

Ж.С. Алмаганбетов, С.А. Джокебаева, Р.У. Бейсембаева, С.Б.Оразова
КӨК-ЖАСЫЛ МИКРОБАЛДЫРЛАРДЫҢ МУТУАЛИСТІК ТИПТІ ДИКУЛЬТУРАЛАРЫН
АЙҚЫНДАУ
(Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті)

Көк-жасыл балдырлардың дикультуралары (*A. laxa* + *T1 Anabaenopsis* u *Anabaenopsis* sp. (*T1*) + *Sph.Zetterstedtii*) жоғары өсу жылдамдығымен және монокультурамен салыстырғанда, биомассаны жоғары мөлшерде жинақтауымен сипатталады. Бұл микробалдыр түрлерінің арасындағы мутуалистік қарым-қатынастың пайда болуынан деп болжам жасалды.

Метаболизмі ерекше альгофлора өкілдерінің адамға маңызды қосылыстарды түзуіне байланысты микробалдырлар биотехнологияның маңызды объектілеріне айналды. Микробалдырларды биологиялық белсенді қосылыстардың көзі ретінде зерттеу, олардың антимикробтық, антисаңырауқұлақтық, антивирустық, антибактериялық, антигельминттік, цитотоксикалық, антиоксиданттық, фитореттеушілік және өсуді белсендендірушілік қасиеттерін анықтау үшін зерттелінеді [1].

Микробалдырлардың биологиялық белсенді метаболиттеріне каротиноидтар, пигменттер, аминқышқылдары, фитогормондар, экзополисахаридтер, май қышқылдары, витаминдер, стеролдар, аллелохимиялық қосылыстар жатады [2]. Микробалдырлардың клеткалары аталған қосылыстарға сапалық және сандық жағынан бай болып келеді [3].

Соңғы уақытта микробалдырларды пайдаланудың тағы бір аспектісі қызығушылық тудыруда. Бұл аллелохимиялық қосылыстар. Микробалдырлар мен балдырлар қатысатын аллелопатиялық қатынастар биологияда маңызды болып табылады. Осы организмдер арқылы түзілетін химиялық заттар олардың белгілі табиғи ортада бәсекелестік түрде таралуын қамтамасыз етеді /4/. Сондықтан да осы уақытқа дейін биоценоздағы серіктестер арасындағы тұраралық байланыстарға мән берілмеді. Дегенмен де түрлер арасындағы байланыстарды зерттеу жаңа жоғары белсенді табиғи қосылыстарды дайындаудың теориялық негіздерін жасауға мүмкіндік береді. Балдырлардың культивирленетін аралас (ассоциацияланған) популяцияларын түзу өсу реттегіштері мен өсімдіктерді қорғайтын заттарды алуда фототрофты культураларда биосинтетикалық процесстерді бағытты реттеудің эффективті құралдарының бірі болып табылады [5].

Ауылшаруашылық дақылдардың абиотикалық (төмен және жоғары температура, ылғалдылық жетіспеушілігі), сонымен қатар биотикалық факторларға (саңырауқұлақтық, вирустық, бактериялық аурулар, арамшөптер) төзімділігін арттыру қазіргі заманғы өсімдік шаруашылығының басым мәселелерінің бірі болып табылады. Әртүрлі стресс факторларға ауылшаруашылық өсімдіктердің төзімділігін арттыру мен егіс түсімін арттыратын өсу стимуляторларының қолжетімді және болашағы мол көзі – балдырлар болып саналады [6].

Зерттеу әдістері мен материалдар

Зерттеу объектісі ретінде биотехнология кафедрасының альгологиялық коллекциясындағы культуралардың ішінен көк жасыл балдырлардың 10 түрі алынды: *Anabaena laxa*, *Anabaenopsis* sp. (*T1* штамы), *Anabaenopsis Arnoldii*, *Anabaena* sp. (*K* штамы), *Anabaena constricta*, *Nostoc* sp. (*K* штамы), *Stratonostoc gelatinosum*, *Sphaeronostoc Zetterstedtii*, *Sphaeronostoc coeruleum*, *Amorphonostoc paludosum*.

Түрлердің биосәйкестілігі Егоровтың модификацияланған әдісі арқылы анықталынды /7/. Агарлы ортаға микробалдыр түрлерін нүктелік әдіс бойынша отырғызылды. Бір апта өткеннен кейін микробалдырлардың колонияларының өсу белсенділігі бақыланды. Колониялардың өсуі бинокуляр арқылы бақыланды.

Микробалдырлардың моно- және аралас дақылдарын өсіру үшін 5 мл Фитцджеральд ортасы бар 20 мл пробиркаларда 16 түрлі моно- және аралас дақылдарды өсірдік. Фитцджеральд ортасының құрамы (г/л): NaNO_3 -0,496; K_2HPO_4 – 0,039; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,075; CaCl_2 – 0,036; Na_2CO_3 – 0,020; $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ – 0,058; Fe цитраты – 0,006; лимон қышқылы – 0,006; трилон Б – 0,001; микроэлементтер ерітіндісі – 0,008 мл.

Зерттеуге алынған 7 монокультура: *Anabaena laxa*, *Sphaeronostoc Zetterstedtii*, *Anabaenopsis* sp. (*T1*), *Anabaena* sp. (*K*), *Anabaena constricta*, *Anabaenopsis Arnoldii* және *Sphaeronostoc coeruleum*.

9 түрлі дикультурадағы комбинациялар: *A.laxa* + *Sph. Zetterstedtii*, *Sph.Zetterstedtii* + *Anabaenopsis* sp. (*T1*), *Anabaenopsis* sp. (*T1*) + *Anabaena* sp. (*K*), *Sph. Zetterstedtii* + *A.constricta*, *Sph. coeruleum* + *A. constricta*, *A. laxa*+ *A. constricta*, *A.laxa* + *Anabaenopsis* sp. (*T1*), *Anabaenopsis Arnoldii* + *A. laxa* және *Anabaenopsis Arnoldii* + *Anabaena* sp. (*K*).

16 түрлі жағдайдан 3 монокультура және 2 түрлі аралас комбинациялар алынды. Ең алдымен, дақылдарды культураға енгізбестен бұрын екі дақылдың алдын-ала бірдей тығыздықта инокуляттарын

дайындап алдық. Осы дақылдарды ламинар бокста моно- және аралас жағдайларына сәйкес культураларға енгізілді. Аралас культураларға әр түрдің инокуляттары 0,5:0,5 көлем қатынасында енгізілді және қиғаш жағдайда, 25⁰С температурада люминостатта 10 тәулік бойы культивирленді. 3, 6 және 10 тәулік өткеннен кейін биомассаның өсу динамикасы анықталынды. Салыстыру үшін монокультураларды да жоғарыда аталған жағдайларда өсірдік.

Өсу процесінің белсенділігі өсу коэффициенті (ӨК) бойынша анықталынды. 3, 6 және 10 тәулік өткен сайын микробалдырлардың биомассасы бар 6 мл культуралық сұйықтық алдын-ала салмағы тұрақтандырылған бюкстерде 105⁰С температурада құрғақ салмағы тұрақты мәнге жеткенше кептірілді. Екінші бюкте 1 мл инокулят аталған жағдайда кептірілді.

Өсу көрсеткіші төмендегідей формула бойынша есептелінді /8/:

$$\text{Өсу коэффициенті} = \frac{M_2}{M_1},$$

мұндағы, M₁-биомассаның соңғы құрғақ салмағы, M₂-инокуляттың соңғы құрғақ массасы.

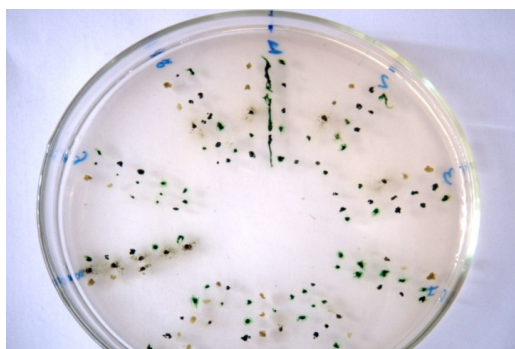
Барлық тәжірибелер үш реттік биологиялық және аналитикалық қайталаныммен жасалды. Нәтижелер статистикалық түрде талданды.

Зерттеу нәтижелері

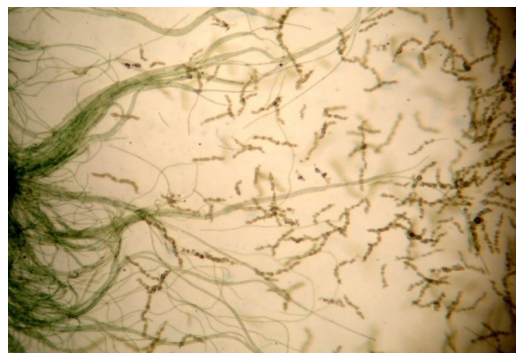
Микробалдырлар метаболизмі барысында көптеген биологиялық белсенді заттарды түзеді. Микробалдырлардың аралас культураларында биологиялық белсенді қосылыстар жоғары деңгейде түзіледі деп болжам жасалады. Бұл мәселені шешу үшін микробалдырлардың биосәйкестілігін анықтау керек. Жұмыс барысында 10 көк-жасыл микробалдырлардың биосәйкестілігі Егоровтың аралас культурадағы түрлердің биосәйкестілік биотестін қолданып зерттелінді.

10 түрдің биосәйкестілігін зерттеу нәтижесі 1-суретте көрсетілген. *A.laxa* және *Sph.Zetterstedtii* микробалдырлар комбинациясынан алынған нәтиже бинокуляр арқылы қаралды (сурет 2). Микробалдырлардың арасында трихомаларының өсуі жүзеге асқан, трихомалары бір-біріне бағытталаып өскен және тығыз байланыста болды. Зерттеу барысында *A.laxa* + *Sph.Zetterstedtii*, *A. laxa* + *T1 Anabaenopsis* және *Anabaenopsis sp. (T1)* + *Sph.Zetterstedtii* комбинацияларының арасында колониялар арасындағы өсу белсенді түрде байқалды.

Зерттеу жұмысының екінші сатысында түрлер мен олардың дикультураларының ӨК анықтау үшін тәжірибе қойылды. Биосәйкестілік тәжірибесінің нәтижелері бойынша алынған 9 аралас микробалдырлар комбинацияларының ішінде *A. laxa* + *T1 Anabaenopsis* және *Anabaenopsis sp. (T1)* + *Sph.Zetterstedtii* дикультуралар жоғары биосәйкестілігін көрсетті. Өсу көрсеткіші бойынша тәжірибеге комбинациялардың моно- және аралас дақылдары алынды.



Сурет 1 - Микробалдыр түрлерінің биосәйкестілігін анықтауға арналған биотест



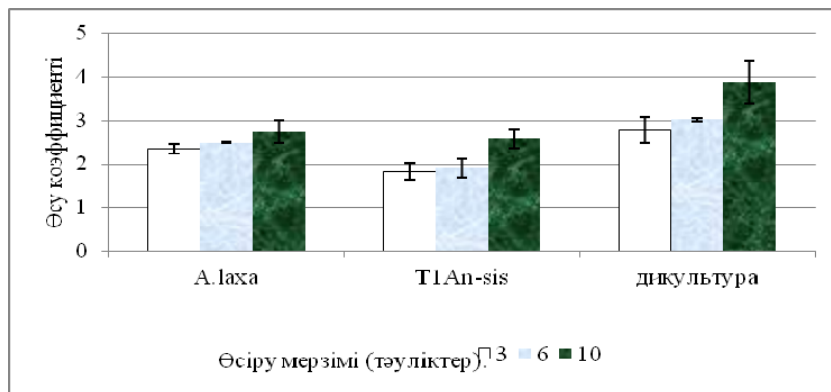
Сурет 2 - Агарлы ортадағы микробалдырлардың бірігіп өсуі (x10)

Аралас дикультураны 10 тәулік бойы өсіріп, 0, 3, 6 және 10 тәуліктен кейін биомассаның өсу көрсеткіші анықталды. Бақылау ретінде екі монокультураның өсу көрсеткіштері де анықталды (3-сурет). *A.laxa* 3 күндік культурасының өсу коэффициенті 2,35±0,1 тең болды, *Anabaenopsis sp. (T1)* 1,83±0,02 тең. Қос дақылдағы көрсеткіштер біршама жоғары 2,78±0,26 болды. Монокультуралардың өсу көрсеткішін аралас дақылдармен салыстырсақ, *A.laxa* 18%-ға және *Anabaenopsis sp. (T1)* 50%-ға дейін аралас дақылдан кем.

Дақылдарды 6 тәулік культивирлеу барысында *A.laxa*-ның өсу коэффициенті 2,49±0,2-ке жетті, бұл көрсеткіш 3 тәулік көрсеткіштен 5%-ға артты. *Anabaenopsis sp. (T1)* дақылының өсу көрсеткіші *A.laxa* дақылымен салыстырғанда анағұрлым төменірек, 6 тәуліктен кейін 1,90±0,2-ге тең болды. Қос

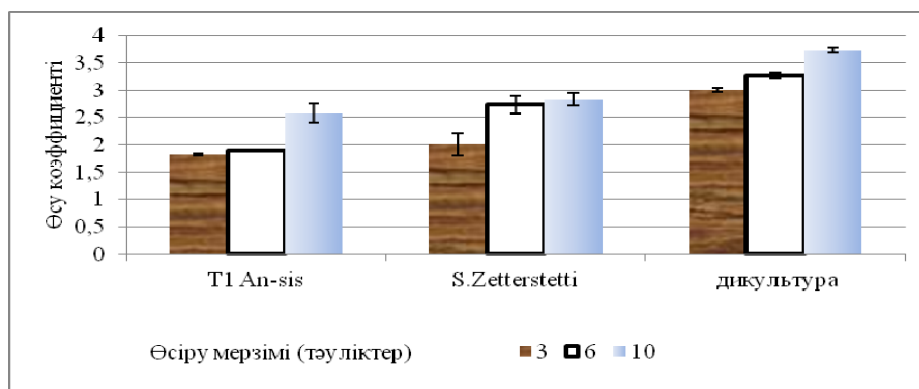
дақылдың көрсеткіші монокультураларға карағанда, едәуір жоғары, $3,02 \pm 0,21$ -ге тең болды. Бұл қос дақыл көрсеткішінің *A.laxa*-дан 21%-ға және *Anabaenopsis sp. (T1)*-дан 58%-ға артқандығын көрсетеді.

Өсу динамикасының көрсеткіштері 10 тәуліктік культураларда 3 және 6 тәулік культивирленгенге карағанда жоғары болды. Монокультуралардың көрсеткіштері сәйкесінше *Anabaena laxa*-да $2,75 \pm 0,3$ және *Anabaenopsis sp. (T1)*-да $2,58 \pm 0,04$, ал дикультураның өсу коэффициенті артты ($3,88 \pm 0,5$).



Сурет 3 - *A.laxa* және *Anabaenopsis sp. (T1)* дақылдардың өсу динамикасының көрсеткіштері

Anabaenopsis sp. (T1) және *Sph.Zetterstedtii* микробалдырларының және олардың дикультураларының 10 тәулік өсу динамикасын зерттеу нәтижелері берілген (сурет 4).



Сурет 4 - *Anabaenopsis sp. (T1)* және *Sph.Zetterstedtii* дақылдарының өсу динамикасының көрсеткіштері
Anabaenopsis sp. (T1) микробалдырының өсу көрсеткіші 3, 6 және 10 тәулікте сәйкесінше $1,83 \pm 0,02$, $1,90 \pm 0,21$ және $2,58 \pm 0,04$ -ге тең болды. Культивирлеудің 6 тәулігінде құрғақ биомасса 3%-ға, ал 10 күннен соң 40%-ға дейін артты.

Sph.Zetterstedtii-нің өсу коэффициенті 3 тәуліктен соң $2,01 \pm 0,02$. 6 тәулік культураларда $2,74 \pm 0,16$ -ға жетті. 10 тәуліктен кейін $2,84 \pm 0,06$ болды, жалпы биомассаның құрғақ салмағы 41%-ға жоғарылады.

Алынған түрлердің, яғни *Anabaenopsis sp. (T1)* және *Sph.Zetterstedtii* бірігіп өсуінің көрсеткіштері барлық күндерде де монокультуралармен салыстырғанда жоғары екендігі анықталынды. Дикультуралардың өсу коэффициенттері 3, 6 және 10 тәулік аралықтарында $2,78 \pm 0,26$, $3,02 \pm 0,21$ және $3,88 \pm 0,5$ болды. Дикультураны монокультураларымен салыстырсақ, дикультураның биомассасының құрғақ салмағы *Anabaenopsis sp. (T1)*-дан 58%-ға және *Sph.Zetterstedtii*-дан 36%-ға жоғарылады.

Сонымен, зерттеуге алынған микробалдырлардың өсу көрсеткіштері дикультураларда монокультураларымен салыстырғанда анағұрлым жоғары болды. Микробалдырлар аралас жағдайда биологиялық белсенді заттарды синтездеп, бір-біріне қолайлы жағдай туғыза отырып, бір-бірінің өсуін белсендендіруі мүмкін.

1. Kumar K., Lakshmanan A. and Kannaiyan S. Bioregulatory and therapeutic effects of blue green algae // *Indian J. Microbiol.* -2005. -vol. 43. -no. 1. -p. 9–16.

2. Краснянская Н.Б., Урунбаева Д., Чепенко Л.И. и др. Рост-стимулирующие метаболиты *Nostoc muscorum* // Биол. и биотехн. микроорганизмов. –Ташкент. –1989. –с.51-59.

3. Горюнова С. В. Синезеленые водоросли (биохимия, физиология, роль в практике). М.: Наука, 1969. – 300 с.
4. Nagle D.G. and Inderjit. Chemical Ecology of Plants: Allelopathy in Aquatic and Terrestrial Ecosystems. Switzerland: Verlag, 2002.
5. О.В. Бухарин, Е.С. Лобанова, Н.В. Немцева и др. Ассоциативный симбиоз. УрО РАН, Екатеринбург, 2007. –264с.
6. R. Prasanna, A. Soodb, P. Jaiswala, S. Nayaka, V. Gupta, V. Chaudhary, M. Joshia and C. Natarajan // Rediscovering Cyanobacteria as Valuable Sources of Bioactive Compounds. -Applied Biochemistry and Microbiology. – 2010. -Vol. 46. -No. 2. - p.119–134.
7. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: МГУ-Наука, 2004.- 525 с.
8. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике, Киев: Наукова думка, - 1975. –с.328.

Установлено, что дикультуры синезеленых водорослей (*A. laxa* + T1 *Anabaenopsis* и *Anabaenopsis* sp. (T1) + *Sph.Zetterstedtii*) характеризуются повышенной скоростью роста и накоплением биомассы по сравнению с монокультурами. Предполагается, что это связано с возникновением мутуалистических взаимоотношений между видами микроводорослей.

It is found that blue-green algae dicultures (*A.laxa* + *Anabaenopsis* sp. T1 strain and *Anabaenopsis* sp. T1 strain + *Sph.Zetterstedtii*) are characterized by high growth and accumulation of biomass compared to monocultures. It is supposed that this is connected with the occurrence of mutualistic relationships between species of microalgae.

Z. Alikulov, M. Myrzabaeva, T. Utupov, O. Babenko
XENOBIOTIC TRANSFORMING ACTIVITY OF ANIMAL MOLYBDOENZYMES
 (The L.N.Gumiliev Eurasian National University, Astana)

Most the attention to date in metabolism of drugs and foreign compounds has been focused on the microsomal monooxygenase system. This system plays an important role in the oxidation of aromatic carbocyclic compounds. However, the presence of the one or more nitrogen atoms in the aromatic ring makes heterocyclic compounds also susceptible to oxidation via a second group of enzymes known as the “molybdenum hydroxylases”. These cytosolic enzymes, which include xanthine oxidase (XO, EC 1.2.3.2) and aldehyde oxidase (AO, EC 1.2.3.1), form a closely related group with similar molecular properties but differ somewhat in substrate specificity. Both enzymes are also involved in some physiological processes and also the metabolism of some endogenous compounds which may indicate their important roles in *in vivo* conditions [2].

These enzymes are metalloflavoproteins that catalyze both oxidation and reduction of a broad range of drugs and other xenobiotics indicating the importance of these enzymes in drug oxidation, detoxification and activation. Xanthine oxidoreductase (XOR) appears in two interconvertible forms xanthine dehydrogenase (XDH), and xanthine oxidase (XO). Xanthine oxidoreductase catalyzes the hydroxylation of hypoxanthine to xanthine and of xanthine to urate. Oxidative hydroxylation occurs at the molybdenum center. With XDH NAD⁺ is reduced; with XO molecular oxygen is reduced at the flavin center. Molybdenum-containing hydroxylases catalyze the hydroxylation of carbon centers using oxygen derived ultimately from water, rather than O₂, as the source of the oxygen atom incorporated into the product, and do not require an external source of reducing equivalents.

The relative importance of these two groups of oxidative enzymes is illustrated by comparing the *in vitro* oxidation of several bicyclic ring system. Naphthalene is oxidized via the microsomal monooxygenase system to an unstable epoxide intermediate which ultimately gives rise to a mixture of 1-naphthol and 2-naphthol. However, naphthalene is not a substrate for the molybdenum hydroxylases. Quinoline, 1-azanaphthalene, reacts not only with the microsomal enzyme system but also with aldehyde oxidase to give a number of mono- and dihydroquinolines with rabbit or rat liver fractions. As the number of N atoms in the molecule increases, the molybdenum hydroxylases play a more dominant role in the oxidative biotransformation of these compounds. Thus, quinazoline, 1,3-diazanaphthalene, is rapidly oxidized by both aldehyde oxidase and xanthine oxidase to quinazolin-4-one, whereas only small amounts of phenolic microsomal products can be detected. Furthermore, quinazolin-4-one is subsequently converted to quinazolin-2, 4-dione by the molybdenum hydroxylases. Finally pteridine, 1,3,5,8-tetraazanaphthalene, is oxidized *in vitro* via the molybdenum hydroxylases only; xanthine oxidase converts it sequentially to pteridin-2,4,7-trione, whereas it is converted to pteridin-2,4-dione by aldehyde oxidase.

The reason for the change in emphasis from microsomal oxidation of naphthalene to the molybdenum hydroxylase catalyzed attack of pteridine is due to the additive activating effect of each nitrogen atom toward nucleophilic attack of the ring system. The molybdenum hydroxylases catalyze a reaction which involves attack by a nucleophile. Therefore, oxidation normally occurs at the carbon atom adjacent to a ring nitrogen,