամիակառաջացման ֆունկցիայի վրա	111
Սահակյան Գ.Ռ. Ենթալյան բարձրախտերի ֆոտոսինթեզը և կենսաարդյունա- վետությունը տարբեր միկրոկլիմայական պայմաններում	117
Կարապետյան Զ.Ա., Մկրտչյան Հ.Ս., Գալստյան Ս.Խ. Խաղողի վազի մակաբույծ ֆիտոնեմատոդների քանակության դինամիկան Տավուշի և Վայոց Ձորի մարզերում	123

Համառոտ հաղորդումներ

Կիրակոսյան Գ.Ռ. Օքսիդավերակնզնողական պրոցեսները խառը խմորման պայմաններում <i>Escherichia coli</i> բակտերիաների մոտ հիպերօսմոտիկ հիմնային միջավայրում	129
Վարդանյան Ն.Ս., Ցապլինա Ի.Ս., Բոգդանովա Տ.Ի., Լիսենկո Մ.Ա. Թերմոազիդոֆիլ բակտերիաների 86 շտամի որոշ ֆիզիոլոգիական, կենսաքիմիական և գենետիկական բնութագիրը	134
Աբրահամյան Լ.Ռ. Արգանդապացենտային արյան շրջանառության վրա պրոստագլանդինների ազդեցության մեթոդաբանության ուսումնասիրությունը էքսպերիմենտում և կլինիկայում	139
Աբրահամյան Լ.Ռ. Պրոստագլանդին E ₁ - սայտոտեկ, օքսիտոցինի, ունիտիոլի և մեյդրոնատի ազդեցությունը հղի առնետների արգանդի կծկողական ակտիվության վրա	144
Սարգիսով Գ.Տ., Սարգսյան Ժ.Ս., Մսոդատովա Ի.Ռ., Կարապետյան Լ.Ս., Ղազարյան Լ.Գ. Սոնետների վարքագիծը բաց դաշտում կյանուստրումի վնասումից հետո	149
Ջախարյան Ա.Ա., Աղաջանյան Ա.Խ., Աղաջանյան Ա.Ա., Մարտիրոսյան Մ.Ս. Արհիմազան և նրա ակտիվության կարգավորումը ծիածանախայտ իշխան ձկան տարբեր օրգաններում	152
Արդյան Տ.Ֆ., Գրիգորյան Ս.Լ., Հովհաննիսյան Ս.Հ. Խշխշան պալարի կանխարգելման նոր կենսապատրաստուկ	155
Ստեփանյան Լ.Գ., Համբարյան Լ.Ռ., Հովհաննեսյան Ռ.Հ., Միրալեյան Հ.Լ. Երևանյան լճի ֆիտոպլանկտոնային համակեցության ուսումնասիրությունները 2003թ. և 2005թ. «ծաղկման» շրջանում	158

Լրատու

Հայաստանում ընդհանուր և կիրառական մանրէաբանության հիմնադիր ականավոր գիտնականներ	161
Արմեն Համբարձումի Թեյլորյան (ծննդյան 50-ամյակի առթիվ)	168
Յուլիա Միսակի Ավագյան (ծննդյան 80-ամյակի առթիվ)	171
Ն.Վ. Թիմոֆեև-Ռեսովսկու Երկրորդ Սիջազգային Գիտաժողովը «Գենետիկայի, ժադիոկենսաբանության, ժադիոքնապահպանության ժամանակակից խնդիրները և զարգացումը» (Երևան, Հայաստան, 8-11 սեպտեմբեր, 2005)	173

Биол. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

Геворкян М.Л., Давтян М.А. Влияние ЭПТА и диализа на активность и флуоресценцию аргиназы печени быка	3
---	---

Овсепян Л.М., Джавадпоян Е.Г., Козарян С.П., Захарян Г.В., Захарян А.В., Аветисян И.В. Влияние производных цистина на процесс перекисного окисления и обмена фосфолипидов при гипоксии головного мозга и сердца	10
Погосян Л.А. Сравнительный анализ структурных особенностей светоповреждения в сетчатке глаза белых крыс	14
Петросян А.М., Погосян Л.А. Исследование содержания таурина в сетчатке глаза мыширы, лягушки и крысы при темновой и световой адаптации методом тонкослойной хроматографии	20
Варданян А.А., Ян Пинь, Арутюнян С.Ж., Агаджанян А.Е., Сагжян А.С. Влияние аэрации на получение D-аланина микробиологическим способом	25
Колоян А.О. Получение продуцирующих L-аргинин штаммов из основы <i>Brevibacterium flavum</i> ATCC 14067	29
Паронян А.Х. Характеристика алкалофильной серной пурпурной бактерии, выделенной из солончаков Араратской долины	34
Паронян А.Х., Африкян Э.К. Влияние ионов железа на рост и пигментообразование микроводоросли <i>Spirulina platensis</i>	38
Степанян Т.У., Алексанян Н.М., Матевосян Ф.С., Арутюнян С.А. Влияние клубеньковых бактерий в ассоциации с почвенными микроорганизмами на азотфиксацию сои и пшеницы	43
Меликсетян И.Б., Маргарян А.С., Абрамян С.С., Симонян Л.А., Бадалян Р.Б., Батикян И.Г., Симонян А.А. Гистологические и ультраструктурные изменения в печени белых крыс при CCl ₄ -индуцированном циррозе	48
Казарян А.А., Далай Е.Б., Варданян В.И., Арутюнян С.Г., Чаликян Т.В. Термодинамика взаимодействия TAIPuP(4) и AcTAIPuP(4) с дуплексами РНК 5S	55
Сиракянц М.С., Симонян Г.М., Алексанян Серг.С., Симонян Р.М., Симонян М.А. Уровень металлопротеиновой крови крыс при инкубировании крови с ионами молибдена и кадмия <i>in vitro</i>	61
Саркисов Г.Т., Мадатова И.Р., Карапетян Л.М., Казарян Л.Г. Влияние право-левосторонних повреждений красного ядра на пространственно-моторную асимметрию у крыс	67
Оганисян А.О., Минасян С.М., Оганисян К.Р. Комбинированное воздействие шума и корней солодки на активность сукцинатдегидрогеназы	71
Арутюнян К.Р., Арутюнян Р.А., Мартirosian С.Ш., Карапетян Х.О. Влияние симпатолитика аминазина и симпатомиметика кофенина на температурный гомеостаз у крыс	76
Саакян Г.В., Арифуни Г.Г. Влияние внешних электростатических полей на уровень половых гормонов	80
Далакян М.Р., Акобян С.А., Гуксян Э.Х. Современное состояние фауны пиявок реки Раздан	85
Пипоян С.Х. Размерная изменчивость морфометрических признаков и ее значение в систематике карповых рыб (<i>Cyprinidae, Pisces</i>)	91
Меграбян А.Ч., Гогшян В.Б. Антиоксидантные свойства некоторых лекарственных растений Армении	104
Паронян Ж.А., Туршян Г.А., Мисакян Г.С., Априкян Г.В. Влияние переступия белого и женьшеня на аммиакообразовательную функцию головного мозга и печени белых крыс	111
Саакян Г.Р. Фотосинтез и биопродуктивность субальпийского высокотравья в различных микроклиматических условиях	117
Карапетян Дж.А., Мкртчян Р.С., Галстян С.А. Динамика численности паразитических нематод пиноградников Тавушского и Вайоцзорского марзов	123

Краткие сообщения

Киракосян Г.Р. Окислительно-восстановительные процессы при смешанном брожении у <i>Escherichia coli</i> в гиперосмотической щелочной среде	129
Варданян Н.С., Цапина И.А., Богданова Т.И., Лысенко А.М. Некоторые физиолого-биохимические и генетические характеристики термоцидофильной бактерии шт.86	134
Абрамян Л.Р. К методике исследования влияния простагландинов на маточно-плацентарное кровообращение в эксперименте и клинике	139
Абрамян Л.Р. Влияние простагландина Е ₂ -сайтотека, оксентиона, унитиола и милдроната на сократительную активность матки беременных крыс	144
Саркисов Г.Т., Саркисян Ж.С., Мадатова Н.Р., Карапетян Л.М., Казарян Л.Г. Поведение крыс в открытом поле после разрушения клаустроума	149
Захарян А.А., Агаджанян А.Х., Агаджанян А.А., Мартиросян М.С. Аргинина и регуляция ее активности в различных органах радужной форели <i>Parasalmo mikiss</i>	152
Аюян Т.Ф., Григорян С.А., Оганесян М.О. Новый биопрепарат профилактики эмфизематозного карбункула	155
Степанян Л.Г., Гамбарян Л.Р., Оганесян Р.О., Микаелян А.А. Исследования фитопланктонного сообщества Ереванского водохранилища в период «цветения» 2003 и 2005 гг.	158

Хроника

Плехва выдающихся ученых, основоположников общей и прикладной микробиологии в Армении	161
Армен Амбарцумович Грчунян (к 50-летию со дня рождения)	168
Цовак Минасович Амакян (к 80-летию со дня рождения)	171
Вторая Международная Конференция И.В. Тимофеева-Рессовского "Современные проблемы и развитие генетики, радиобиологии, радиэкологии" (Ереван, Армения, 8-11 сентября, 2005)	173

Biolog. J. Armenia, 1-2 (58), 2006

CONTENTS

Original articles

Gevorgyan M.L., Davtyan M.A. The influence of EDTA and dialysis on the activity and fluorescence of bovine liver arginase	3
Orsepyan L.M., Djunpaladyan E.G., Kazaryan S.P., Zakharyan, G.W., Zakharyan A.W., Avititsyan I.W. The influence of cysteine derivatives on the process of lipid peroxidation and phospholipids metabolism under the brain and heart hypoxia	10
Poghosyan L.A. Comparative study of structural peculiarities of light induced damage in albino rat retina	14
Petrosian A.M., Poghosyan L.A. Investigation of taurine content in lizard, frog and rat retina under dark and light adaptation by thin layer chromatography	20
Vardanyan A.A., Yang Xing Ping, Harutyunyan S.J., Aghajanyan A.E., Saghyan A.S. Study of aeration effect on D-alanine production by microbiological synthesis	25
Koloyan H.O. Obtaining of L-arginine producing strains by the <i>Brevibacterium flavum</i> ATCC 14067	29
Paronyan A. Kh. Characteristic of alkaliophilic sulfur purple bacterium isolated from soda salted soils of Ararat plain	34

<i>Paronyan A. Kh., Afrkian E. G.</i> Effect of Fe^{2+} ions on growth and pigment formation of <i>Spirulina platensis</i> microalgae	38
<i>Stepanyan T. H., Alexanyan N. M., Matevosyan F. S., Harutyunyan S. A.</i> Influence of nodule bacteria in association with soil microorganisms on nitrogen fixation of soya and wheat	43
<i>Meliksetyan I. B., Margaryan A. S., Abrahamyan S. S., Simonyan L. A., Badalyan R. B., Banikyan I. H., Simonyan A. A.</i> The histological and ultrastructural changes in white rat liver at CCl_4 -induced cirrhosis	48
<i>Ghazaryan A. A., Dadyan Y. B., Vardanyan V. I., Haroutiunian S. G., Chalkian T. V.</i> The thermodynamics of interaction of $TaIPyP(4)$ AND $AgTaIPyP(4)$ with RNA duplexes	55
<i>Sirakanyan M. S., Simonyan G. M., Alexanyan S. S., Simonyan R. M., Simonyan M. A.</i> The level of rat blood metalloproteins after incubation of blood with molybdenum and cadmium ions <i>in vitro</i>	61
<i>Sargisov G. T., Madatova I. R., Karapetyan L. M., Kazaryan L. G.</i> Influence of right - left-hand damages of a red nucleus on spatial - motor asymmetry at rats	67
<i>Hovhannisyan H. H., Minasyan S. M., Hovhannitsyan K. R.</i> The combined influence of noise and roots of <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. on activity succinate dehydrogenase	71
<i>Harutyunyan K. R., Harutyunyan R. A., Martirosyan S. Sh., Nahapetyan Kh. H.</i> Sympatholytic aminazine and sympathomimetic caffeine influence on temperature homeostasis in rats	76
<i>Sahakyan G. V., Artsruni G. G.</i> The influence of external electrostatic field on the level of rat sexual hormones	80
<i>Dallakyan M. R., Hakobyan S. H., Ghukasyan E. Kh.</i> The present state of leeches fauna of the river Hrazdan	85
<i>Pipoyan S. Kh.</i> The measure changeability of morphometric features of cyprinid fishes (<i>Cyprinidae</i> , <i>Pisces</i>) and its significance in their classifications	91
<i>Mehrabyan A. Ch., Goginyan V. B.</i> Antioxidant activities of some medicinal plants of Armenia	104
<i>Paronian J. A., Thurshian G. H., Misakian G. S., Aprikian G. V.</i> Influence of bryonia alba and ginseng on ammonia formation in rat brain and liver homogenates	111
<i>Sahakyan G. R.</i> Photosynthesis and bioproductivity of high-grasses in various microclimatic conditions	117
<i>Karapetyan J. A., Mkrtchyan R. S., Galstyan S. Kh.</i> The quantity dynamics of parasite nematodes of grapevines in Tavush and Vayots Dzor regions	123

Short communications

<i>Kirakasyan G. R.</i> Oxidation-reduction processes in mixed fermentation conditions at <i>Escherichia coli</i> in hyper-osmotic alkaline media	129
<i>Vardanyan N. S., Tsaplina I. A., Bogdanova T. I., Lysenko M. A.</i> Some physiological, biochemical and genetic characteristics of thermoacidophilic bacteria strain 86	134
<i>Abrahamyan L. R.</i> Examination of the methodology of influence of prostaglandines on the uterine-placental blood circulation in the experiments	139
<i>Abrahamyan L. R.</i> Influence of prostaglandin E_2 - saltotec, oxytocin, unithiol and mildronate on the contractive activity of uterus of pregnant rats	144
<i>Sargisov G. T., Sarkisyan Z. S., Madatova I. R., Karapetyan L. M., Kazaryan L. G.</i> Behaviour of rats in an open field after destruction of the claustrum	149
<i>Zakharyan A. A., Aghajanyan A. Kh., Aghajanyan A. A., Martirosyan M. S.</i> Arginase and stabilization their activity in different organs of trout	152
<i>Aloyan T. F., Grigoryan S. I., Hovhannisyan M. H.</i> New biopreparation for preventing the emphysematous carbuncle	155

Stepanyan L.G., Hambaryan L.R., Hovhanesyan R.H., Mikaelyan H.L. Investigations of phytoplankton community of Yerevan reservoir in period of «blooming» in 2003 and 2005	158
--	-----

Chronics

Outstanding scietists the founders of general and applied microbiology in Armenia	161
Armen H. Trchunyan (to 50 th anniversary of birthday)	168
Tsovak M. Avakyan (to 80 th anniversary of birthday)	171
The Second International N.W. Timofeeff-Ressovsky Conference "Modern Problems of Genetics, Radiobiology, Radioecology and Evolution" (Yerevan, Armenia, 8-11 September 2005)	173