

ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ХАБАРШЫ

Биология сериясы

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

ВЕСТНИК

Серия биологическая

AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

EXPERIMENTAL BIOLOGY

№2 (103)

Алматы
“Қазақ университеті”
2025



ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498

ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ №2 (103) маусым



04.05.2017 ж. Қазақстан Республикасының Ақпарат және коммуникация министрлігінде тіркелген

Куәлік № 16494-Ж

*Журнал жылына 4 рет жарыққа шығады
(наурыз, маусым, қыркүйек, желтоқсан)*

ЖАУАПТЫ РЕДАКТОР

Шокатаева Д.Х., PhD (Қазақстан)
e-mail: bb.kaznu.kz@gmail.com

РЕДАКЦИЯ АЛҚАСЫ:

Бисенбаев А.Қ., б.ғ.д., ҚР ҰҒА академигі (ғылыми редактор) (Қазақстан)
Бекманов Б.О., б.ғ.к., доцент (ғылыми редактордың орынбасары) (Қазақстан)
Төлеуханов С.Т., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Савицкая И.С., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Кистаубаева А.С., б.ғ.к., доцент (Қазақстан)
Конуспаева Г.С., PhD, профессор (Қазақстан)
Мухитдинов Н.М., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Нуртазин С.Т., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Турусбеков Е.Қ., б.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Берсимбаев Р.И., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Искаков Б.К., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Сарбасов Д., PhD, профессор (АҚШ)
Орынбаева З., PhD, профессор (АҚШ)
Курмашева Р.Т., PhD (АҚШ)
Сапарбаев М., PhD, профессор (Франция)
Ищенко А., PhD (Франция)
Лось Д., б.ғ.д., профессор (Ресей)
Ташев А.Н., профессор (Болгария)
Курманғалиев Е., PhD (США)

ТЕХНИКАЛЫҚ РЕДАКТОР

Смекенов Изат, PhD (Қазақстан)

Журнал материалдарында ауқымды биологиялық мәселелері – ғылыми шолу, теориялық және эксперименталдық зерттеулердің нәтижелері қарастырылады.

Мақалалар биологияның келесі бөлімдері бойынша жарияланады: ботаника, биотехнология, биохимия, өсімдіктер физиологиясы, генетика және молекулалық биология, клеткалық биология, биофизика, адам және жануарлар физиологиясы, зоология және ихтиология, цитология және гистология, микробиология және вирусология.



Жоба менеджері

Гульмира Шаккозова
Телефон: +7 701 724 2911
E-mail: Gulmira.Shakkozova@kaznu.kz

ИБ № 15872

Пішімі 60x84/16. Көлемі 16,6 б.т. Тапсырыс №1035.
Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің
“Қазақ университеті” баспа үйі.
050040, Алматы қаласы, Әл-Фараби даңғылы, 71.

Баспа журналдың ішкі мазмұнына жауап бермейді.

© Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, 2025

1-бөлім
БОТАНИКА

Section 1
BOTANY

Раздел 1
БОТАНИКА

А.А. Алиханова^{1,2} , Б.Б. Осмонали³ ,
Е.К. Туруспеков² , Ш.С. Альмерекова^{2*} 

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

²Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан

³Институт ботаники и фитоинтродукции, Алматы, Казахстан

*e-mail: almerkovakz@gmail.com

ОСОБЕННОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ РЕДКОГО ВИДА *IRIS KUSCHAKEWICZII* B. FEDTSCH. НА ТЕРРИТОРИИ КАЗАХСТАНА

Род *Iris* Tourn. ex L. – один из самых крупных родов семейства Iridaceae Juss. и всего порядка Asparagales, привлекающий своими высоко декоративными свойствами. Объект данного исследования – краснокнижный вид *Iris kuschakewiczii* B. Fedtsch., представитель луковичных ирисов, который был вновь возвращен в род *Iris* из *Juno* Tratt. Проанализированы материалы экспедиционных выездов и гербарные листы отечественных и зарубежных коллекционных фондов: Институт ботаники и фитоинтродукции (АА, Алматы, Казахстан), Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова (МВУ, Москва, Россия), Ботанический институт имени В. Л. Комарова (ЛЕ, Санкт-Петербург, Россия), Институт ботаники Академии наук Республики Узбекистан (ТАШ, Ташкент, Узбекистан), Институт биологии и биотехнологии растений (ИББР, Алматы, Казахстан), Нью-Йоркский ботанический сад (NY, Нью-Йорк, США), Мичиганский университет (MICH, Мичиган, США), и гербарий Кью, Королевские ботанические сады (K, Лондон, Англия). Также использованы электронные платформы: «Global Biodiversity Information Facility» (GBIF), «iNaturalist» (iNaturalist), и «Плантариум. Растения и лишайники России и сопредельных стран: открытый онлайн атлас и определитель растений» (Plantarium). Анализ охватывает материалы за период с 1877 г. по 2024 г. В ходе исследования обнаружена морфологическая внутривидовая изменчивость в окрасах цветков *Iris kuschakewiczii*. Кроме того, в статье представлены результаты анализа восьми гербарных коллекций, электронных баз данных и экспедиционных сборов. В результате была построена карта распространения изучаемого вида, где обозначены 47 местонахождений *I. kuschakewiczii*. Установлено, что в дополнении к ранее указанным флористическим районам, таким как Чу-Илийский и Муюнкумский (Флора Казахстана), и Заилийскому Алатау (Определитель Средней Азии), изучаемый вид также произрастает в Бетпакдалинском флористическом районе. Была уточнена граница распространения вида на территории Казахстана.

Ключевые слова: Iridaceae, *Iris*, гербарий, флористические районы, распространение видов.

А.А. Alikhanova^{1,2}, B.B. Osmonali³,
E.K. Turuspekova², Sh.S. Almerikova^{2*}

¹Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

²Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan

³Institute of Botany and Phytointroduction, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: almerkovakz@gmail.com

The distribution features of the rare species *Iris kuschakewiczii* B. Fedtsch. on the territory of Kazakhstan

The genus *Iris* Tourn. ex L. is one of the largest genera of the family Iridaceae Juss. and the whole order Asparagales, attractive for its highly ornamental properties. The object of this study is a red-book species – *Iris kuschakewiczii* B. Fedtsch., a representative of bulbous irises, as well as subgenus *Scorpiris* Spach, which was reintroduced to the genus *Iris* from *Juno* Tratt. Materials of expedition trips and herbarium sheets from domestic and foreign collection funds were analyzed: Institute of Botany and Phytointroduction (AA, Almaty, Kazakhstan), Lomonosov Moscow State University (MW, Moscow, Russia), V. L. Komarov Botanical Institute (LE, St. Petersburg, Russia), Institute of Botany, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan (TASH, Tashkent, Uzbekistan), Institute of Plant Biology and Biotechnology (IPBB, Almaty, Kazakhstan), New York Botanical Garden (NY, New York, USA), University of Michigan

(MICH, Michigan, USA), Kew Herbarium, Royal Botanic Gardens (K, London, England). Electronic platforms also used in this study were the Global Biodiversity Information Facility (GBIF), iNaturalist (iNaturalist), and «Plantarium. Plants and lichens of Russia and neighboring countries: open online galleries and plant identification guide» (Plantarium). The analysis covers materials for the period from 1877 to 2024. The study revealed morphological intraspecific variability in *Iris kuschakewiczii* flower colours. In addition, the article presents the results of analyses of eight herbarium collections, electronic databases and expedition collections. As a result, a distribution map of the studied species was plotted, where 47 species occurrences are marked. In addition to the previously indicated floristic areas, such as Chu-Ili and Muyunkum (Flora of Kazakhstan), and Zailiyskiy Alatau (Identifier of Central Asia), the studied species is also noted for the Betpakdala floristic area. The boundary of distribution of the species in the territory of Kazakhstan was specified.

Keywords: Iridaceae, *Iris*, herbarium, floristic areas, species distribution.

А.А. Алиханова^{1,2}, Б.Б. Осмонали³,
Е.К. Турусбеков², Ш.С. Альмерекова^{2*}

¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

²Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институты, Алматы, Қазақстан

³Ботаника және фитоинтродукция институты, Алматы, Қазақстан

*e-mail: almerkovakz@gmail.com

Сирек кездесетін *Iris kuschakewiczii* В. Fedtsch. түрінің Қазақстан аумағында таралу ерекшеліктері

Iris Tourn. ex L. туысы – Iridaceae Juss тұқымдасының және бүкіл Asparagales тәртібінің ең үлкен тұқымдасының бірі. және оның жоғары сәндік қасиеттерімен тартатын. Зерттеу нысаны – Қызыл кітапқа енген, Juno Tratt. тұқымдасынан *Iris* тұқымдасына қайта тіркелген баданалы шиқылдақ түрі *Iris kuschakewiczii* В. Fedtsch. Экспедициялық сапарлар материалдары мен отандық және шетелдік коллекциялық қорлардың гербарий парақтары талданды: Ботаника және фитоинтродукция институты (АА, Алматы, Қазақстан), М. В. Ломоносов атындағы Мәскеу мемлекеттік университеті (MW, Мәскеу, Ресей), В. А. Комаров атындағы Ботаника институты (LE, Санкт-Петербург, Ресей), Өзбекстан Республикасы Ғылым академиясының Ботаника институты (TASH, Ташкент, Өзбекстан), Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институты (ӨББИ, Алматы, Қазақстан), Нью-Йорк ботаникалық бағы (NY, Нью-Йорк, АҚШ), Мичиган университеті (MICH, Мичиган, АҚШ), Кью гербарий қоры, Корольдік Ботаникалық Бақтар (K, Лондон, Англия). Сондай-ақ жұмыста келесі электрондық платформалар қолданылды: «Жаһандық биоәртүрлілік туралы ақпарат орталығы» (GBIF), iNaturalist» (iNaturalist), және «Плантариум. Ресейдің және оған жақын елдердің өсімдіктері мен қыналары: ашық онлайн атлас және өсімдіктерге арналған нұсқаулық» (Plantarium). Талдау 1877 жылдан 2024 жылға дейінгі кезеңдегі материалдарды қамтиды. Зерттеу барысында *Iris kuschakewiczii* гүлдерінің түстерінде морфологиялық түршілік өзгергіштік табылды. Сонымен қатар, мақалада сегіз гербарий жинағы, электронды мәліметтер базасы және экспедициялық сапар нәтижелері келтірілген. Нәтижесінде зерттелетін түрдің таралу картасы салынды, онда 47 өсу орны белгіленді. Шу-Іле және Мойынқұм (Флора Қазақстана) және Іле Алатауы (Определитель Средней Азии) сияқты бұрын көрсетілген флористикалық аудандардан басқа, зерттелетін түр Бетпақдала флористикалық ауданына да жатқызылды. Қазақстан аумағында түрдің таралу шекарасы нақтыланды.

Түйін сөздер: Iridaceae, *Iris*, гербарий, флористикалық аймақтар, түрлердің таралуы.

1. Введение

Род *Iris* Tourn. ex L. включает 313 принятых видов ирисов и является крупнейшим родом семейства Iridaceae Juss., а также всего порядка Asparagales (POWO, 2025). Ирисы обладают декоративным и экономическим значением, а также лекарственными свойствами (Jalsrai, et al., 2018; Khatib, et al., 2022; Рамазанова, 2023; Айтжанова, 2024). В то же время систематика рода *Iris* является недостаточно изученной ввиду наличия множества подродов со сложной таксо-

номией (Choi and Lee, 2024; Chen, et al., 2024). Такие роды как *Iridodictyum* Rodion., *Juno* Tratt., *Xiphion* Mill. и другие, первоначально были включены в более обширный род *Iris*, что сделало его более гетерогенным и затруднило определение на основе морфологических признаков (Mavrodiev, et al., 2014). В ранних классических работах, от рода *Iris* были выделены как самостоятельные роды *Iridodictyum*, *Juno*, *Xiphion* и другие (Zhao, et al., 1985; Родиненко, 1987; Mathew, 1989). На данный момент, указанные роды вновь были возвращены системой APG

IV (Angiosperm Phylogeny Group, 2016, <http://www.mobot.org/>) в состав рода *Iris*, что усилило гетерогенность рода и продолжает затруднять таксономическое определение видов на основе использования морфологических признаков (Sennikov, et al., 2023).

Центральноазиатские виды ирисов изучались со времен первых исследователей-ботаников в 1870-х годах, когда эти виды были завезены в европейские ботанические сады и начали культивироваться в них (Федченко и Федченко, 1905). Первые попытки обобщить ботанические знания о видах ирисов Центральной Азии были предприняты О. А. Федченко (1924) и Б. А. Федченко (1935). Дальнейшие монографические редакции были сделаны А. И. Введенским (Введенский, 1935; 1963; 1971), Н. В. Павловым и П. П. Поляковым (Флора Казахстана, 1958) и О. В. Черновой (Чернева, 1971).

Таксономический пересмотр рода был проведен Г. И. Родионенко (1961), описавшим морфологические отличия подродов *Juno* и *Xiphium*, такие как особенности луковиц или клубнелуковиц, дорзовентральную структуру срединного листа, а также анатомическую структуру, хорошо представленную запасующей тканью. Онтогенез растений рода отличается своеобразием, проявляемым на ранних этапах вегетации. Автор предложил выделить *Juno* в самостоятельный род, обосновывая это значительными эволюционно-генетическими различиями между группами, несмотря на «ирисовидность» цветка (Родионенко, 1961).

Таксономическая редакция рода *Iris* для флоры Центральной Азии была опубликована Ф. О. Хасановым и Н. Рахимовой (Khassanov & Rakhimova, 2012). В этой работе представлен обновленный контрольный список с номенклатурной информацией, замечаниями по видам, распространением по странам, но без детальных морфологических описаний. В список вошли три подсемейства (*Iris*, *Scorpiris* и *Hermodyctyloides* Spach.), четыре секции (*Limniris* Tausch, *Hexapogon* (Bunge ex lef.) Baker, *Juno* и *Physocaulon* (Rodion.) Mathew & Wendelbo, ex Wendelbo), две подсекции (*Hexapogon* Benh. ex Benh. et Hook. G, *Oncocyclus* (Siemssen) Benh. ex Benh. et Hook.) и 54 вида ирисов.

Б. Мэтью, специалист Американского общества ирисоводов (American Iris Society, <https://www.irises.org/>), в своей работе «Некоторые аспекты ирисов группы Юнона» отмечал, что представителей подрода *Scorpiris* на всей планете насчитывается около 55 видов, а центром про-

исхождения ирисов *Juno* является Центральная Азия (Mathew, 2000). В вышеуказанной работе Ф. О. Хасанова и Н. Рахимовой упоминается о произрастании, как минимум, 30 видов подрода *Scorpiris* в Центральной Азии (Khassanov & Rakhimova, 2012).

На территории Казахстана насчитывается около 30 видов дикорастущих ирисов (Флора Казахстана, 1958; Байтенов, 2001), 7 из которых занесены в Красную книгу Казахстана (Красная книга Казахстана, 2014). По классификации Г. И. Родионенко (Родионенко, 1961) казахстанские виды ирисов относятся к под родам *Iris*, *Xyridion*, *Limniris* и *Juno*, по Б. Мэтью (Mathew, 1989) – к *Limniris*, *Hermodyctyloides* и *Scorpiris*, а по последней классификации Ф. О. Хасанова и Н. Рахимовой (Khassanov & Rakhimova, 2012) казахстанские виды рода *Iris* принадлежат к под родам *Iris*, *Scorpiris* и *Hermodyctyloides*. Распространение некоторых казахстанских видов рода *Iris* было описано Б. А. Омаровой и другими (2019). Авторами описаны ареалы произрастания 21 вида, включая территории биосферных резерватов. М. С. Рамазановой и соавторами (Рамазанова, 2023) были изучены анатомо-морфологические признаки органов (листья, стебли и корни) у некоторых казахстанских видов рода *Iris*. В частности, исследованы анатомо-морфологические строения корней *I. lactea* f. *biglumis* (Vahl) Kitag. (*I. pallasii* Fisch. ex Trevir.), *I. alberti* Regel, *I. halophila* var. *sogdiana* (Bunge) Skeels (*I. sogdiana* Bunge). Установлена положительная корреляция между анатомическим строением корней этих видов и экологическими условиями их произрастания. Также проведен сравнительный морфологический анализ надземных органов пяти видов ирисов: *Iris tenuifolia* Pall., *Iris ruthenica* Ker Gawl., *Iris pallasii* Fisch. ex Trevir., *Iris halophila* Pall., *Iris scariosa* Willd. ex Link, которые произрастают на территории Центрального Казахстана (Айтжанова и др., 2024). Авторы статьи отмечают, что полученные результаты могут быть основой для расширения сырьевой базы Казахстана новыми лекарственными растениями (Айтжанова и др., 2024).

Одним из важных представителей рода *Iris* является редкий (II категория) вид *Iris kuschakewiczii* В. Федтш., занесенный в Красную книгу Казахстана (Красная книга Казахстана, 2014). Впервые данный вид был описан в 1905 году Б. А. Федченко на основании коллекций, собранных российским ботаником А. А. Кушакевичем в 1877 году. Типовой экземпляр *I. kuschakewiczii* хранится в Ботаническом ин-

ституте имени В. Л. Комарова, Санкт-Петербург, Россия (Образец LE 01236886). Данный вид произрастает в небольшом ареале, и, согласно литературным источникам (Флора Казахстана, 1958; Иващенко, 2005), встречается в флористических районах Чу-Илийский и Заилийский Алатау (Жамбылская и Алматинская области). Он растет в предгорьях и невысоких горах, на щебнистых склонах, красноцветных глинистых буграх (Флора Казахстана, 1958; Иващенко, 2005). Ареал вида лишь незначительно выходит за пределы Казахстана – в Республику Кыргызстан (Северный Тянь-Шань) (Sennikov, et al., 2023).

Отдельные популяции *I. kuschakewiczii* были исследованы на основе онтоморфогенетических особенностей и возрастной структуры (Кокорева и др., 2013). Авторы впервые представили характеристику возрастных состояний по морфологическим признакам и изучили популяционный анализ с учетом высоты мест произрастания в Чу-Илийских горах. Согласно полученным результатам, *I. kuschakewiczii* в пределах своего ареала произрастает на склонах различных экспозиций в разнообразных растительных сообществах с плотностью популяций от 5,48 до 46,7 особей на 1 м². Было показано, что популяции ириса Кушакевича в Чу-Илийских горах наиболее полно представлены на высотах выше 900 м, где обнаружен полный возрастной спектр растений – от ювенильных до генеративных особей (Кокорева и др., 2013).

Существует ряд публикаций по изучению рода *Iris* на основе молекулярной генетики (Ikinci, et al., 2011; Lazkov, et al., 2014; Mavrodiev, et al., 2014), номенклатуры (Boltenkov, 2016; Sennikov, 2023) и морфоанатомии (Кокорева, 2013; Celep, 2022; Konarska, 2022; Рамазанова, 2023). Опубликована монография «The genus *Iris* L. s. l. (Iridaceae) in the Mountains of Central Asia», охватывающая все виды рода *Iris*, произрастающих на территории Центральной Азии, в том числе Казахстана (Sennikov, 2023).

Анализ опубликованной литературы по изучению *I. kuschakewiczii* свидетельствует о том, что популяции казахстанских видов исследованы не в полном объеме. В целом, несмотря на ряд исследований некоторых видов, таких как *Iris (Juno) magnifica* Vved. (Rakhimova, et al., 2016; Рахимова, 2022), *Juno hippolyti* (Vved.) Kamelin и *J. narbuti* (O. Fedtsch.) Vved. (Duschanova, et al., 2018), *Iris khassanovii* Tojibaev & Turginov (Tojibaev & Turginov, 2014), *Iris orchiioides* Carriere (Веселова и др, 2023), изучение представителей подрода *Scorpiris* остается фрагмен-

тарным. Вместе с этим, наличие собранного гербарного материала *I. kuschakewiczii*, свидетельствует о возможности более детального изучения географии произрастания данного вида в Казахстане. В связи с этим, целью нашего исследования было изучение ареала распространения и особенностей морфологии *I. kuschakewiczii* на основе результатов собственных экспедиционных исследований и анализа гербарных листов отечественных и зарубежных коллекционных фондов, и различных электронных платформ.

2. Материалы и методы исследования

Объектом данного исследования является редкий вид *I. kuschakewiczii* подрода *Scorpiris*, занесенный в Красную книгу флоры Казахстана (2014).

Для проведения исследований были использованы методы ботаники (Горышина, 1979; Култиясов, 1982), в том числе маршрутно-рекогносцировочный (Скворцов, 1977; Быков, 1979; Мухитдинов, 2011). Маршрутами были охвачены флористические районы Заилийский-Кунгей и Чу-Илийский. Анализ гербарных образцов также проводился на основе коллекций Института ботаники и фитоинтродукции (АА, Алматы) Комитета лесного хозяйства и животного мира МЭПР РК, Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова (MW, Москва, Россия), Ботанического института имени В. Л. Комарова (LE, Санкт-Петербург, Россия), Института ботаники Академии наук Республики Узбекистан (TASH, Ташкент, Узбекистан), и Института биологии и биотехнологии растений (ИББР, Алматы, Казахстан). Также были обнаружены казахстанские ваучеры в коллекциях Нью-Йоркского ботанического сада (NY, Нью-Йорк, США), Мичиганского университета (MICH, Мичиган, США), и в самых обширных гербариях Кью, Королевские ботанические сады (K, Лондон, Англия). Для более широкого охвата ареала распространения были проанализированы электронные базы данных, такие как «Global Biodiversity Information Facility» (GBIF, <https://www.gbif.org/>), «iNaturalist» (iNaturalist, <https://inaturalist.org/>), и «Плантариум. Растения и лишайники России и сопредельных стран: открытый онлайн атлас и определитель растений» (Plantarium, www.plantarium.ru). Для определения собранного материала были использованы основные ботанические издания, такие как «Флора Казахстана» (Флора Казахстана, 1958), «Определитель растений Средней Азии и Ка-

казахстана» (Введенский, 1971), и «Иллюстрированный определитель растений Казахстана» (Иллюстрированный определитель растений Казахстана, 1969). Названия флористических районов приведены согласно «Флоре Казахстана» (Флора Казахстана, 1958). Латинские названия растений приведены в соответствии с базами данных International Plant Names Index (IPNI, URL: <https://www.ipni.org/>) и Plants of the World Online (POWO, URL: <https://powo.science.kew.org/>). Для построения карты распространения вида использовалась программа QGIS 3.28 (<https://www.qgis.org/>).

3. Результаты исследования и их обсуждение

Ниже приведен классифицированный по флористическим районам Казахстана Конспект основных находок (произрастания) ириса Кушакевича, выявленных при анализе вышеуказанных гербарных фондов, электронных баз данных и экспедиционных выездов. В результате поиска в электронных базах данных были выявлены повторяющиеся наблюдения, по тексту приведены основные наблюдения. По результатам обработки полученной информации было выявлено произрастание вида *I. kuschakewiczii* в четырех флористических районах: Заилийский – Кунгей Алатау, Чу-Илийский, Мойынкумский, Бетпакдалинский.

Точки сборов по нашим экспедиционным работам.

Чу-Илийский флористический район: «Алматинская обл. Жамбылский р-н, Талапский округ, около памятника Танбалы. 887 м над ур. м., N43°48'10" E75°32'06" Б. Б. Осмонали. 9 IV 2017» (AA).

Заилийский – Кунгей Алатауский флористический район: «Алматинская обл. Жамбылский р-н, 1 км южнее поселка Самсы, вблизи фазенды. 809 м над ур. м., N43°18'16" E76°06'50" Б. Б. Осмонали. 9 IV 2017»; «Алматинская обл., Жамбылский р-н, 3,3 км выше от с. Дегерес. 1074 м над ур. м., N43°16'19" E75°46'49" Б. Б. Осмонали. 14 IV 2021»; «Алматинская обл., Жамбылский р-н, 1,5 км восточнее от с. Шиен. 1144 м над ур. м., N43°09'05" E75°53'49" Б. Б. Осмонали. 14 IV 2021»; «Жамбылская обл., Кордайский перевал, в 1 км от трассы А-2. 949 м над ур. м., N43°16'47" E74°49'56" Б. Б. Осмонали. 10 IV 2022»; «Западная оконечность Заилийского Алатау, Жамбылская обл., Кордайский р-н, Кордайский перевал, на спуске. 1070 м над ур. м.,

N43°22'60" E74°46'32" Б. Б. Осмонали, Г. К. Мухадил. 13 IV 2024».

Данные, представленные в гербарных фондах AA, MW, LE, TASH, K, NY, MICH, и ИББР.

Чу-Илийский флористический район: «Чу-Илийские горы. Каменистый склон ущелья р. Чокпар близ ст. Чокпар. А. А. Дмитриева. 07 V 1936» (AA); «Чу-Илийские горы. Щебнистые бугры и каменистая равнина близ ст. Чокпар. А. А. Дмитриева. 27 IV 1937» (AA); «Чу-Илийские горы. Каменистые вершины гор близ станции Чокпар. А. А. Дмитриева. 28 IV 1937» (AA); «Алмаат. обл., каменистые южные склоны Чу-Илийских гор за ст. Отар. Цв. бледно-голубые с черным пятном на отгибе. Н. В. Павлов. 22 VI 1939» (MW0816701); «Алмаат. обл., щебнистые красные бугры в предгорьях Чу-Илийских гор близ ст. Чокпар. Н. В. Павлов. 23 IV 1939» (MW0816698, MW0816699); «Чу-Илийские горы. Хребет Ак-Тас (к с-в от пос. Красногорского). На южных каменистых склонах средней полосы гор. В. П. Голоскоков. 25 V 1942» (AA); «Чу-Илийские горы. Плато между р. р. Чокпар и Кер-Булаком. Щебнистые склоны и предгорья. В. В. Фисюн. 20 IV 1946» (AA); «Чу-Илийский р-н. Горы Ун-гурли, около аула Ун-гурли. Южный склон. В. В. Фисюн. 31 III 1947» (AA); «Чу-Илийские горы. В. П. Бочанцев. 23 IV 1949» (TASH); «Чу-Илийские горы. Горки Карашагыл. Платообразная вершина склонов. А. О. Оразова, В. В. Фисюн. 16 IV 1976» (MW0816700); «Чу-Илийские горы. Горки Карашагыл, на западном щебнисто-каменистом склоне. А. О. Оразова, В. В. Фисюн. 16 IV 1976» (K002930391, NY04354437, MICH1723183, LE 01236881, LE 01236885); «Чу-Илийские горы в 60 км сев.-зап. Отара, по дороге Отар – Аксуек, склоны соп. Л. М. Грудзинская. 01 VI 1979» (AA); «Алма-Атинская обл. Чу-Илийский горный массив, гора Тамлайшоки. Л. М. Грудзинская. 02 VI 1979» (AA); «Чу-Илийские горы. Анрахай. г. Аракой. Б. А. Винтерголлер. 20 V 1980» (AA); «Алматинская обл. Куртинское водохранилище. За мостом. N43°52'51,2" E76°19'39,0" Г. М. Кудабоева. 04 IV 2017» (AA); «Чу-Илийские горы. 17 км от пос. Карабастау по старой Карагандинской трассе, вглубь массива, по каменистым выходам. П. В. Веселова. 09 IV 2017» (AA).

Заилийский, – Кунгей Алатауский флористический район: «Курдайский перевал. А. А. Кушакевич. 31 III 1877» (LE); Курдайский перевал. А. А. Кушакевич. 20 III 1879» (LE); «Курдайский перевал. ущ. Выше перевала ст. Курдай. Щебн. склоны. В. С. Титов. 29 IV 1920» (LE 01236884);

«Верненский у. Между Самсу и Торгапом. Южные склоны. В. С. Титов. (Опр. Г. Лазков 2015) 27 IV 1920» (LE 01236882, LE 01236883); «Заилийский Алатау. Горы Сюгаты. М. Г. Попов. 19 V 1937» (АА); «Хребет Турайгыр, на щебнистом склоне. А. С. Лазаренко. 19 IV 1942» (АА); «Восточная часть хр. Турайгыр. Каменистые склоны. С. А. Арыстангалиев. 29 V 1956» (LE 01236888); «Алматинская обл. 1–2 км выше поселка Самсы, каменисто-щебнистый склон. N43°15'41.73» E76°06'26.37» А. А. Ивашенко. 27 III 2016» (ИББР), «Алматинская обл., Енбекшиказахский р-н, в 3 км от пос. Нурлы, горы Богаты. N43°38'31.6» E78°39'08.9 А. Түрсынбай. 24 III 2021» (АА).

Бетпакдала: «Южная окраина Бетпак-дала. Саксаул-дала. На супесчаной почве. А. О. Оразова, В. В. Фисюн. 24 IV 1976» (АА).

Наблюдения в электронных платформах GBIF, iNaturalist, Plantarium:

Чу-Илийский флористический район: «Чу-Илийские горы, ур. Тамгалы, сухой щебенистый склон. В. Г. Эпиктетов. 31 III 2007» (Plantarium); «Мойынкумский р-н, горы Хантау, щебнистое обнажение в степи. П. Горбунов. 15 IV 2015» (Plantarium); «Жамбылская обл., Чу-Илийские горы, каменистый холм, подножие, щебнистые суглинки. 03 IV 2022. И. В. Евдокимов» (Plantarium); «Жамбылский район. с. Горный. Е. Муравьева. 31 III 2024» (GBIF, iNaturalist); «Жамбылский район. Куртинское водохранилище. А. В. Дубынин. 2 IV 2024» (GBIF, iNaturalist);

«Алматинская обл., Чу-Илийские горы, ур. Тамгалы, задернованный каменистый склон. В. Панкратов. 1 IV 2024» (Plantarium); «Енбекшиказахский район. Чарын. Е. И. Киричок. 4 IV 2024» (GBIF, iNaturalist).

Заилийский – Кунгей Алатауский флористический район: «Жамбылский р-н. N43°16'43" E75°47'32" В. Г. Эпиктетов. 23 IV 2006» (GBIF); «Сев. Тянь-Шань, хр. Торайгыр, пер. Аласа. В. Колбинцев. 20 IV 2011» (Plantarium); «Алматинская обл., Илийский р-н. N43°50'33.0» E76°21'14.7» О. А. Сивоконь. 7 IV 2024» (GBIF, iNaturalist); «Алматинская обл., Илийский р-н. N43°49'25.8» E76°21'32.7» Л. Абрамова. 9 IV 2024» (GBIF, iNaturalist); «Жамбылская обл., пер. Кордай, каменистая вершина сопки. N43°16'42.0» E74°51'23.0» В. Г. Колбинцев. 10 IV 2022» (Plantarium).

Мойынкумский флористический район:

«Мойынкумский р-н, N44°47'12.5» E73°12'05.5» Д. Алибеков. 12 IV 2024» (GBIF, iNaturalist); «Мойынкумский р-н, N44°49'30.5» E73°15'51.8» А. Г. Каптенкина. 14 IV 2024» (GBIF, iNaturalist); «Мойынкумский р-н. Хантау. N44°45'47.4» E73°17'44.7» С. А. Кубентаев. 12 IV 2024» (GBIF, iNaturalist).

Проведенный анализ позволил выявить гербарные коллекции с относительно большим количеством гербарных листов *I. kuschakewiczii*. В таблице 1 приведена информация по количеству ваучеров по гербарным коллекциям и основным наблюдениям по электронным базам.

Таблица 1 – Количество ваучеров вида *Iris kuschakewiczii* по гербарным коллекциям и основным наблюдениям по электронным базам

Гербарная коллекция / электронная база	Флористический район				Всего:
	Чу-Илийский	Заилийский – Кунгей Алатау	Мойынкумский	Бетпакдала	
АА	11	3	-	1	15
MW	4	-	-	-	4
LE	2	6	-	-	8
TASH	1	-	-	-	1
ИББР	-	1	-	-	1
K	1	-	-	-	1
NY	1	-	-	-	1
MICH	1	-	-	-	1
GBIF, iNaturalist	3	3	3	-	9
Plantarium	4	2	-	-	6
Всего:	28	15	3	1	47

Следует отметить, что после первоначального открытия вида А. А. Кушакевичем в 1877 году, а также его повторного обнаружения в 1879 году, гербарные коллекции не пополнялись новыми образцами до 1935 года.

Большинство проанализированных гербарных листов в различных гербарных фондах (AA, MW, LE, K, NY, и MICH) были собраны А.О. Оразовой и В. В. Фисюн и переданы в количестве нескольких листов. До 1980 года эти коллекции активно пополнялись, в настоящее время новые образцы добавляются крайне редко. В указанных электронных базах данных, таких как GBIF, iNaturalist и Plantarium, представлены точные координаты и фотографии *I. kuschakewiczii*, что позволяет провести поиск и сбор новых популяций для последующего генетического анализа.

Проведенный выше анализ позволяет уточнить представление о наибольшей концентрации распространения *I. kuschakewiczii* в Чу-Илийском флористическом районе, а также подтверждают его произрастание в переходной зоне, примыкающей к Мойынкумскому флористическому району, а не в пределах самого района (Рисунок 1). К тому же было отмечено, что изучаемый вид входит в территорию Бетпакдалинского флористического района. Следует выделить, что, согласно фундаментальной сводке, «Определитель растений Средней Азии», данный вид отмечается и для Киргизского Алатау (Введенский, 1971), но из-за недостатка подтверждающих литературных и гербарных данных, данная территория не была включена в наш анализ.

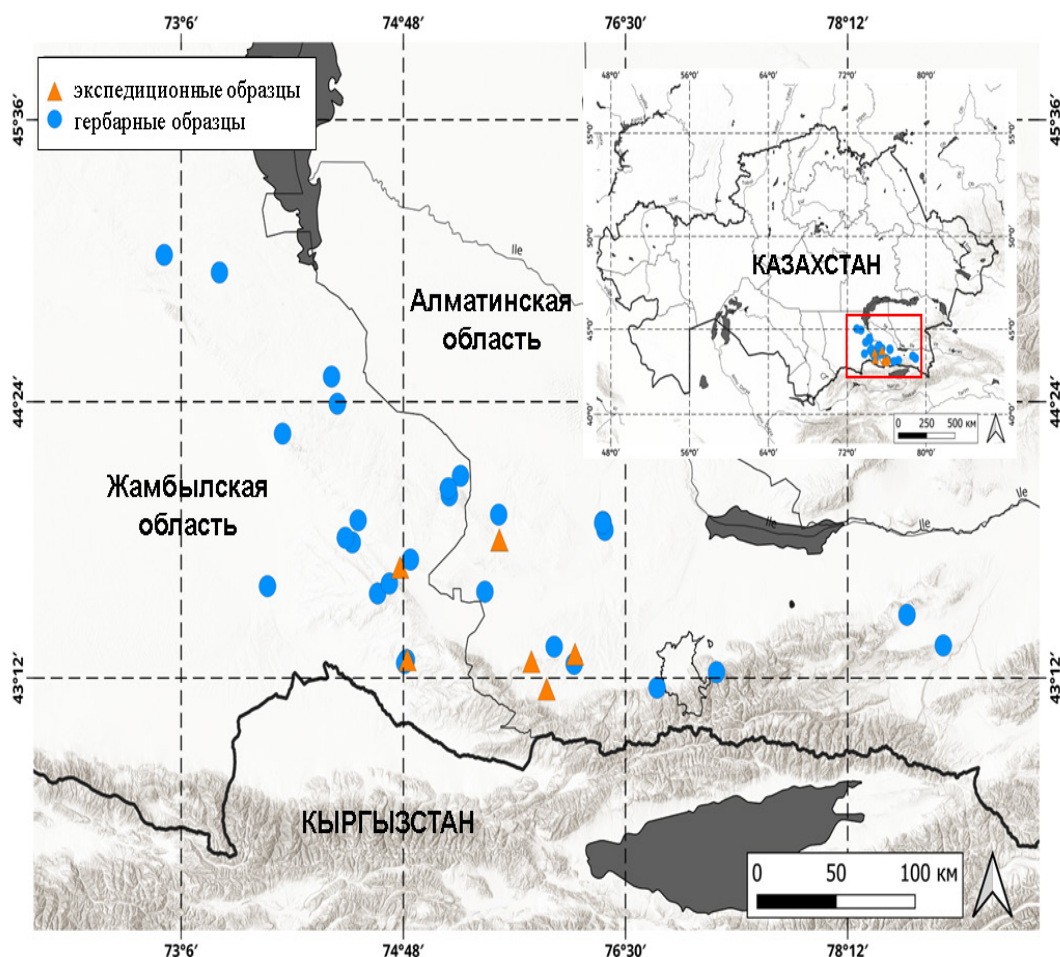


Рисунок 1 – Карта распространения вида *Iris kuschakewiczii* на территории Казахстана согласно проанализированным гербарным и экспедиционным данным

Относительно экологической приуроченности по отношению к воде (Горышина, 1979; Култиясов, 1982) – вид относится к мезопетрофитам – растет по щебнистым склонам и площадкам, на красноцветных глинистых буграх в предгорьях. По классификации Раункиера (Raunkiær, 1937) вид относится к геокриптофитам, у которых при неблагоприятном сезоне почки возобновления и окончания побегов находятся под землей на некоторой глубине.

I. kuschakewiczii может быть отнесен к горнолесному поясу, который является нижним уровнем высотной поясности в горах умеренного пояса. Также при диагностике данных можно сделать вывод о том, что этот вид растет на высоте 410–930 м над уровнем моря в нижних склонах гор, поскольку основная масса гер-

барных листов была найдена в этом высотном диапазоне. Таким образом, высотный интервал местообитаний занимает 520 метров, что указывает на отличие от результатов исследования *I. kuschakewiczii* в Чу-Илийских горах, где высота указывается 700–1000 м над уровнем моря (Кокорева, 2013). Исходя из этого, можно предположить, что на территории Чу-Илийских гор вид располагается выше, чем в других местах произрастания.

На основе анализа гербарных материалов и современных литературных данных установлено, что *I. kuschakewiczii* не является эндемиком Казахстана, так как его основной ареал охватывает также территорию Республики Кыргызстан, что подтверждают результаты А. Сенникова и соавторов (Sennikov, et al., 2023).

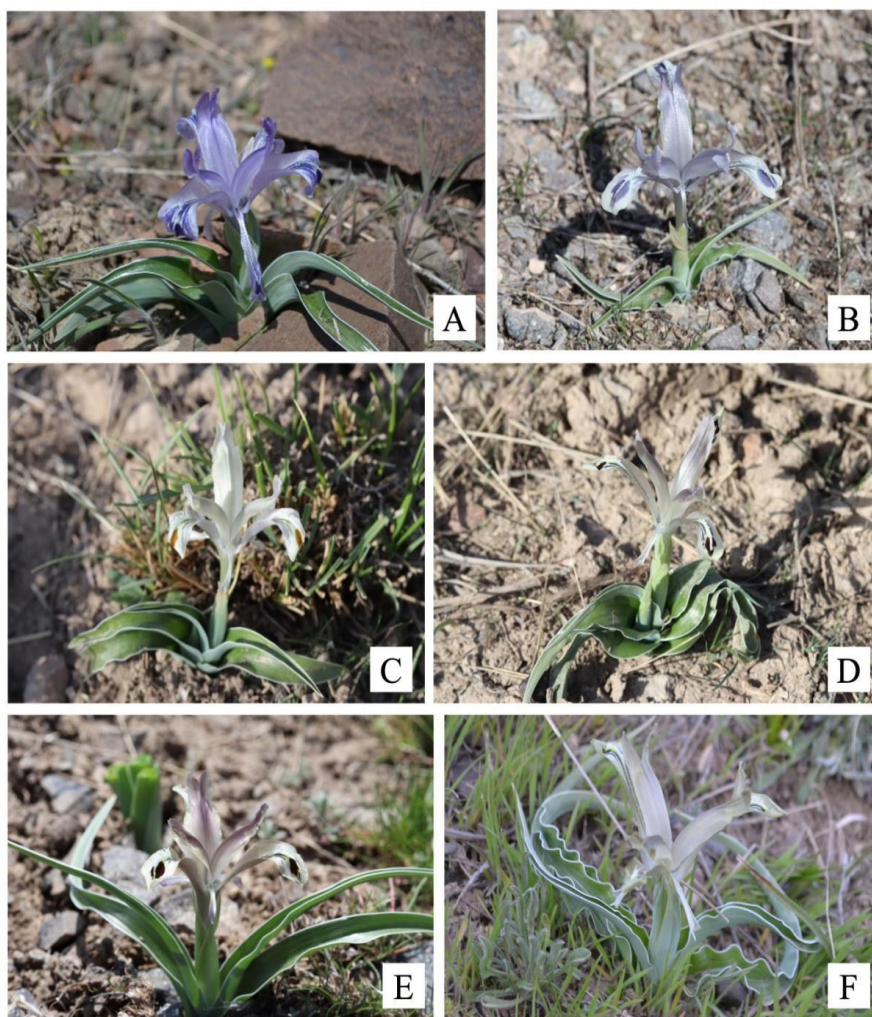


Рисунок 2 – Морфологическая изменчивость окраски цветка вида *Iris kuschakewiczii* в природных популяциях Жамбылского района Алматинской области: А – фиолетовый; В – светло-фиолетовый; С – белый; D, Е – бело-фиолетовый; F – бледно-зеленый

Известно, что представители этого рода демонстрируют удивительное разнообразие окрасок цветков – от чрезвычайно темных, пурпурных, фиолетовых и розовых до желтых и белых (Roguz, et al., 2020). Объясняется это возможной связью с широким морфологическим разнообразием, опылением и производством нектара, а также средой обитания (Roguz, et al., 2020). Во время наших экспедиционных выездов были обнаружены растения с различной окраской цветков этого вида, от фиолетового до белого и бледно-зеленого (Рисунок 2). Так, различный окрас цветков был отмечен в растениях Дегересской популяции (Жамбылский район, Алматинская область, Рисунок 2). По всей видимости, разнообразие окраски цветков в различных популяциях данного вида может быть использовано в качестве модельного признака для изучения внутривидового разнообразия *I. kuschakewiczii*. Также, собранный материал свидетельствует о необходимости изучения генетического разнообразия и определения генетической структуры популяций *I. kuschakewiczii* на основе использования высокополиморфных типов ДНК-маркеров

Известно, что большая часть естественной среды обитания *I. kuschakewiczii* схожа с ареалом произрастания узкого эндемика *I. almaatensis*, вида с сокращающимся ареалом в результате сельскохозяйственной практики (Иващенко, 2005; Красная книга Казахстана, 2014). Анализ литературного обзора свидетельствует о том, что некоторые источники обозначают *I. almaatensis* как зеленую внутривидовую форму или экотип *I. kuschakewiczii* f. *almaatensis*, объясняя это окрасом цветков вида с коричневыми пятнами (Кокорева, 2013; Sennikov, et al., 2023). На рисунке 2F, обнаружена окраска цветков, которая похожа на цветки *I. kuschakewiczii* f. *almaatensis*, то есть цветок желто-зеленоватый с коричне-

вым пятном на отгибе (Флора Казахстана, 1958; Ikinici, 2011; Sennikov, et al., 2023). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что *I. almaatensis* является внутривидовой формой *I. kuschakewiczii*. Для подтверждения данного вывода необходимо использовать дополнительные молекулярно-филогенетические исследования внутри подрода *Scorpiris*.

Заключение

В результате проведенного скрининга и анализа гербария *I. kuschakewiczii*, хранящихся в крупных гербарных фондах (AA, MW, LE, TASH, ИББР, K, NY, MICH), электронных источниках «GBIF», «iNaturalist», «Plantarium», доступных литературных данных, и результатов наших экспедиционных выездов, в общей сложности отмечены 47 мест произрастания изучаемого вида на территории Казахстана. Самая высокая насыщенность произрастания приходится на Чу-Илийский флористический район, где было обнаружено 28 точек произрастания. Также были отмечены новые точки для Бетпакдалинского флористического района, где ранее в гербарных этикетках указывалась только крайняя южная часть данного флористического района. Обнаруженная изменчивость окраски цветков *I. kuschakewiczii*, спорная межвидовая связь *I. kuschakewiczii* и *I. almaatensis* требует дальнейшего исследования с использованием молекулярно-генетических методов.

Источник финансирования

Данная статья была подготовлена в рамках грантового проекта AP23483825, финансируемого Министерством науки и высшего образования Республики Казахстан (2024–2026).

Литература

1. Aitzhanova, L.A., Kali, A.K., Ishmuratova, M.Yu. (2024). Comparative morphological study of aboveground organs of plants of the genus *Iris* L. // Materials of the international scientific – practical conference «Science and education in the modern world» dedicated to the 125th anniversary of K.I. Satpayev. – Karagandy: EPD “Bolashak-Baspa”. – P. 374-377.
2. American Iris Society. <https://www.irises.org/>
3. Boltenev, E.V. (2016). Typification and nomenclatural notes on twenty eight names of juno irises (Iridaceae) from Central and South Asia. *Phytotaxa*, 260(3), 223-234.
4. Celep, A., Tugay, O., Dural, H., Ulukus, D., Bahadur, S., & Celep, F. (2022). Comparative root and leaf anatomy of the Turkish *Iris* subgenus *Scorpiris* and their taxonomic and phylogenetic utility. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 156(6), 1325-1335.
5. Chen, M. L., Feng, Y. M., Zhang, X. Y., Xu, F., Kang, Q. Q., Ning, X. J., ... & Yu, X. F. (2024). Phylogenetic study of *Iris* plants in China based on chloroplast matK gene and nuclear ITS gene.
6. Choi, T. Y., & Lee, S. R. (2024). Complete plastid genome of *Iris orchoides* and comparative analysis with 19 *Iris* plastomes. *Plos one*, 19(4), e0301346.

7. Duschanova, G., Rahimova, N., Abdullaeva, A., Ruzmatov, E. and Yusupova, D. (2018) Adaptive Features of Vegetative Organs *Juno hippolyti* (Vved.) Kamelin and *J. narbuti* (O. Fedtsch.) Vved. (Juno Tratt.) in the Conditions of the Kyzylkum Desert. *American Journal of Plant Sciences*, 9, 1952-1962. doi: 10.4236/ajps.2018.99141.
8. İkinci, N., Hall, T., Lledo, M. D., Clarkson, J. J., Tillie, N., Seisums, A., ... & Chase, M. W. (2011). Molecular phylogenetics of the juno irises, *Iris* subgenus *Scorpiris* (Iridaceae), based on six plastid markers. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 167(3), 281-300.
9. iNaturalist community. Observations of *Iris kuschakewiczii* B.Fedtsch. from Kazakhstan observed on/between 2005-2024. Exported from <https://www.inaturalist.org> on [14.02.2025]
10. *Iris kuschakewiczii* B.Fedtsch. in GBIF Secretariat (2023). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2025-01-14.
11. Jalsrai, A., Reinhold, A., & Becker, A. (2018). Ethanol *Iris tenuifolia* extract reduces brain damage in a mouse model of cerebral ischaemia. *Phytotherapy Research*, 32(2), 333-339.
12. *Juno kuschakewiczii* (B. Fedtsch.) Pojark. // Plantarium. Plants and lichens of Russia and neighboring countries: open online galleries and plant identification guide. URL: <https://www.plantarium.ru/lang/en/page/view/item/21296.html> (accessed on 14 Jan 2025).
13. Khassanov, F. O., & Rakhimova, N. (2012). Taxonomic revision of the genus *Iris* L.(Iridaceae Juss.) for the flora of Central Asia.
14. Khatib, S., Faraloni, C., & Bouissane, L. (2022). Exploring the use of iris species: Antioxidant properties, phytochemistry, medicinal and industrial applications. *Antioxidants*, 11(3), 526.
15. Konarska, A. (2022). Morphological, anatomical, ultrastructural, and histochemical study of flowers and nectaries of *Iris sibirica* L. *Micron*, 158, 103288.
16. Lazkov, G. A., Sennikov, A. N., Koichubekova, G. A., & Naumenko, A. N. (2014). Taxonomic corrections and new records in vascular plants of Kyrgyzstan, 3.
17. Mathew, B. (1989). *Iris*.
18. Mathew, B. (2000) Some aspects of the 'Juno group' of irises. *Annali di Botanica* 58: 113– 122.
19. Mavrodiev, E. V., Martínez-Azorin, M., Dranishnikov, P., & Crespo, M. B. (2014). At least 23 genera instead of one: The case of *Iris* L. sl (Iridaceae). *PLoS One*, 9(8), e106459.
20. POWO (2025). "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <https://powo.science.kew.org/> Retrieved 26 January 2025."
21. QGIS.org, 2025Y. QGIS Geographic Information System. QGIS Association. <http://www.qgis.org>
22. Rakhimova, N., Duschanova, G., Abdullaeva, A. and Temirov, E. (2020) Anatomical Structure of Aboveground and Underground Organs of the Rare Endemic Species *Iris (Juno) magnifica* vved., Growing under Natural Conditions of the Zeravshan Ridge, Samarkand Mountains. *American Journal of Plant Sciences*, 11, 1453-1466. doi: 10.4236/ajps.2020.119105.
23. Raunkiaer Ch. Plant life forms / transl. from Danish by H. Gilbert-Carter. – Oxford: Clarendon Press, 1937. – vi, 104 p.
24. Roguz, K., Gallagher, M. K., Senden, E., Bar-Lev, Y., Lebel, M., Helicz, R., & Sapir, Y. (2020). All the colors of the rainbow: diversification of flower color and intraspecific color variation in the genus *Iris*. *Frontiers in plant science*, 11, 569811.
25. Sennikov, A., Khassanov, F., Ortikov, E., Kurbonaliyeva, M., & Tojibaev, K. S. (2023). The genus *Iris* L. sl (Iridaceae) in the Mountains of Central Asia biodiversity hotspot. *Plant Diversity of Central Asia*, 2(1), 1-104.
26. The Angiosperm Phylogeny Group, M. W. Chase, M. J. M. Christenhusz, M. F. Fay, J. W. Byng, W. S. Judd, D. E. Soltis, D. J. Mabberley, A. N. Sennikov, P. S. Soltis, P. F. Stevens, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV, *Botanical Journal of the Linnean Society*, Volume 181, Issue 1, May 2016, Pages 1–20, <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
27. Tojibaev, K. S., & Turginov, O. (2014). A new species and a new combination of *Iris* subgenus *Scorpiris* (Iridaceae) from Central Asia (Hissar Range, Pamir-Alai). *Phytotaxa*, 158(3), 224-228.
28. Zhao, Y.-T.; Noltie, H.J.; Mathew, B. Iridaceae. In *Flora of China*; Wu, Z.-Y., Raven, P.H., Eds.; Science Press: Beijing, China; Missouri Botanical Garden Press: St. Louis, MO, USA, 2000; Volume 24, pp. 297–313.
29. Айтжанова, Л.А., Қали, А.К., Ишмуратова, М.Ю. (2024). Сравнительное морфологическое исследование надземных органов растений рода *Iris* L. // Материалы международной научно – практической конференции «Наука и образование в современном мире» посвященная 125 – летию К.И.Сатпаева. – Караганды: РИО «Болашақ-Баспа» 2024. – С. 374-377.
30. Байтенов, М. С. (2001). Флора Казахстана в 2-х томах. –Т. 2. Родовой комплекс флоры. Алматы: Гылым, 65.;
31. Быков, Б.А. (1983). Экологический словарь. – Алма-Ата: Наука. 215 с.
32. Введенский, А. И. (1935) *Iris* sect. *Juno*: Флора СССР. Том 4, Комаров В.Л. и др. Т.4. Издательство Академии Наук СССР. М.- Л. С. –557–576.
33. Введенский, А. И. (1963) *Iridaceae* Juss.: (ред.) П. Н. Овчинников. Флора Таджикской ССР. Т. 2. Издательство Академии Наук СССР. Ленинград. –С.370–396 & 425–426.
34. Введенский, А. И. (1971). *Juno* Tratt.: Введенский, А. И., & Ковалевская, С. С. Определитель растений Средней Азии: критический конспект флоры. *Conspectus Florae Asiae Mediae*, Т. 2. Science Publishers. Ташкент. – С.132–139 & 321–323.
35. Веселова, П. В., Кудабаева, Г. М., Ситпаева, Г. Т., Абдилданов, Д. Ш., & Маслова, О. М. (2023). Особенности распространения редкого вида *Iris Orchioides* Carriere (*Juno Orchioides* (Carriere) Vved.) в Казахстане. *Ботаника и ботаники в меняющемся мире*, 41.
36. Горышина, Т.К. Экология растений. – М.: Высш.школа, 1979. – 362 с

37. Ивашенко, А.А. Тюльпаны и другие луковичные растения Казахстана. Алматы: ИД «Две Столицы», 2005. 192 с.
38. Иллюстрированный определитель растений Казахстана [Текст]: научное издание. Т.1 / Сост. М.С.Байтенов, А.Н.Васильева и др. – Алматы.: Наука, 1969. – 643 с.
39. Красная книга Казахстана. – Изд. 2-е, переработанное и дополненное. Том 2: Растения (колл. авт.). – Астана, ТОО «АртPrintXXI», 2014. – С.342.
40. Культиясов, И.М. Экология растений. – М.: Из-во Московского университета, 1982. – 348 с.
41. Образец LE 01236886 // Виртуальный гербарий Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН – <http://tt.herbariumle.ru/01236886>
42. Рамазанова, М. С., Курбатова, Н. В., Гемеджиева, Н. Г., Алдасугурова, Ч. Ж. (2023). Анатомо-морфологическое исследование корней видов рода *Iris* из природных популяций Юго-Восточного Казахстана // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии, № 22(1). С. 279-284 DOI: 10.14258/pbssm.2023055. URL: <http://journal.asu.ru/bpssm/article/view/pbssm.2023055>.
43. Рахимова, Н. К. (2022). Современное состояние краснокнижного редкого эндемичного *Iris orchioide* Carrière (Iridaceae) в условиях Ташкентской области (Узбекистан). In эколого-биологические и географические исследования в решении региональных проблем (pp. 52-56).
44. Родионенко, Г. И. (1961). Род Ирис-*Iris* L.: вопросы морфологии, биологии, эволюции и систематики. Издательство Академии Наук СССР.
45. Скворцов, А.К. (1977). Гербарий. Пособие по методике и технике. – М.: Наука. – 198 с.
46. Федченко, О.А., Федченко, Б.А. (1905)7. Касатиковые Русского Туркестана. Известия Императорского С.-Петербургского ботанического сада. 5. –С.153–162.
47. Федченко, Б.А. Сем. Касатиковые – Iridaceae Lindl. // Флора СССР. – Л., 1935. – Т. 4. – С. 498–588.
48. Федченко, О.А. Iridaceae Русской Флоры // Известия ГБС. – М., 1924. – Т. 23, вып. 2. – С. 105–116.
49. Флора Казахстана / ред. Н. В. Павлов. – Алма-Ата: Издательство Академии Наук Казахской ССР, 1958. – Том 2. – 305 с.
50. Чернева, О. В. (1971) *Iris* L.: Введенский, А. И., & Ковалевская, С. С. (1971). Определитель растений Средней Азии: критический конспект флоры. *Conspectus Florae Asiae Mediae*, Т. 2. Science Publishers. Ташкент. –С.124–132.

References

1. American Iris Society. <https://www.irises.org/>
2. Bajtenov, M. S. (2001). *Flora Kazahstana v 2-h tomah.* [Flora of Kazakhstan in 2 volumes] –Т. 2. Rodovoj kompleks flory. Алматы: Gylm, 65. (In Russian) Байтенов, М. С. (2001). Флора Казахстана в 2-х томах. –Т. 2. Родовой комплекс флоры. Алматы: Гылым, 65.;
3. Boltenev, E. V. (2016). Typification and nomenclatural notes on twenty eight names of *juno* irises (Iridaceae) from Central and South Asia. *Phytotaxa*, 260(3), 223-234.
4. Bykov, B.A. (1983). *Ekologicheskij slovar'*. – Alma-Ata: Nauka. – P. 215. (In Russian).
5. Celep, A., Tugay, O., Dural, H., Ulukus, D., Bahadur, S., & Celep, F. (2022). Comparative root and leaf anatomy of the Turkish *Iris* subgenus *Scorpiris* and their taxonomic and phylogenetic utility. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 156(6), 1325-1335.
6. Chen, M. L., Feng, Y. M., Zhang, X. Y., Xu, F., Kang, Q. Q., Ning, X. J., ... & Yu, X. F. (2024). Phylogenetic study of *Iris* plants in China based on chloroplast *matK* gene and nuclear ITS gene.
7. Choi, T. Y., & Lee, S. R. (2024). Complete plastid genome of *Iris orchioide* and comparative analysis with 19 *Iris* plastomes. *Plos one*, 19(4), e0301346.
8. Duschanova, G., Rahimova, N., Abdullaeva, A., Ruzmatov, E. and Yusupova, D. (2018) Adaptive Features of Vegetative Organs *Juno hippolyti* (Vved.) Kamelin and *J. narbuti* (O. Fedtsch.) Vved. (*Juno Tratt.*) in the Conditions of the Kyzylkum Desert. *American Journal of Plant Sciences*, 9, 1952-1962. doi: 10.4236/ajps.2018.99141.
9. Fedchenko, B.A. (1935). Сем. Касатиковые – Iridaceae Lindl. // *Flora SSSR*. – Л. – Vol. 4. – P. 498–588. (In Russian).
10. Fedchenko, O.A. (1924). Iridaceae Russkoj Flory // *Izvestiia Imperatorskago S.-Peterburgskago Botanicheskago Sada*. – Moscow. –№23(2). – P. 105–116. (In Russian).
11. Fedtschenko, O.A., Fedtschenko, B.A. (1905) Iridaceae of the Russian Turkestan. *Izvestiia Imperatorskago S.-Peterburgskago Botanicheskago Sada* 5: –P.153–162. (In Russian).
12. *Flora Kazahstana* (1958) / red. N. V. Pavlov. – Alma-Ata: Izdatel'stvo Akademii Nauk Kazahskoj SSR. – Vol 2. – P. 305. (In Russian).
13. Goryshena, T.K. (1979). *Ekologiya rastenij*. – М.: Vyssh.shkola. – P. 362. (In Russian).
14. Ikinci, N., Hall, T., Lledo, M. D., Clarkson, J. J., Tillie, N., Seisums, A., ... & Chase, M. W. (2011). Molecular phylogenetics of the *juno* irises, *Iris* subgenus *Scorpiris* (Iridaceae), based on six plastid markers. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 167(3), 281-300.
15. *Illyustrirovannyj opredelitel' rastenij Kazahstana* [Tekst]: nauchnoe izdanie. [Illustrated identifier of plants of Kazakhstan [Text]: scientific edition]. (1969) Vol.1 / Sost. M.S.Bajtenov, A.N.Vasil'eva i dr. – Алматы.: Nauka. – P. 643. (In Russian).
16. iNaturalist community. Observations of *Iris kuschakewiczii* B.Fedtsch. from Kazakhstan observed on/between 2005-2024. Exported from <https://www.inaturalist.org> on [14.02.2025]

17. Iris kuschakewiczii B.Fedtsch. in GBIF Secretariat (2023). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2025-01-14.
18. Ivashchenko, A.A. (2005). Tyul'pany i drugie lukovichnye rasteniya Kazakhstana [Tulips and other bulbous plants of Kazakhstan]. Almaty: ID «Dve Stolicy». – P. 192. (In Russian). Иващенко А.А. Тюльпаны и другие луковичные растения Казахстана. Алматы: ИД «Две Столицы», 2005. 192 с.
19. Jalsrai, A., Reinhold, A., & Becker, A. (2018). Ethanol Iris tenuifolia extract reduces brain damage in a mouse model of cerebral ischaemia. *Phytotherapy Research*, 32(2), 333-339.
20. Juno kuschakewiczii (B. Fedtsch.) Pojark. // Plantarium. Plants and lichens of Russia and neighboring countries: open online galleries and plant identification guide. URL: <https://www.plantarium.ru/lang/en/page/view/item/21296.html> (accessed on 14 Jan 2025).
21. Khassanov, F. O., & Rakhimova, N. (2012). Taxonomic revision of the genus Iris L. (Iridaceae Juss.) for the flora of Central Asia. Khassanov F, Rakhimova N (2012) Taxonomic revision of the genus Iris L. (Iridaceae Juss.) for the flora of Central Asia. *Stapfia* 97: 121– 126.
22. Khatib, S., Faraloni, C., & Bouissane, L. (2022). Exploring the use of iris species: Antioxidant properties, phytochemistry, medicinal and industrial applications. *Antioxidants*, 11(3), 526.
23. Konarska, A. (2022). Morphological, anatomical, ultrastructural, and histochemical study of flowers and nectaries of *Iris sibirica* L. *Micron*, 158, 103288.
24. Kul'tiyasov, I.M. (1982). Ekologiya rastenij. – M.: Iz-vo Moskovskogo universiteta. – P. 348. (In Russian).
25. Lazkov, G. A., Sennikov, A. N., Koichubekova, G. A., & Naumenko, A. N. (2014). Taxonomic corrections and new records in vascular plants of Kyrgyzstan, 3.
26. Mathew, B. (1989). Iris. Mathew, Brian. "Iris." (1989): 42-44.
27. Mathew, B. (2000) Some aspects of the 'Juno group' of irises. *Annali di Botanica* 58: 113– 122.
28. Mavrodiev, E. V., Martinez-Azorin, M., Dranishnikov, P., & Crespo, M. B. (2014). At least 23 genera instead of one: The case of *Iris* L. sl (Iridaceae). *PLoS One*, 9(8), e106459.
29. POWO (2025). "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <https://powo.science.kew.org/> Retrieved 26 January 2025."
30. QGIS.org, 2025Y. QGIS Geographic Information System. QGIS Association. <http://www.qgis.org>
31. Rakhimova, N. K. (2022). Current state of the red book rare endemic Iris orchioides Carrière (Iridaceae) in the Tashkent region (Uzbekistan). In ecological, biological and geographical research in solving regional problems (pp. 52-56).
32. Rakhimova, N., Dushanova, G., Abdullaeva, A. and Temirov, E. (2020) Anatomical Structure of Aboveground and Underground Organs of the Rare Endemic Species *Iris* (Juno) *magnifica* vved., Growing under Natural Conditions of the Zeravshan Ridge, Samarkand Mountains. *American Journal of Plant Sciences*, 11, 1453-1466. doi: 10.4236/ajps.2020.119105.
33. Ramazanova, M. S., Kurbatova, N. V., Gemejiyeva, N. G., Aldassugurova, C. J. (2023). Anatomical and morphological study of the roots of species of the genus *Iris* from natural populations of southeastern Kazakhstan // *Problems of Botany of South Siberia and Mongolia*. – № 22(1). – P. 279-284 DOI: 10.14258/pbssm.2023055. URL: <http://journal.asu.ru/bpssm/article/view/pbssm.2023055>. (In Russian).
34. Raunkiaer Ch. Plant life forms / transl. from Danish by H. Gilbert-Carter. – Oxford: Clarendon Press, 1937. – vi, 104 p.
35. Red Data Book of Kazakhstan. (2014). The 2nd edition revised and supplemented. Volume 2: Plants (joint authorship). – Astana, LTD «ArtPrintXXI». – P. 342. Красная книга Казахстана. – Изд. 2-е, переработанное и дополненное. Том 2: Растения (КОЛЛ. АВТ.). – Астана, ТОО «АртPrintXXI», 2014. – С.342.
36. Rodionenko, G.I. (1961) The genus Iris L.: Questions of morphology, biology, evolution and systematics. V.L. Komarov Botanical Institute, Academy of Sciences of the USSR, Leningrad. 222 pp. (In Russian)
37. Roguz, K., Gallagher, M. K., Senden, E., Bar-Lev, Y., Lebel, M., Helicz, R., & Sapir, Y. (2020). All the colors of the rainbow: diversification of flower color and intraspecific color variation in the genus Iris. *Frontiers in plant science*, 11, 569811.
38. Sennikov, A., Khassanov, F., Ortikov, E., Kurbonaliyeva, M., & Tojibaev, K. S. (2023). The genus Iris L. sl (Iridaceae) in the Mountains of Central Asia biodiversity hotspot. *Plant Diversity of Central Asia*, 2(1), 1-104.
39. Skvorcov, A.K. (1977). Gerbarij. Posobie po metodike i tekhnike. – M.: Nauka. – P. 198. (In Russian).
40. Specimen LE 01236886 // Virtual herbarium of Komarov Botanical Institute RAS – <http://re.herbariumle.ru/01236886>
41. The Angiosperm Phylogeny Group, M. W. Chase, M. J. M. Christenhusz, M. F. Fay, J. W. Byng, W. S. Judd, D. E. Soltis, D. J. Mabberley, A. N. Sennikov, P. S. Soltis, P. F. Stevens, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV, *Botanical Journal of the Linnean Society*, Volume 181, Issue 1, May 2016, Pages 1–20, <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
42. Tojibaev, K. S., & Turginov, O. (2014). A new species and a new combination of Iris subgenus Scorpiris (Iridaceae) from Central Asia (Hissar Range, Pamir-Alai). *Phytotaxa*, 158(3), 224-228.
43. Tscherneva, O.V. (1971) Iris L. In: Vvedensky AI, Kovalevskaya SS (eds.), *Conspectus Florae Asiae Mediae*, vol. 2. Science Publishers, Tashkent, 124–132 pp. (In Russian).
44. Veselova, P. V., Kudabaeva, G. M., Sitpaeva, G. T., Abdildanov, D. SH., & Maslova, O. M. (2023). Osobennosti rasprostraneniya redkogo vida *Iris Orchioides* Carriere (*Juno Orchioides* (Carriere) Vved.) v Kazahstane. [Features of distribution of the rare species *Iris Orchioides* Carriere (*Juno Orchioides* (Carriere) Vved.) in Kazakhstan.]. *Botanika i botaniki v menyayushchemsya mire*, 41.
45. Vvedensky, A.I. (1935) Iris sect. Juno. In: Komarov VL (ed.), *Flora of the USSR*, vol. 4. Academy of Sciences of the USSR, Moscow & Leningrad, 557–576 pp. (In Russian).

46. Vvedensky, A.I. (1963) Iridaceae Juss. In: Ovchinnikov PN (ed.), Flora of the Tajik SSR, vol. 2. Academy of Sciences of the USSR, Leningrad, 370–396 & 425–426 pp. (In Russian).

47. Vvedensky, A.I. (1971) Juno Tratt. In: Vvedensky AI, Kovalevskaya SS (eds.), Conspectus Florae Asiae Mediae, vol. 2. Science Publishers, Tashkent, 132–139 & 321–323 pp. (In Russian).

48. Zhao, Y.-T.; Noltie, H.J.; Mathew, B. Iridaceae. In Flora of China; Wu, Z.-Y., Raven, P.H., Eds.; Science Press: Beijing, China; Missouri Botanical Garden Press: St. Louis, MO, USA, 2000; Volume 24, pp. 297–313.

Information about authors:

Aruzhan Agaidarkyzy Alikhanova – PhD student at the Department of Biodiversity and Bioresources, Faculty of Biology and Biotechnology, Al-Farabi Kazakh National University; Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan, email: aruzhan.alk@gmail.com)

Bektemir Birimkululy Osmonali – PhD, Head of the Laboratory of Plant World Cadastre, Institute of Botany and Phytointroduction (Almaty, Kazakhstan, email: be96kacz@mail.ru)

Yerlan Kenesbekovich Turuspekov – Candidate of Biological Sciences, Professor, Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan under the President of the Republic of Kazakhstan, Head of the Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan, email: yerlant@yahoo.com)

Shyryn Semizbaikyzy Almerekhova – PhD, Associate Professor, Leading Researcher at the Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan, email: almerekovakz@gmail.com)

Информация об авторах:

Алиханова Аружан Агайдарқызы – PhD докторант кафедры Биоразнообразия и биоресурсов, факультет Биологии и биотехнологии, Казахский национальный университет имени аль-Фараби, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики Института биологии и биотехнологии растений (г. Алматы, Казахстан, эл.почта: aruzhan.alk@gmail.com)

Осмонали Бектемір Бірімқұлұлы – PhD, заведующий лабораторией кадастра растительного мира Института ботаники и фитоинтродукции (г. Алматы, Казахстан, эл.почта: be96kacz@mail.ru)

Тұруспеков Ерлан Кенесбекович – кандидат биологических наук, профессор, академик НАН РК при Президенте РК, заведующий лабораторией молекулярной генетики Института биологии и биотехнологии растений (г. Алматы, Казахстан, эл.почта: yerlant@yahoo.com)

Алмерекова Шырын Семизбайқызы – PhD, ассоциированный профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики Института биологии и биотехнологии растений (г. Алматы, Казахстан, эл.почта: almerekovakz@gmail.com)

Поступило 11 февраля 2025 года

Принято 20 мая 2025 года

Ә.Ж. Жұманиязова^{1*}, Б.М. Силыбаева², Ж.Т. Букабаева²,
Н.С. Кунанбаева², А.Н. Ануарбекова²

¹Сәрсен Аманжолов атындағы Шығыс Қазақстан Университеті, Өскемен, Қазақстан

²Alikhan Bokeikhan University, Семей, Қазақстан

*e-mail: aiko-13.10.92@mail.ru

СЕМЕЙДІҢ ҚАРАҒАЙЛЫ ОРМАНЫНДА ӨСЕТІН ҚЫНАЛАРДЫҢ ТАКСОНОМИЯЛЫҚ БІРЛІКТЕРІН ЗЕРТТЕУ

Қазіргі кезде климаттың өзгеруінің жер бетіндегі жануарлар мен өсімдіктерге тигізетін әсері өте жоғары. Әсіресе, бұл тірі организмдердің санының шектелуі, жойылуы немесе шектен тыс көбеюі, яғни, экологиялық жүйенің тепе-теңдігінің бұзылуы сияқты факторларды тудырады. Осыған орай, Қазақстанның барлық аймақтарында флоралық және фауналық зерттеу жұмыстарын жүйелі түрде жүргізу ең басты міндеттердің бірі болып табылады.

Бұл мақалада Абай облысына қарасты, Ертіс өзенінің жағалауында орналасқан Қарағайлы орман алқаптарындағы қоныстанған қыналардың түрлік құрамы, тіршілік формасы мен экологиясы, кездесу жиіліктеріне байланысты зерттеу жұмыстарының нәтижелері берілген.

Зерттеу жұмысының негізгі мақсатына Кәдімгі қарағай (*Pinus sylvestris* L.) орман алқаптарының белгілі бір аймақтарындағы қына түрлерін анықтай отырып, олардың биологиялық және экологиялық ерекшеліктерін қарастыру.

Алынған аймақта түпкілікті зерттеу жұмыстары 44 жыл бұрын жүргізілген. Осыған орай, қарағайлы орманның негізгі өсімдіктер бірлестірін құрайтын, орман экосистемасында негізгі рөл атқаратын қыналар зерттеу объектісі ретінде алынды.

Кездесу жиіліктерін анықтау Друде шкаласымен, қына түрлерін анықтау анықтағыштар және сканерлік микроскоп көмегімен алынған фотосуреттерді қолдану арқылы жүзеге асырылды.

Зерттеу жұмысының мақсатына сәйкес, Семей-Бородулиха бағытындағы орман шаруашылықтарында өсетін қыналардың 5 тұқымдасқа біріктірілген, 7 туысы мен 15 түрі анықталды. Экологиялық ерекшеліктеріне қарай 7 түр эпифитті, 8 түрі эпигейлі түр ретінде анықталды. Зерттеу жұмысының маңыздылығы Қазақстанның ең ірі орманы ретінде белгілі Қарағайлы орманның флорасының негізін құрайтын қыналардың түрлік құрамын анықтай отырып, экологиялық баға беру.

Түйін сөздер: Семейдің қарағайлы орманы, қыналар, эпифитті қыналар, эпигейлі қыналар, *Cladonia rangiferina*.

A.Zh. Zhumaniyazova^{1*}, B.M. Silybayeva², Zh.T. Bukabayeva²,
N.S. Kunanbayeva², A.N. Anuarbekova²

¹Sarsen Amanzholov East Kazakhstan University, Ust-Kamenogorsk, Kazakhstan

²Alikhan Bokeikhan University, Semey, Kazakhstan

*e-mail: aiko-13.10.92@mail.ru

The study of taxonomic units of lichens growing in the pine forests of the city of Semey

Currently, the impact of climate change on animals and plants on Earth is very great. In particular, this causes factors such as limitation, extinction, or an excessive increase in the number of living organisms, that is, an imbalance in the ecological system. In this regard, one of the main tasks is the systematic conduct of floristic and faunal studies in all regions of Kazakhstan.

This article presents the results of research depending on the species composition, life form and ecology, and the frequency of occurrence of inhabited lichens in the pine forests of the Abai region located on the banks of the Irtysh River.

The main purpose of the research work is the common pine (*Pinus sylvestris* L.) to consider their biological and ecological features with the identification of lichen species in certain areas of woodlands.

The final research work in the acquired region was carried out 44 years ago. In connection with this research object, lichens were obtained, which make up the main plant unit of the pine forest and play a major role in the forest ecosystem.

The frequency of occurrence was determined using the Drude scale, the types of lichen were determined using detectors and photographs obtained using a scanning microscope.

In accordance with the purpose of the research, 7 genera and 15 species of lichens have been identified, grouped into 5 families growing in the Semey-Borodulikha forestry sector. Depending on the ecological features, 7 species were identified as epiphytic, 8 species as epigeal. The importance of the research work is to provide an ecological assessment with the determination of the species composition of lichens that form the basis of the flora of the pine forest, known as the largest forest in Kazakhstan.

Keywords: Pine forests of Semey, lichens, epiphytic lichens, epigeal lichens, *Cladonia rangiferina*.

Ә.Ж. Жұманиязова^{1*}, Б.М. Силыбаева², Ж.Т. Букабаева²,
Н.С.Кунанбаева², А.Н. Ануарбекова²

¹Восточно-Казахстанский университет имени Сарсена Аманжолова, Усть-Каменогорск, Казахстан

²Alikhan Bokeikhan University, Семей, Казахстан

*e-mail: aiko-13.10.92@mail.ru

Изучение таксономических единиц лишайников, произрастающих в сосновых лесах Семей

В настоящее время влияние изменения климата на животных и растения на Земле очень велико. В частности, это вызывает такие факторы, как ограничение, вымирание или чрезмерное увеличение количества живых организмов, то есть нарушение баланса экологической системы. В этой связи одной из главных задач является систематическое проведение флористических и фаунистических исследований во всех регионах Казахстана.

В данной статье представлены результаты исследований в зависимости от видового состава, формы жизни и экологии, частоты встречаемости заселенных лишайников в сосновых лесах Абайской области, расположенных на берегу реки Иртыш.

Основная цель исследовательской работы – сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) рассмотреть их биологические и экологические особенности с определением видов лишайника в определенных зонах лесных массивов.

Окончательные исследовательские работы в приобретенном регионе были проведены 44 года назад. В связи с этим объектом исследования были получены лишайники, составляющие основную растительную единицу соснового леса, играющие основную роль в экосистеме леса.

Определение частот встречаемости осуществлялось с помощью шкалы Друде, определение видов лишайников помощью определителей и фотографий, полученных с помощью сканерного микроскопа.

В соответствии с целью исследовательской работы определены 7 родов и 15 видов лишайников, объединенных в 5 семейств, произрастающих в лесничествах Семипалатинско-Бородулинского направления. В зависимости от экологических особенностей 7 видов были определены как эпифитные, 8 видов – как эпигейные. Важность исследовательской работы состоит в том, чтобы дать экологическую оценку с определением видового состава лишайников, составляющих основу флоры соснового леса, известного как крупнейший лес Казахстана.

Ключевые слова: сосновые леса Семей, лишайники, эпифитные лишайники, эпигейные лишайники, *Cladonia rangiferina*.

Кіріспе

Қазақстанның Шығыс аймағындағы Ертіс өзенінің жағасында тізбек түзіп орналасқан, жалпы ауданы 662 167 гектар жер көлімін алып жатқан Қарағайлы орман, ең ірі ормандардың бірі болып саналады. Қарағайлы орманда негізгі орман түзетін Кәдімгі қарағай (*Pinus sylvestris* L.) арасында тал, терек, қайың, үйеңкі, шырша, долаң және т. б. сүректі өсімдіктер түрлерін кездестіруге болады. Сонымен қатар, Қарағайлы орманның топырағы құмды, жарық ормандар қатарына жататындықтан, бұл жерде өсетін жоғары сатыдағы гүлді өсімдіктер бірлестіктері жұтаң болып

келеді. Шөптесін өсімдіктер арасында псаммофиттер топтары жиі кездеседі. Төменгі сатыдағы өсімдіктердің арасында кең тараған топтарының қатарына саңырауқұлақтар, қыналар топтары жатады. Бұлардың арасында Семей аймағында орналасқан қарағайлы орман алқаптарында таралған, өсімдіктер бірлестіктерінің негізін құрайтын қына түрлері зерттеу объектісі ретінде алынды. Осыған байланысты, маршрутты экспедиция кезінде Семей-Бородулиха бағытында орналасқан қарағайлы орманда өсетін эпифитті және эпигейлі қына түрлері жинақталып, анықталды. Жиналған қыналардың биологиялық және экологиялық ерекшеліктері берілді.

Әдебиетке шолу

Қазақстан Республикасының «Ерекше қорғалатын табиғи аймақ» заңына сәйкес Беген, Бородулиха, Бөкебай, Долон, Жаңасемей, Жарма, Канонерка, Морозов, Новошүлбі «Семей орманы» (1997 ж.) мемлекеттік орман табиғи резерватына қосылған [1]. Қазақстанның Қарағайлы ормандары туралы зерттеу жұмыстары 1950-2018 жылдар аралығында жүргізіліп, жауын-шашынның көп мөлшерде түсуі мен температураның жоғарылауына байланысты жаһандық жылынудың әсерінен Кәдімгі Қарағайдың (*Pinus sylvestris* L.) өсуінің артқаны байқалған [2].

Зерттеу жұмысының негізгі мақсаты: Семей қаласының іргесінде орналасқан Қарағайлар (*Pinaceae*) тұқымдасына жататын Кәдімгі қарағай (*Pinus sylvestris* L.) орман алқаптарында таралған қыналардың түрлері, көбею жолдары, таралу ареалдары, кездесу жиіліктерін зерттеу. Биологиялық және экологиялық ерекшеліктеріне байланысты қыналар негізінен жер бетінде кеңінен тараған өсімдіктер топтарын құрайды. Бұлардың дене құрылысы, көбею жолдары, қоректенуіне байланысты өзіндік өзгешелігі бар өсімдіктер ретінде қарастырылады. Соңғы жылдардағы басылымдарда Қазақстанның флорасында қыналардың белгілі бір биомдарда қоныстануы мен олардың қазіргі жер бетінде болып жатқан климаттық өзгерістерге бейімделуі, таралуына байланысты нақтылы деректер аз кездеседі. Қазақстанның барлық аймақтарында қоныстанған қына түрлері, морфологиялық ерекшеліктері мен таралу ареалдары туралы 1978 жылы баспада жарық көрген Е.И. Андрееваның «Қазақстанның споралы өсімдіктерінің флорасы» атты анықтағышының лихенологияға байланысты 3 томдық кітабында берілген [3].

Қазақстанның ғалымдарының орман алқаптарында, әсіресе, қарағайлы орманды жерлерде өсетін қыналарға байланысты соңғы жылдары жүргізілген зерттеу жұмыстарында белгілі бір аймақтарда қоныстанған қына түрлері, олардың биоиндикатор ретінде қолдануы және ауыр металдармен ластану деңгейі қарастырылған [4]. Қазақстанда қыналар туралы зерттеу жұмыстарының нәтижелері Е.И. Андрееваның, Г.С. Айдарханованың, Б.А. Тулеубаеваның, Н.Ә. Байбулатованың, З. Джураеваның, З. Абдурахимованың (1978-1997 ж.) еңбектерінде берілсе [5], ал соңғы жылдары жүргізілген зерттеулерге А. Нуркенова, Ж.Т. Букабаеваның, [4] жұмыстарын жатқызуға болады.

Шетелдік әдебиет көздерінде әртүрлі ауыр металдармен (Fe, Cr, Cu, Zn, Ni, Pb) ауаның ластану деңгейін анықтауда, қына түрлерін қолдану арқылы зерттеулер жүргізілген [6-8].

Орман экожүйесінде эпифитті қыналардың алатын орны, олардың өсу ерекшелігі мен жойылу қаупі туралы ақпараттармен қатар, қыналардың субстраттарға қоныстануы, трофикалық тізбектегі маңыздылығына байланысты талдаулар жасалған. Орман экосистемасы мен ондағы климаттық өзгерістердің қына түрлерінің тіршілік етуіне тікелей әсері зерттелген. Қыналарды жаңа орта жағдайларына бейімделуіне байланысты лихеноиндикациялық жұмыстар эпифитті қыналардың кейбір (*Xanthoria*, *Physconia*) туыстарын қолдану арқылы жүргізілген [9-13].

Осыған ұқсас зерттеу жұмыстарында қыналардың тіршілік ортасындағы ылғалдылық, инсоляция, теңіз деңгейінен жоғары орналасуы, жарық, ауа сапасы мен климаттық өзгерістердің әсеріне төзімділігі және белгілі бір түрлердің сақталуы туралы деректер берілген. Зерттеу жұмыстарында орман түзетін сүректі өсімдіктердің діңдерінде тіршілік ететін эпифитті және эпигейлі қыналардың, орман құрылымдарын сақтаудағы маңызы, ол ауа құрамын тазарту қасиетіне байланысты екендігі қарастырылған. Әсіресе, шетелдік тәжірибелі лихенологтардың еңбектерінде қыналардың түрлік құрамы, саңырауқұлақтар мен балдырлардың симбиозды тіршілік ету ерекшелігі, биологиялық-экологиялық ерекшеліктері, тіршілік ету формасы, бейімделушілігі туралы зерттеулермен қатар, қыналарды коллекциялау жұмыстары жүргізілген [14-18].

Материалдар мен зерттеу әдістері

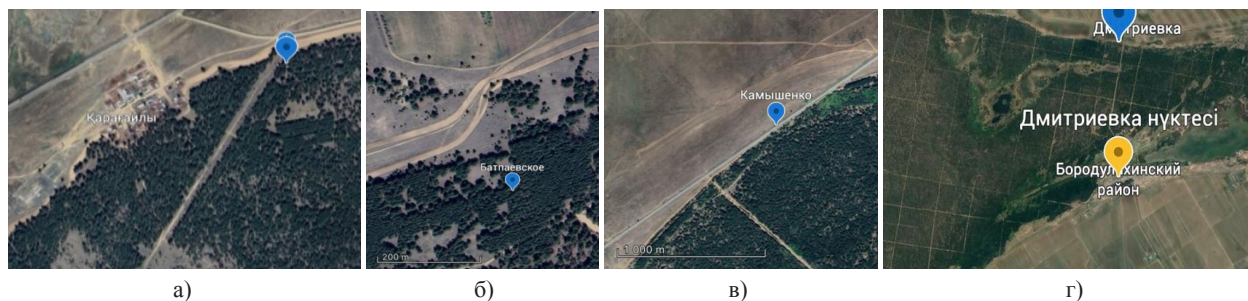
Қыналардың Семей орманы биомдарындағы түрлік құрамын, таралу ареалдары мен кездесу жиіліктерін анықтауға арналған зерттеу жұмысы, Абай облысының Семей – Бородулиха бағытындағы орман алқаптарында (2024 ж) жүргізілді. Маршрутты экспедиция кезінде, Семей орманының Қарағайлы орманы (50° 35' 51'' N 80° 23' 45'' E), Батпай орманы (50° 37' 05'' N 80° 32' 56'' E), Камышинко (50° 41' 31'' N 80° 42' 05'' E) және Бородулиха (50° 44' 55'' N 80° 50' 19'' E) орман шаруашылықтары орналасқан аймақтардан қыналардың сынамалары алынды.

Маршрутты экспедиция барысында аталмыш орман шаруашылықтары орналасқан аймақтарда қоныстанған қына түрлерін зерттеу жұмыстары геоботаникалық зерттеу әдістерін (түр құрамы,

саны, кездесу жиіліктері, экологиясы және т. б.) қолдану арқылы жүзеге асырылды.

Қарағайлы орман алқаптарында таралған қыналардың өте сирек (Sol), сирек (Sp), жиі

(Сор) өте көп (Soc) кездесетін түрлерінің сандық көрсеткіштерін анықтау геоботаникада кеңінен қолданатын Друде шкаласы бойынша жүргізілді [19].



1-сурет – Семей-Бородулиха бағытындағы орман алқаптарына маршрутты экспедиция жүргізілген аймақтардың карта-схемасы
а) Қарағайлы орманы; б) Батпай орманы в) Камышинко орманы г) Бородулиха орманы

Қыналарды анықтау үшін Е.И.Андрееваның «Қазақстанның споралы өсімдіктерінің флорасы» атты 3 томдық анықтағышы қолданылды. Зертханалық жағдайларда қыналарды әртүрлі химиялық ерітінділер (KOH 10% калий ерітіндісі, СаCl2O2 хлорлы кальцидің қаныққан сулы ерітіндісі) қына түстерінің өзгеру әсеріне байланысты қолданатын әдіс ретінде пайдаланылды [3].

Маршрутты экспедиция кезінде зерттеуге қажетті қына түрлерін идентификациялауға арналған әдістердің бірі ретінде, Семей қаласының Шәкәрім атындағы университетінің «Радиоэкологиялық ғылыми орталығының» зертханасында орналасқан INCA ENERGY 250, OXFORD INSTRUMENTS (Ұлыбритания) рентгендіспектральді микроанализ жүйесі бар «Төменгі ва-

кумды растрлі электронды микроскоп (РЭМ)» JSM-6390 LV JEOL (Жапония) түрі қолданылды. Жинақталған қына сынамаларының морфологиялық құрылысымен қатар, олардың көбею жолдарының ерекшеліктеріне байланысты, сканерлік микроскоп арқылы алынған фотосуреттер қына түрлерін анықтаудың негізгі әдістері ретінде қарастырылды.

Зерттеу жұмысының нәтижелері мен талдаулар

Семей орманының Семей-Бородулиха бағытындағы Қарағайлы, Батпай, Камышинко және Бородулиха орман шаруашылықтары орналасқан аймақтарда өсетін 5 тұқымдасқа, 7 туысқа біріктірілген қыналардың 15 түрі анықталды.

1-кесте – Семей-Бородулиха бағытындағы орман алқаптарынан жиналған қына түрлерінің биологиясы мен экологиялық ерекшеліктері

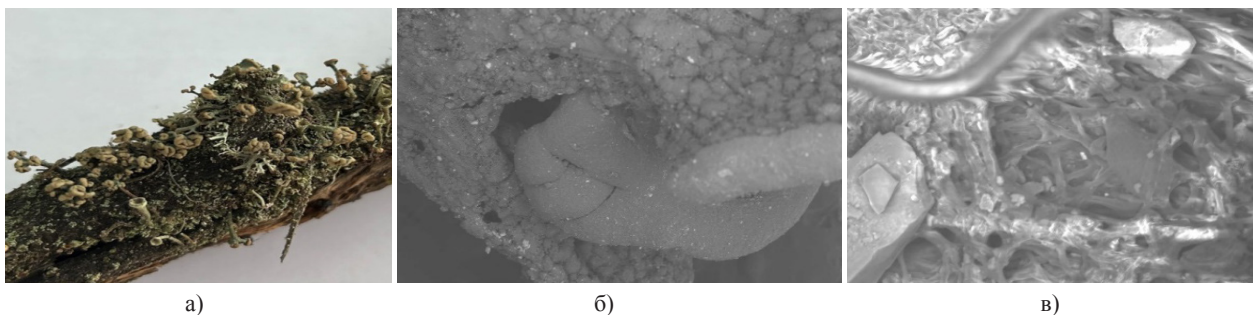
№	Туысы	Кездесу жиілігі	Тіршілік формасы	Экологиясы
Тұқымдасы – Cladoniaceae				
1	Туысы Cladonia Түрі Cl.botrytes	Cop	Бұта тәрізді	Эпифитті
2	Туысы Cladonia Түрі Cl. fimbriata	Cop	Бұта тәрізді	Эпигейлі
3	Туысы Cladonia Түрі Cl. furcata	Sol	Бұта тәрізді	Эпигейлі
4	Туысы Cladonia Түрі Cl. verticillata	Sol	Бұта тәрізді	Эпигейлі

№	Туысы	Кездесу жиілігі	Тіршілік формасы	Экологиясы
5	Туысы Cladonia Түрі Cl. deformis	Sp	Бұта тәрізді	Эпифитті
6	Туысы Cladonia Түрі Cl. cariosa	Sp	Бұта тәрізді	Эпигейлі
7	Туысы Cladonia Түрі Cl. crispata	Sp	Бұта тәрізді	Эпигейлі
8	Туысы Cladonia, Түрі Cl. rangiferina	Cop	Бұта тәрізді	Эпигейлі
9	Туысы Cladonia Түрі Cl. sylvatica	Sp	Бұта тәрізді	Эпигейлі
Тұқымдасы – Peltigeraceae				
10	Туысы Peltigera Түрі P. rufescens	Cop	Жапырақты	Эпигейлі
Тұқымдасы – Parmeliaceae				
11	Туысы Cetraria Түрі C. glauca	Cop	Жапырақты	Эпифитті
12	Туысы Parmelia Түрі P. sulcata	Sol	Жапырақты	Эпифитті
13	Туысы Hypogymnia Түрі H. physodes	Cop	Жапырақты	Эпифитті
Тұқымдасы – Teloschistaceae				
14	Туысы Xanthoria Түрі X. parietina	Cop	Қабыршақты	Эпифитті
Тұқымдасы – Physciaceae				
15	Туысы Physcia Түрі Ph. leptalea	Sp	Қабыршақты	Эпифитті

Зерттеуге алынған 15 қына түрлері Друде шкаласы бойынша кездесу жиіліктеріне байланысты 7 түрі жиі, 5 түрі сирек, 3 өте сирек кездесетін түр ретінде анықталды. Тіршілік формасына байланысты анықталған 15 түрдің 9 түрі бұта тәрізді, 4 түрі жапырақты және 2 түрі қабыршақты (кейде, ұсақ жапырақты) қына түрлеріне топтастырылды. Экологиясына байланысты 7 (эпифитті) түр сүректі өсімдіктердің ішінде жабысып өсетін түр ретінде, қалған 8 (эпигейлі) түрі орманның құмды топырақтарында өсетіндігі белгілі болды (кесте 1). Эпифитті қыналардың арасында Teloschistaceae тұқымдасына жататын Xanthoria parietina және Physciaceae тұқымдасына жататын Physcia leptalea түрлері қарағайлы орман арасында өте сирек түрде кездескен бұталы өсімдік талдың (Salix) бұтақтарында жабысып өсетін қабыршақты қына түрлері ретінде берілді.

Төменде зерттеуге алынған қына түрлерінің қысқаша сипаттамасы беріледі.

1. *Cladoniaceae* тұқымдасы – Cladonia botrytes жиі кездесетін, бұта тәрізді қына. Зерттеу аймақтарында жер бетінде жатқан тіршілігін жойған ағаштардың беттерінде қоныстанған түрлері ғана кездесті. Бірінші реттік таломасы қабыршақты, бір-бірінен алшақ субстратқа жабысып орналасқан. Подециялары аласа, тік, кей жерлерде сәл еңкіш болып келеді, сыртқы қабығы кедір-бұдырлы, жасыл-сұр түсті, негізгі талломында біршама филлокладиялары бар. Апотециялары подецияларының жоғары ұшында орналасқан. Апотечий дисктері алдымен жіңішке жиекті жалпақ болып келеді, кейіннен жиектері етженді доғал пішінді болады, түсі сарғыш-қоңыр түсті. Талломалары немесе подецияларының түсі КОН, CaCl₂O₂ ертінділер әсерінен өзгермеді.



2-сурет – а – Апотециялы *Cladonia botrytes* жалпы көрінісі;
б – жеке апотециясы; в – қынаның астыңғы ридзиналы бөлігі;

2. *Cladoniaceae* тұқымдасы – *Cladonia fimbriata* кездесу жиілігі жоғары, топырақ бетінде өсетін эпигейлі қына. Бірінші реттік қабыршақты талломасы шым түзген топырақ бетіне жабысып немесе аздап көтеріңкі орналасқан. Кей жерлерінде талломалары жапырақ тәрізді ақ түсті, тісше немесе доғал келген жиектері жиырылған. Кубок тәрізді подециялары тік, қарапайым, сұр-жасыл түсті, тегіс, өте жақсы жетілген.

Біршама жетілген филлокладиялары бар. Кубок тәрізді подецияларының ортаңғы бөліктері тұтас, шет бөліктері саңылаулы. Апотециялары топтасып қондырмалы түрде кубок тәрізді подециялардың шеткі жиектерінде орналасқан. Пикнидилері апотециялардың жиектерінде орналасады, қара түсті, жұмыртқа немесе сүйелтәрізді. Подецияларының түсі КОН, CaCl_2O_2 әсерінен өзгермеді.

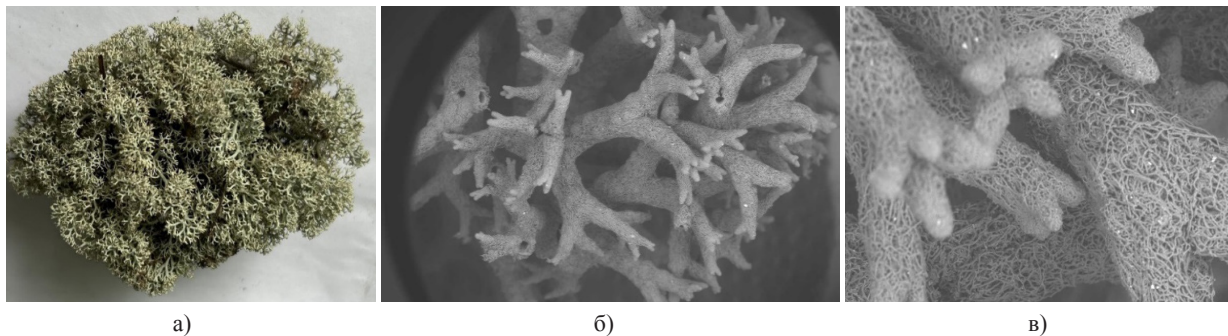


3-сурет – а – кубок тәрізді подециялы *Cladonia fimbriata* жалпы көрінісі;
б – жиектерінде пикнидилері бар кубок тәрізді подецияның көрінісі;

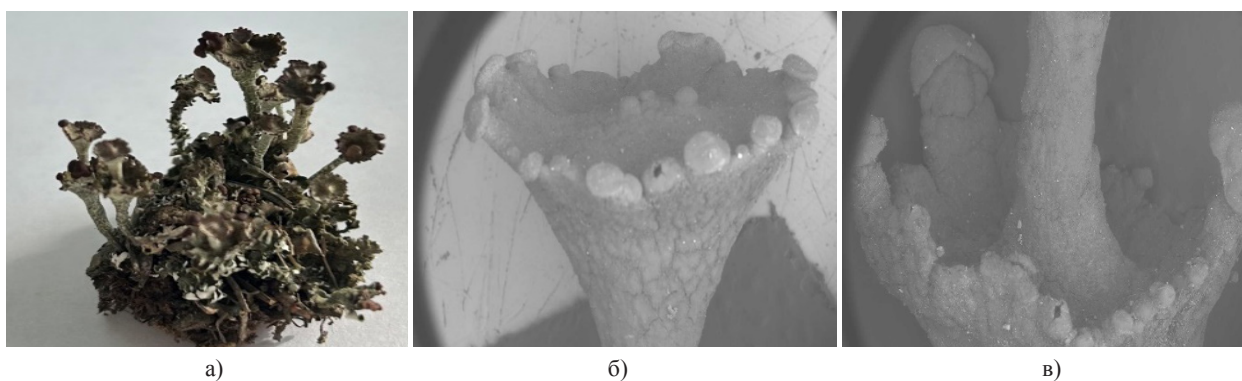
3. *Cladoniaceae* тұқымдасы – *Cladonia furcata* қарағайлы орманның топырақ беттерінде өте сирек кездесетін қына топтарына жатқызылды. Подециялары тік, сәл еңкіш немесе жатаған түрде болады, олар негізгі бұтақтарға жинақталған. Дихотомиялы, сәулелі немесе дұрыс емес бұтақтанған. Апотециялары бұтақтарының ұшында орналасады. Подецияларының түсі КОН, CaCl_2O_2 әсерінен өзгермейді немесе аздап сарғаяды. Өте полиморфты түр.

4. *Cladoniaceae* тұқымдасы – *Cladonia verticillata* өте сирек кездесетін, топырақта өсетін

эпигейлі түр. Шеткі жиектері тісшелі немесе тілімшелі бірінші реттік қабыршақты талломасы шым түзіп орналасқан, ақшыл -сұр түсті. Кубок тәрізді подециялары қоңыр-сұр түсті, кедір-бұдырлы. Кубок пішінді подецияларының ортасында жаңа кубоктар түзіп, олар өз кезегінде бірнеше қабатты пролифицирленген жаңа кубоктарға тарамдалған. Кубок тәрізді подецияларының жиектерінде жекеленіп немесе бір-бірімен топтасып түзілген апотецийлерінің дискісі алдымен жіңішке жиектелген, кейін жиегі сары қоңырдан қоңыр түске дейін, дөңес пішінді түрде болады.



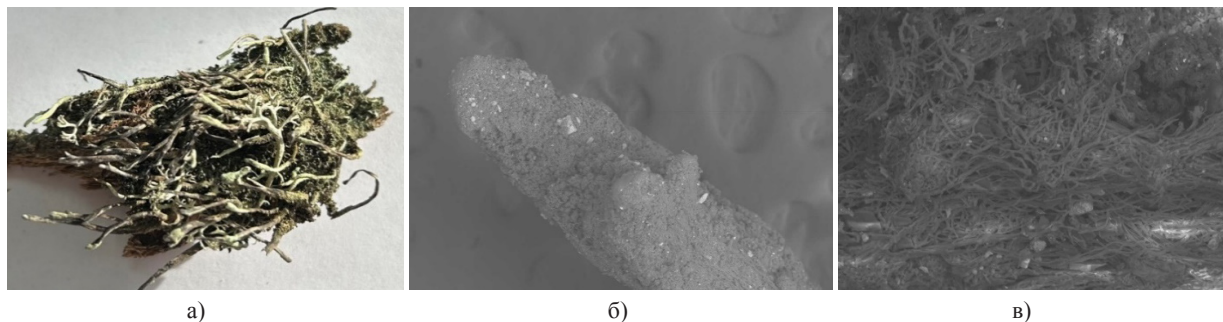
4-сурет – а- Апотециялы *Cladonia furcata* жалпы көрінісі;
б-Апотециялы дихотомиялы бұтақтары;
в-Апотециялы дихотомиялы бұтақтарының жақыннан алынған көрінісі;



5-сурет – а – *Cladonia verticillata* жалпы көрінісі;
б – жиектерінде жекелеп немесе топтанып түзілген апотециялы кубок тәрізді подециясының көрінісі;
в – жаңа түзілген кубоктың подеция ортасында орналасуының көрінісі.

5. *Cladoniaceae* тұқымдасы – *Cladonia deformis* шіріген ағаш қабықтарының сыртында қоныстанған эпифитті, сирек кездесетін қына. Бірінші реттік талломасы қабыршақты, жоғары беті жасыл, астыңғы бөлігі ақшыл түсті, субст-

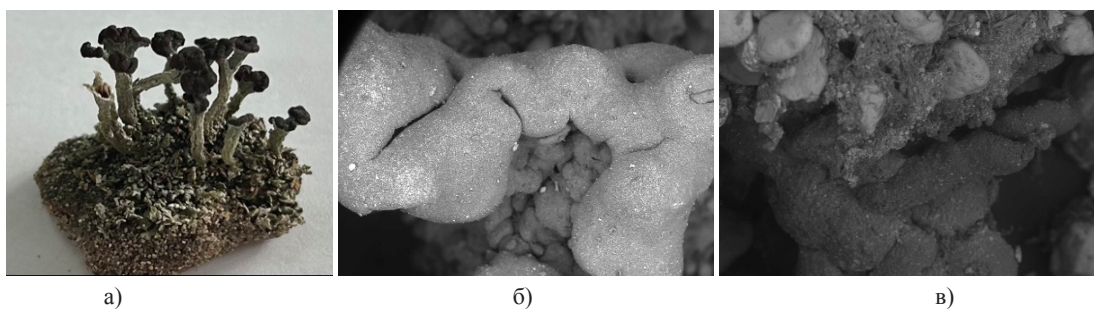
ратқа жабысып өседі. Саңылаусыз подециялары тік өседі және ұштары біртіндеп сүйірленген. Апотециялары мен пикнидилері сирек кездеседі. Денесінің сыртқы қабаты және подециялары КОН, СаCl2O2 ертінділері әсерінен өзгермеді.



6-сурет – а – *Cladonia deformis* түрінің шіріген ағаш қабықтарында қоныстануы;
б – сүйірленген подеция ұшы; в – субстратқа бекінген қынаның төменгі бөлігі;

6. *Cladoniaceae* тұқымдасы – *Cladonia cariosa* қарағайлы орманда сирек кездесетін, эпигейлі қына түріне жатады. Қабыршақты бірінші реттік талломдары топырақта шым түзіп орналасқан. Подециялары қысқа, цилиндр тәрізді. Кубкалары болмайды, жоғары жақтары кеңейіп, жиі орналасқан апотециялармен аяқталады. Апотечий

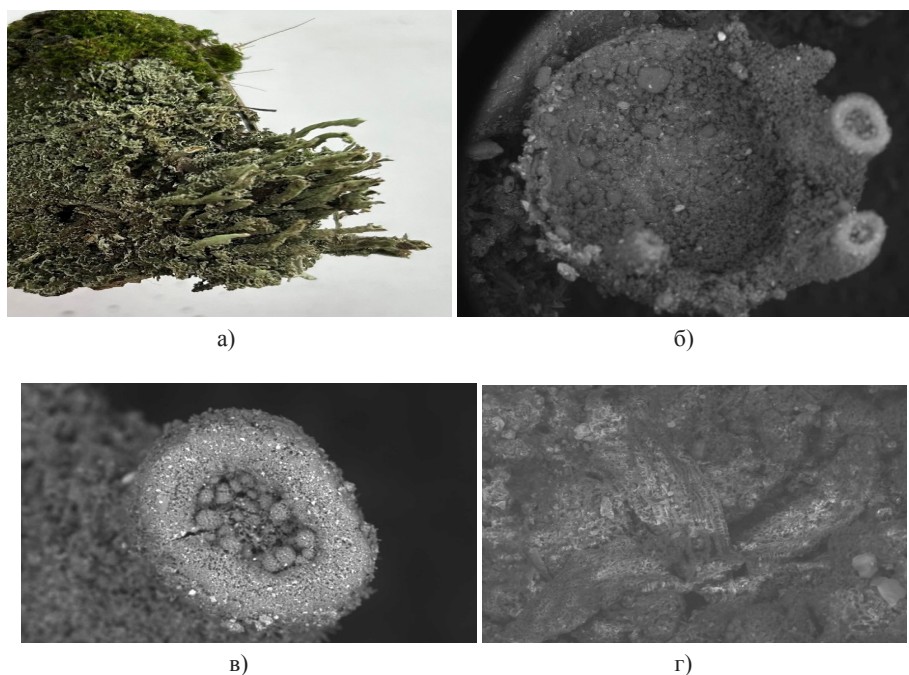
дисклері жиексіз, дөнес келген. Подециялары қарапайым, әлсіз бұтақтанған, сұр-жасыл түсті болып келеді. Соредисіз және филлокладиясыз. Қоңыр түсті апотециялары подецияларының ұшында тығыз оратылған пішінде орныққан. Подециялары КОН әсерінен әлсіз қызарады, CaCl_2O_2 әсерінен өзгермейді.



7-сурет – а – *Cladonia cariosa* қынасының субстраттағы жалпы көрінісі; б – подецияларының ұшында оратылған пішіндегі апотецияларының көрінісі; в – қынаның субстратқа бекінген редзина бөлігі;

7. *Cladoniaceae* тұқымдасы – *Cladonia crispata* тіршілігін жойған ағаш қабықтарында қоныстанған, сирек кездесетін қына. Бірінші реттік талломы сұр-жасыл түсті, субстратқа қабыршақты, кей жерлерде жапырақты тілімденген жиекті талломдар түрінде бекінеді. Подецияла-

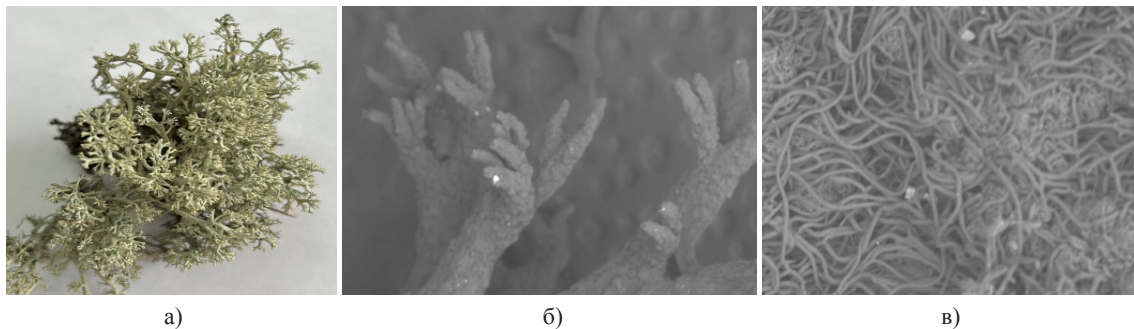
ры сұр-жасыл түсті, тік өскен, түтік тәрізді, кей жерлері буылтықтанып дөңестенеді, кубкалары болмайды. Соредий, изидилері, филлокладиялары болмайды. Апотециялары жалғыздан орналасады, жиектерінде пикнидиилері орналасқан. КОН, CaCl_2O_2 әсерінен түстері өзгермейді.



8-сурет – а – *Cladonia crispata* қынасының сыртқы көрінісі; б – жиектерінде пикнидиилері орналасқан қынаның апотециясының көрінісі; в – пикноконидилері бар пикнидийдің үлкейтілген суреті; г – *Cladonia crispata* қынасының субстратқа бекіген бөлігі;

8. *Cladoniaceae* тұқымдасы — *Cladonia rangiferina* жиі кездесетін, эпигейлі қына түріне жатады. Топырақ бетінде қабыршақ түрінде түзілген бірінші реттік талломалары айқын түрде көрінбейді. Подециялар ашық жасыл түсті, тығыз бұтақтанған, субстратта тік шым түзіп немесе жатаған түрде орналасады. Бұтақтың орталық негізгі өсі жақсы жетілген. Бұл түрге өсімдіктің дихатомиялық, анизотомиялық, тетрахотомиялық, трихотомиялық әртүрлі бұтақтануы формалары кездеседі және саңылаулы. Айыр тәрізді

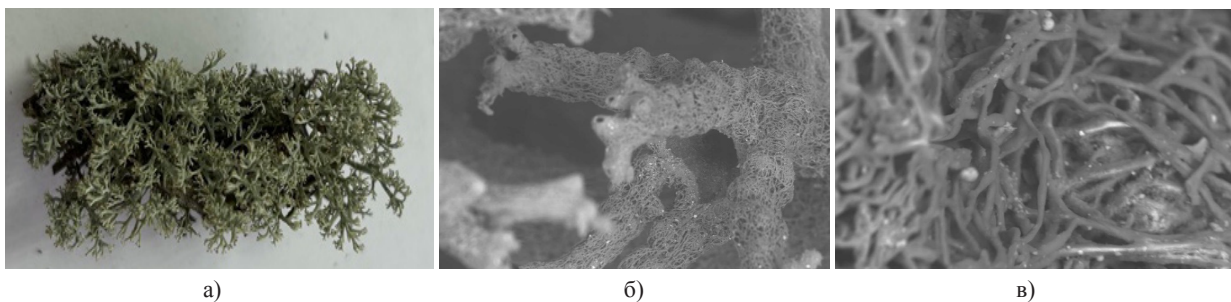
бұтақтарының жоғарғы ұштары доғаланып сүйірленіп, шашақ шоғыр түрінде жинақталған. Ең жоғарғы беткі бөлігінің түсі ашық-күлгін, ашық-қоңырлау-қаралау түсті болып көрінеді. Апотециялары бұтақтарының ұштарында бір-бірден түзіліп, дискаларының формалары дөңес, жартылай шар түрінде болады. Жоғары орналасқан бұтақшаларының ұштарында жұмыртқа тәрізді, қоңыр түсті пикнидиалер топтанып түзілген. Подециялары КОН әсерінен сарғаяды, кейін қоңыр түске ауысады.



9-сурет – а – *Cladonia rangiferina* қынасының жалпы көрінісі;
б – тығыз бұтақтанған подецияларының сүйірлі айыр тәрізді ұштары;
в – талломасының топыраққа бекінген астыңғы бөлігі;

9. *Cladoniaceae* тұқымдасы — *Cladonia sylvatica* сирек кездесетін, топырақта өсетін эпигейлі қына түрі. Бірінші реттік талломасы тек қалдық түрінде сақталған. Подециялары ақшыл сұр түсті, тығыз бұтақтанған тік, кейде еңкіш болады. Подецияларының негізгі орталық өсі өте қатты жуанданып анық байқалады, жоғары ұштары топтасып шоғырланған. Стрильді

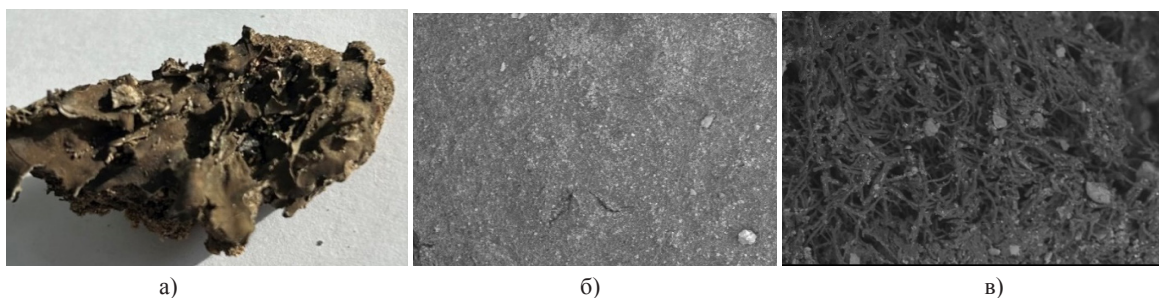
бұтақшалары бір жаққа еңкіш түрде иіліп түзілсе, фертильді бұтақтары тік түзілген. Сирек түзілетін апотециялары бұтақтарының ұшында орналасып, қоңырқай немесе ашық қоңыр түсті жиектері дөңес емес түрде түзілген. Құмды құрғақ топырақтарда кездеседі. Подецияларының түсі КОН, CaCl_2O_2 ертінділер әсерінен өзгермеді.



10-сурет – а – *Cladonia sylvatica* қынасының жалпы көрінісі;
б – тығыз бұтақтанған подецияларының ұшында орналасқан апотециялары;
в – талломасының топыраққа бекінген астыңғы бөлігі;

10. *Peltigeraceae* тұқымдасы – *Peltigera rufescens* жиі кездесетін, жапырақ тәрізді қына. Эпигейлі, бірінші реттік талломасы ридзиналарымен субстратқа жақсы бекінген. Жапырақ тәрізді талломасының жиектері тілімденген, тығыз теріге ұқсас, тез сыңғыш, диаметрі 4-8 см құрайды. Қынаның беткі бөлігі қоңыр түсті. Ылғалды

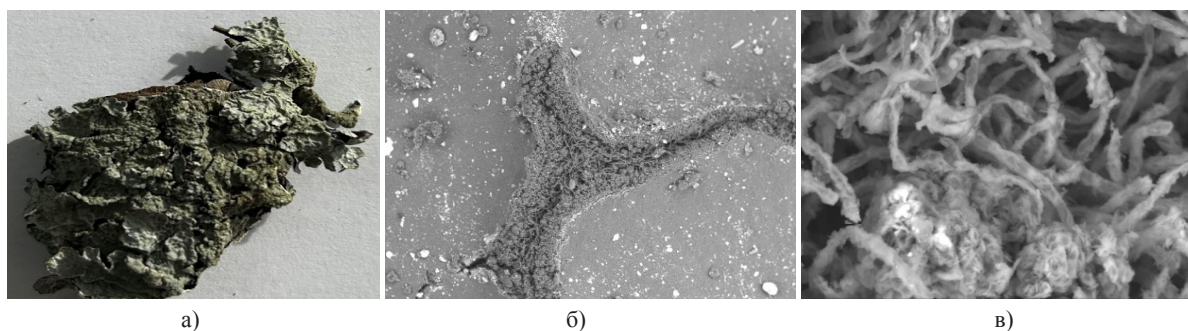
жерлерде қына түрі қою сұр-жасыл түсті болады. Апотециялары жалпақ келген жапырақша тәрізді талломаларының жиектерінде орналасады. Денесінің төменгі бөлігі ақшыл, сұр немесе қоңыр. Қарағайлы орманның құмды топырағының ылғалды жерлерінде мүктермен аралас қоныстанады.



11-сурет – а – *Peltigera rufescens* – жапырақ тәрізді талломасының көрінісі;
б – талломасының беткі бөлігінің 100 есе үлкейтілген көрінісі; в – қынаның астыңғы редзиналық бөлігі;

11. *Parmeliaceae* тұқымдасы – *Cetraria glauca* қарағайлы орманда жиі кездесетін, эпифитті қына. Субстратта орналасуына байланысты жапырақ пішінді қына болып табылады. Бұл қына түрінің талломасы ортаңғы бөлігімен субстратқа әлсіз бекінеді, шеткі бөліктері ішке қарай қайырылып, субстраттан көтеріңкі орналасады. Жапырақты талломасының ұзын орта-

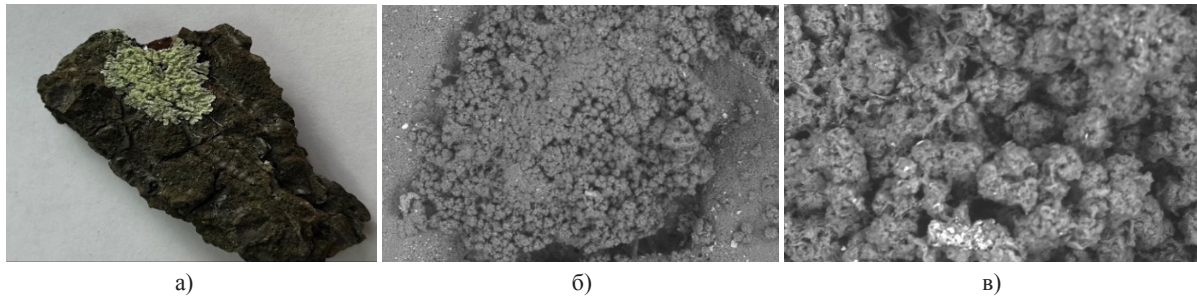
лық бөліктері бірінің үстін бірі жауып қабат түзеді, оның шеткі жиектерінде көпіршік тәрізді томпайған соредий, кейде коралл тәрізді изидий түзіледі. Денесінің жоғарғы беті жасыл-сұр, астыңғы беті қара түсті. Апотецилері сирек кездеседі. Пикноконидилері тік, цилиндрлі. Талломасы КОН, СаСl2О2 ертінділер әсерінен сарғайды.



12-сурет – а – *Cetraria glauca* қынасының жапырақ тәрізді талломасының жалпы көрінісі;
б – қынаның талломасының шеткі жиектерінде орналасқан соредийлері;
в – қынаның астыңғы редзиналық бөлігі;

12. *Parmeliaceae* тұқымдасы – *Parmelia sulcata* өте сирек кездесетін, жиектері тілімденген жапырақ тәрізді қына. Ағаш қабығында өсетін эпифитті түрге жатады. Субстратқа тығыз бекіген. Талломасының жоғарғы беті көкшіл-сұр түсті. Төменгі бөлігі қара ридзинамен

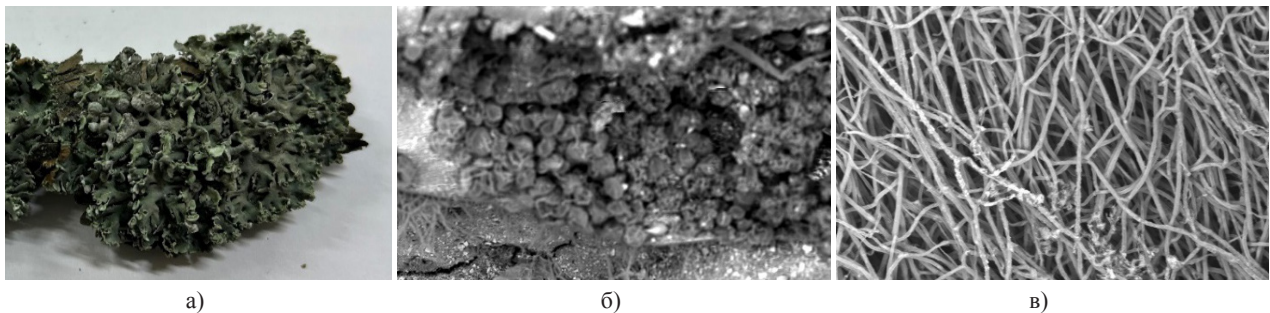
отырғызылған. Апотециялары мен изидийлері болмайды. Соредилері талломасының беткі жағын тұтастай жауып жатады. Пикноконидилері қарапайым, цилиндр тәрізді. Жапырақ тәрізді талломасының сыртқы беті КОН әсерінен сарғаяды.



13-сурет – а-*Parmelia sulcata* қынасының жалпы көрінісі;
б- Талломының беткі жағын тұтастай жауып жатқан соредиилер;
в- Қынанның астыңғы редзиналық бөлігі;

13. Parmeliaceae тұқымдасы – *Hypogymnia physodes* – қарағайдың сыртқы қабығында жабысып өскен, жапырақ тәрізді эпифитті қына. Көлеңкелі жерде өседі. Жапырақ тәрізді талломасының пішіні розетка тәрізді, ортасынан субстратқа жақсы бекіген, шеткі жиектері бос орналасқан. Шеткі жиектері қауырсынтәрізді тармақталып, сыртқа қайырылған және бір-біріне қабаттаса орналасқан. Қына талломының жоғарғы беті сұр, сұр-жасыл түсті, бетінде

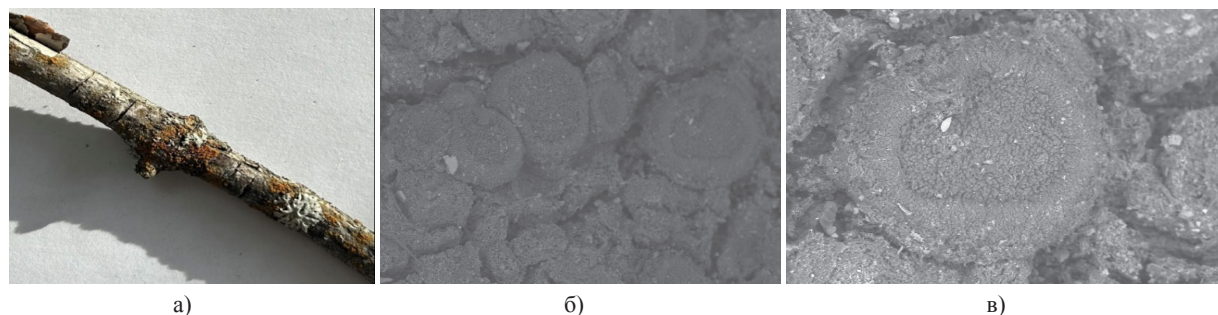
қара дақтары болады. Талломының астыңғы қабаты қара және қара қоңыр түсті. Жапырақ тәрізді қына талломасының ортаңғы бөлігі ақ түсті. Апотецилері мен изидилері болмайды, соредиілері дән тәрізді жапырақшаларының жиектерінде орналасқан. Пикнидилері қара дақ түрінде беткі қабатында шашырап орналасқан. Денесінің сыртқы қабаты КОН әсерінен сарғайып, артынша қоңыр-қызыл түске айналады.



14-сурет – а – ағаш бетінде қоныстанған *Hypogymnia physodes* қынасының жалпы көрінісі;
б – жапырақ тәрізді қына талломасының жиектерінде орналасқан соредиилердің көрінісі;
в – қынанның астыңғы редзиналық бөлігі;

14. Teloschistaceae тұқымдасы – *Xanthoria parietina* ағаштардың қабығында өсетін, жиі кездесетін, ұсақ жапырақшалы немесе қабыршақты, дөңгелек пішінді қына. Субстратқа жабысып өседі, төменгі бөлігі жиырылған ақшыл түсті, жоғары бетінің түсі қызыл-сары түсті.

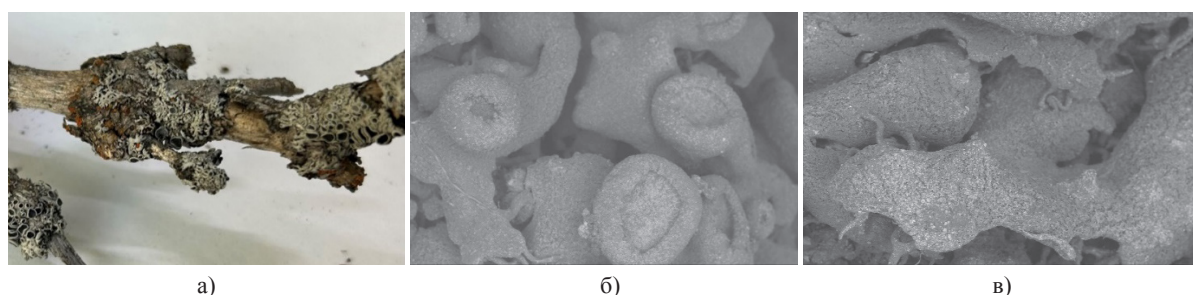
Төменгі жағы ақшыл түсті. Апотециялары дөңгелек келген саны жағынан өте көп және қондырмалы түрде, қысқа келген аяқшасымен талломасының ортаңғы бөлігінде түзілген. Апотециялары мен талломасы КОН әсерінен қызарады.



15-сурет – а – ағаш бетінде қоныстанған *Xanthoria parietina* қынасының жалпы көрінісі;
б – қына талломасында қондырмалы орналасқан апотецияларының көрінісі;
в – қынанның апотециясының ұлғайтылған көрінісі.

15. Physciaceae тұқымдасы – *Physcia leptalea* сирек кездесетін қабыршақты немесе ұсақ жапырақ тәрізді талломалары субстратқа жабысып немесе аздап көтеріңкі орналасады. Қынаның үстіңгі беткі бөлімі ақшыл-сұр немесе жасылдау-сұр түсті. Астыңғы бөлігі ашқыл түсті, ризоидты. Субстратта орналасқан талломалары

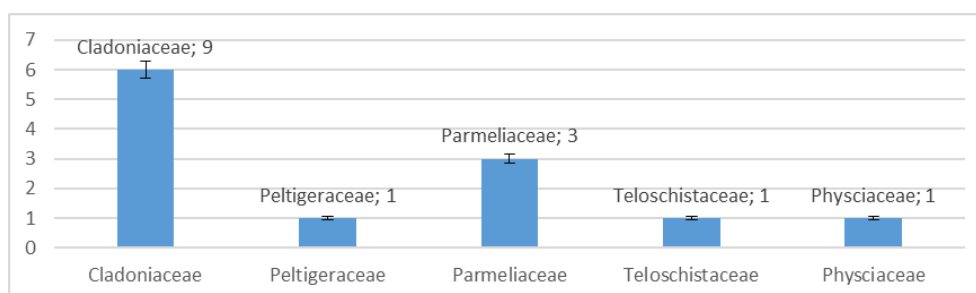
бір-бірін жауып, қабаттасып орналасады, шеткі жиектері қатты тілімшеленген. Апотециялары қондырмалы, апотецияларының дисксі жалпақ келген қара немесе қара-қоңыр түсті. Дисклерінің жиектері ақ түсті өңезді болып келеді. Денесінің беткі бөлігі КОН ертіндісі әсерінен сарғаяды, бірақ ортасы өзгермейді.



16-сурет – а – *Physcia leptalea* қынасының жалпы көрінісі;
б – қондырмалы қара немесе қара-қоңыр түсті апотециялы бөлігі;
в – қынанның астыңғы бөлігі.

Зерттелінген аймақтарда өсетін қыналарды анықтау барысында *Cladoniaceae* тұқымдасынан 1 туыс, 9 түр, *Peltigeraceae* тұқымдасынан 1 туыс,

1 түр, *Parmeliaceae* тұқымдасынан 3 туыс, 3 түр, *Teloschistaceae* – 1 туыс, 1 түр, *Physciaceae* тұқымдасынан 1 туыс, 1 түр анықталды.



1-диаграмма – Қарағайлы орманнан жиналған қыналардың тұқымдастары мен түрлік құрамы

Маршрутты экспедиция кезінде Бородулиха бағытында орналасқан қарағайлы орманның орман шаруашылығына байланысты бөлінген Қарағайлы, Батпай, Камышинко және Бородулиха аймақтарында қоныстанған 15 қына түрлерінің арасында доминантты түр ретінде *Cladonia rangiferina* түрі анықталды. Бұл түр осы аймақта өсетін қорғауды қажет ететін сирек кездесетін түр ретінде 1981 жылы басылып шыққан «Қызыл кітапқа» енгізілген [20].

Ең бастысы 44 жыл аралығында лихенофлораға байланысты Қарағайлы орманда нақтылы зерттеу жұмыстары жүргізілмеген. Қазіргі кезде *Cladonia rangiferina* түрі зерттеуге алынған орман алқаптарының ашық алаңдарында кездесу жиілігі жоғары доминантты түр екендігі анықталды.

Экспедиция барысында зерттеу аймақтарында таралған қына түрлерінің арасында доминантты түрдің сандық және жабындық проектісі бойынша нақтылы көрсеткіштерін алу үшін, геоботаникада кеңінен қолданылатын зерттеу әдістерінің бірі ретінде квадрат әдісі алынды. Осы әдіске сәйкес, 1 м² жер бетінде өсетін *Cladonia rangiferina* популяциясының сандық және жабындық проектісін анықтау жұмыстары тек Батпай және Бородулиха орман аймақтарында ғана жүргізілді. Ал зерттеуге алынған Камышинко орман аймақтарында бұл түр сирек кездессе, ал Семей қаласының іргелес орналасқан Қарағайлы орман алқаптарында бұл түр кездеспеді. *Cladonia rangiferina* түрінің барлық зерттеу аймақтарында қоныстануы мен кездесу жиіліктері біркелкі болмаған себепті, Друде шкаласы бойынша жалпы жиі (Сор) кездесетін түр ретінде қарастырылды.



17-сурет – (а) Бородулиха және (б) Батпай орман шаруашылығы аймақтарында *Cladonia rangiferina* қынасының қоныстануының көрінісі



18-сурет – Ормандардағы эпифитті қыналардың ағаш қабықтарында қоныстануының көрінісі

Зерттеу әдістерінің бірі ретінде, алдын-ала дайындалған 1 м² квадратты ағаштан жасалған раммаларды қына өскен жерлерге 25 рет

қайталма кездейсоқ лақтыру арқылы, *Cladonia rangiferina* популяциясының сандық және жабындық проектісі анықталды.

2-кесте – Семей орманының Бородулиха бағытындағы орман шаруашылығы орналасқан аймақтардағы доминантты қына *Cladonia rangiferina* түрінің сандық және жабындық проектісі бойынша зерттеу жұмысының нәтижелері

Реті	Зерттеуге алынған аймақтар атауы	1 м ² жерде өскен қынаның орташа сандық көрсеткіші, дана	1 м ² жерде өскен қынаның орташа жабындық көрсеткіші, %
1	Батпай орман аймақтары	24,1	50,6
2	Бородулиха орманы	28,8	75

Зерттеу барысында Батпай және Бородулиха орман территориясында өскен *Cladonia rangiferina* қынасының сандық және жабындық проектісі бойынша алынған көрсеткіштерді салыстыру кезінде Бородулиха орманында бұл түрдің 1 м² жерде өскен қына орташа сандық көрсеткіші және соған сәйкес жабындық проектісі бойынша жоғары екендігі анықталды (2-кесте).

Қорытынды

Абай облысының Семей – Бородулиха бағытындағы орман алқаптарында Қарағайлы (50° 35' 51'' N 80° 23' 45'' E), Батпай (50° 37' 05'' N 80° 32' 56'' E), Камышинко (50° 41' 31'' N 80° 42' 05'' E) және Бородулиха (50° 44' 55'' N 80° 50' 19'' E) орман шаруашылықтары орналасқан аймақтардағы қыналардың түрлік құрамын, экологиясын, тіршілік формасы мен кездесу жиіліктерін анықтау және коллекциялау жұмыстары жүргізілді. Жинақталған қына түрлерін идентификациялау JSM-6390 LV JEOL рентгендіс-пектральді микроскоп түрін қолдану арқылы

морфологиялық құрылысымен қатар, олардың көбею жолдарының ерекшеліктеріне байланысты фотосуреттер, қына түрлерін анықтаудың негізгі әдістері ретінде қолданылды.

Зерттеу жұмысының мақсатына сәйкес Семей орманының Семей- Бородулиха бағытындағы Қарағайлы, Батпай, Камышинко және Бородулиха орман шаруашылықтары орналасқан аймақтарда өсетін қына түрлері 5 тұқымдасқа, 7 туысқа және 15 түрге жататындығы анықталып, олар тіршілік формасына байланысты бұталы, жапырақты және қабыршақты қына түрлеріне топтастырылды.

Жинақталған қына түрлері экологиясына байланысы 7 эпифитті, 8 эпигейлі түрлерге біріктірілді, ал Друде шкаласы бойынша бұл түрлердің 7 түрі (Сор) жиі, 5 түрі (Sp) сирек, 3 түрі өте сирек (Sol) кездесетін түр ретінде анықталды.

Анықталған қына түрлерінің арасында Қазақстанның «Қызыл кітабына» енгізілген *Cladoniaceae* тұқымдасына жататын *Cladonia rangiferina* түрі осы аймақтағы доминантты түр ретінде қарастырылды.

Әдебиеттер

1. О реорганизации отдельных государственных учреждений комитета лесного и охотничьего хозяйства Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан. Постановление Правительства Республики Казахстан от 22 января 2003 года №75 https://adilet.zan.kz/rus/archive/docs/P030000075_/22.01.2003
2. Xiaoen Zhao, Feng Chen, Andrea Seim, Mao Hu, Ünal Akkemik, Arailym Kopabayeva, Kuralay Mazarzhanova, Ruibo Zhang, Bagila Maisupova, Vitaliy Kirillov, Bulkair Mambetov, Shulong Yu, Qing He, Daniyar Dosmanbetov, Nurzhan Kelgenbayev. Global warming leads to growth increase in *Pinus sylvestris* in the Kazakh steppe // *Forest Ecology and Management*. – 2024, -Volume 553, – P. 121635 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378112723008691>
3. Андреева Е.И.. Флора споровых растений Казахстана. Лишайники // Академия наук Казахской ССР, Алма-Ата. Институт ботаники, 1978г.
4. Букабаева Ж.Т., Абиев С., Силыбаева Б.М., Асанова У, Шарипханова А, Сағдатқызы Б. Epiphytic and epigeal lichens bioindicators of air pollution in the Burabay National Park, Kazakhstan // *BIODIVERSITAS. Journal of Biological Diversity*. – 2023, -Volume 24, – P. 2702-2709. DOI 10.13057/biodiv/d240523
5. Тахаева М, Аманкулова Б. Флора, растительность и растительные ресурсы Казахстана // 1981- 1997: Библиографический указатель. - Алматы, -2006,- С.34.

6. Monika Thakur, Savita Bhardwaj, Vinod Kumar, Jesis Rodrigo-Comino. Lichens as effective bioindicators for monitoring environmental changes. A comprehensive review // Total environment Advances. – 2024, -Volume 9 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2950395723000012>
7. Anderson J, Levesque N, Caron F, Beckett P, G.A.Spiers. A review on the use of lichens as a biomonitoring tool for environmental radioactivity // Journal of Environmental Radioactivity. – 2022, – Volume 243, -P. 106797 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0265931X21002691>
8. Joseph R. Graney, Eric S.Edgerton, Matthew S.Landis. Using Ph isotope ratios of particulate matter and epiphytic lichens from the Athabasca Oil Sands Region in Alberta, Canada to quantify local, regional, and global Pb source contributions // Science of The Total Environment. -2019, – Volume 654, – P.1293-1304 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718343948>
9. Jessica L. Allen, James C.Lendemer. A call to reconceptualize lichen symbioses // Trends Ecology and Evolution. – 2022, -Volume 37, – Issue 7, – P. 582-589 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016953472200057X>
10. Lyudmyla Dymytrova, Silvia Stofer, Christian Ginzler, Frank T. Breiner, Christoph Scheidegger. Forest-structure data improve distribution models of threatened habitat specialists Implications for conservation of epiphytic lichens in forest landscapes // Biological Conservation. -2016, – Volume 196, – P. 31-38 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006320716300313>
11. Jesse E.D. Miller, John Villella , Daphne Stone , Amanda Hardman. Using lichen communities as indicators of forest stand age and conservation value // Forest Ecology and Management. -2020, -Volume 475, – P.118436. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378112720312056>
12. Ricardo Miranda-Gonzalez, Bruce McCune, Andrew R.Moldenke. Lichens as material for Lepidopteras housing: A molecular approach to a widespread and highly selective interaction // Fungal Ecology.- 2023, – Volume 61, P. 101195 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1754504822000563>
13. Закутнова В.И. Активный мониторинг лишайников Астрахани // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – №8, – 2004г., – С.29
14. Danielle A.Ward, Sutapa Adhikari, Madeleen Struwig, Sarah Skikne, Alan Fryday, Dylan Smith, Nishanta Rajakaruna. Lichen morphospecies diversity and community composition across the Tswalu Kalahari Reserve, South Africa // South African Journal of Botany. – 2024, -№174, – P.978-987 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S025462992400632X>
15. Rhiannon Gloor, Marek Svitok, Martin Mikoláš, Jeňyk Hofmeister, Josef Halda, Pavel Janda. Sustaining forest biodiversity: Exploring the effect of long-term natural disturbance dynamics on contemporary lichen communities in primary forest ecosystems // Forest Ecosystems. – 2024, -Volume 11, – P. 100214 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2197562024000502>
16. Matteo Conti, PierLuigi Nimis, Mauro Tretiac, Lucia Muggia, Andrea Moro, Stefano Martellos.The Italian lichens dataset from the TSB herbarium (University of Trieste) // Biodiversity Data Journal. – 2023, -Volume 11 <https://www.sciencedirect.com/org/science/article/pii/S1314283623002233>
17. David L. Hawksworth. 2024 Mycological book news // Fungal Biology Reviews. – 2024, – Volume 50, P. 100399 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1749461324000447>
18. Marta Alonso-Garcia , Raquel Pino-Bodas , Juan Carlos Villarreal A. Co-dispersal of symbionts in the lichen *Cladonia stellaris* inferred from genomic data // Fungal Ecology.-2022,-Volume 60, P. 101165 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1754504822000265>
19. Воронов А.Г. Геоботаника // Учебное пособие для университетов и пединст.-Москва,- Издательство «Высшая школа»,- 1973г., – С.76-78
20. Қазақ ССР-нің Қызыл кітабы. Қазақстан, «Ғылым баспасы», - 1981ж.

References

1. Anderson J, Levesque N, Caron F, Beckett P, Spiers G.A. (2022) A review on the use of lichens as a biomonitoring tool for environmental radioactivity. Journal of Environmental Radioactivity, vol. 243, p. 106797 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0265931X21002691>
2. Andreeva E.I. (1978) Flora Sporovykh rastenii Kazakhstana. Lishayniki [Flora of spore plants of Kazakhstan. Lichens] Akademia nauk Kazakhskoy SSR, Almaty, 1978.
3. Bukabayeva Zh.T, Abyev S., Silybayeva B.M., Asanova U, Sharipkhanova A.S., Sagdatkyzy B. (2023) Epiphytic and epigeal lichens bioindicators of air pollution in the Burabay National Park, Kazakhstan. BIODIVERSITAS. Journal of Biological Diversity, vol. 24, pp. 2702-2709. DOI 10.13057/biodiv/d240523
4. Danielle A.Ward, Sutapa Adhikari, Madeleen Struwig, Sarah Skikne, Alan Fryday, Dylan Smith, Nishanta Rajakaruna. (2024) Lichen morphospecies diversity and community composition across the Tswalu Kalahari Reserve, South Africa. South African Journal of Botany, № 174, pp. 978-987 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S025462992400632X>
5. David L. Hawksworth. (2024) 2024 Mycological book news. Fungal Biology Reviews, vol. 50, p. 100399 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1749461324000447>
6. Jessica L. Allen, James C.Lendemer. (2022) A call to reconceptualize lichen symbioses. Trends Ecology and Evolution, vol. 37, pp. 582-589 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016953472200057X>
7. Jesse E.D. Miller, John Villella , Daphne Stone , Amanda Hardman. (2020) Using lichen communities as indicators of forest stand age and conservation value. Forest Ecology and Management, vol. 475, p.118436. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378112720312056>

8. Joseph R. Graney, Eric S. Edgerton, Matthew S. Landis. (2019) Using Pb isotope ratios of particulate matter and epiphytic lichens from the Athabasca Oil Sands Region in Alberta, Canada to quantify local, regional, and global Pb source contributions. *Science of The Total Environment*, vol. 654, pp. 1293-1304 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718343948>
9. Lyudmyla Dymytrava, Silvia Stofer, Christian Ginzler, Frank T. Breiner, Christoph Scheidegger. (2016) Forest-structure data improve distribution models of threatened habitat specialists Implications for conservation of epiphytic lichens in forest landscapes. *Biological Conservation*, vol. 196, pp. 31-38 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006320716300313>
10. Marta Alonso-Garcia, Raquel Pino-Bodas, Juan Carlos Villarreal A. (2022) Co-dispersal of symbionts in the lichen *Cladonia stellaris* inferred from genomic data. *Fungal Ecology*, vol. 60, p. 101165 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1754504822000265>
11. Matteo Conti, PierLuigi Nimis, Mauro Tretiach, Lucia Muggia, Andrea Moro, Stefano Martellos. (2023) The Italian lichens dataset from the TSB herbarium (University of Trieste). *Biodiversity Data Journal*, vol. 11 <https://www.sciencedirect.com/org/science/article/pii/S1314283623002233>
12. Monika Thakur, Savita Bhardwaj, Vinod Kumar, Jesis Rodrigo-Comino. (2024) Lichens as effective bioindicators for monitoring environmental changes. A comprehensive review. *Total environment Advances*, vol. 9 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2950395723000012>
13. Postonovlenie Pravitelstva Respubliki Kazakhstan. (2003) O reorganizatsii otdelnykh gosudarstvennykh uchrezhdenii komiteta lesnogo i ohotnicheskogo khozyaistva Ministerstva selskogo khozyaistva Respubliki Kazakhstan [On the reorganization of certain state institutions of the Forestry and Hunting Committee of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan]. *Postonovlenie Pravitelstva Respubliki Kazakhstan*, 22 January, 2003 year, №75 https://adilet.zan.kz/rus/archive/docs/P030000075_/22.01.2003
14. Ricardo Miranda-Gonzalez, Bruce McCune, Andrew R. Moldenke. (2023) Lichens as material for Lepidoptera housing: A molecular approach to a widespread and highly selective interaction. *Fungal Ecology*, vol. 61, p. 101195 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1754504822000563>
15. Rhiannon Gloor, Marek Svitok, Martin Mikoláš, Jeňýk Hofmeister, Josef Halda, Pavel Janda. (2024) Sustaining forest biodiversity: Exploring the effect of long-term natural disturbance dynamics on contemporary lichen communities in primary forest ecosystems. *Forest Ecosystems*, vol. 11, p. 100214 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2197562024000502>
16. Takhaeva M., Amankulova B. (2006) Flora, rastitelnost i rastitelnye resursy Kazakhstana [Flora, vegetation and plant resources of Kazakhstan] 1981- 1997: Bibliograficheskii ukazatel, Almaty, p.34.
17. Qazaq SSR-nin Qizyl kitabı [Red Book of the Kazakh SSR] (1981) Kazakhstan, «Science publishing house».
18. Voronov A.G. (1973) Geobotanika [Geobotany] Uchebnoe posobie dlya universitetov i pedinstitutov, Izdatelstvo “Visshaya shkola”, Moscow, pp. 76-78
19. Xiaoen Zhao, Feng Chen, Andrea Seim, Mao Hu, Ünal Akkemik, Arailym Kopabayeva, Kuralay Mazarzhanova, Ruibo Zhang, Bagila Maisupova, Vitaliy Kirillov, Bulkair Mambetov, Shulong Yu, Qing He, Daniyar Dosmanbetov, Nurzhan Kelgenbayev. (2024) Global warming leads to growth increase in *Pinus sylvestris* in the Kazakh steppe. *Forest Ecology and Management*, vol. 553, p. 121635 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378112723008691>
20. Zakutnova V.I. (2004) Aktivnyi monitoring lishainikov Astrakhani [Active monitoring of Astrakhan lichens] *Estestvennyye nauki*, №8, P.29

Авторлар туралы мәлімет:

Жұманиязова Әйгерім Жұманиязқызы (корреспондент-автор) – Сәрсен Аманжолов атындағы Шығыс Қазақстан Университетінің биология кафедрасының 1 курс докторанты (Өскемен қаласы, Қазақстан, aiko-13.10.92@mail.ru)

Букабаева Жанылхан Тусупжановна – Alikhan Bokeikhan University, қолданбалы биология кафедрасының меңгерушісі, PhD (Семей қаласы, Қазақстан, zhanilxan79@mail.ru)

Силыбаева Батияш Мукановна – Alikhan Bokeikhan University, қолданбалы биология кафедрасының доценті, б.ғ.к. (Семей қаласы, Қазақстан, batiyashsilybaeva@mail.ru)

Кунанбаева Нургуль Сериковна – Alikhan Bokeikhan University, қолданбалы биология кафедрасының аға оқытушысы, магистр (Семей қаласы, Қазақстан, nskunanbayeva78@mail.ru)

Ануарбекова Арай Нұрлыбекқызы – Alikhan Bokeikhan University, қолданбалы биология кафедрасының оқытушысы, магистр (Семей қаласы, Қазақстан, anuarbekova98@inbox.ru)

Information about authors:

Zhumaniyazova Aigerim Zhumaniyazkyzy (correspondent author) – 1st year doctoral student of the Department of Biology of the Sarsen Amanzholov East Kazakhstan University (Ust-Kamenogorsk, Kazakhstan, aiko-13.10.92@mail.ru)

Bukabayeva Zhanylkhan Tusupzhanovna – Alikhan Bokeikhan University, head of the Department of Applied Biology, PhD (Semey, Kazakhstan, zhanilxan79@mail.ru)

Silybayeva Batiyash Mukanovna – Alikhan Bokeikhan University, associate professor of the Department of Applied Biology, c.b.sc (Semey, Kazakhstan, batiyashsilybaeva@mail.ru)

Kunanbayeva Nurgul Serikovna – Alikhan Bokeikhan University, senior lecturer of the Department of Applied Biology, master's degree (Semey, Kazakhstan, nskunanbayeva78@mail.ru)

Anuarbekova Aray Nurlybekkyzy – Alikhan Bokeikhan University, lecturer of the Department of Applied Biology, master's degree (Semey, Kazakhstan, anuarbekova98@inbox.ru)

Келін түсті 20 ақпан 2025 жыл
Қабылданды 20 мамыр 2025 жыл

2-бөлім
МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ

Section 2
MOLECULAR BIOLOGY

Раздел 2
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

T.S. Kazanbasov^{1,2,3*}, B.K. Iskakov¹, A.V. Zhigailov^{1,4}

¹M. Aitkhozhin Institute of molecular biology and biochemistry, Almaty, Kazakhstan

²Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

³Shenzhen University School of Medicine, Shenzhen, Guangdong, China

⁴Almaty Branch of the National Center for Biotechnology, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: temirhankazanbasov@gmail.com

CLONING, MUTATION AND EXPRESSION OF *PIORF4* CDNA GENE IN *ESCHERICHIA COLI* CELLS AND PURIFICATION OF *PIORF4*(E9D)-6HIS RECOMBINANT PROTEIN

In plant cells exposed to stress, 18S rRNA has been observed to cleave as part of the small ribosomal subunit and accumulate a 135 nucleotide 5'-terminal fragment, termed 5,3S rRNA. However, the physiological significance of this phenomenon remains unknown. The aim of this study was to investigate the role of discrete 18S rRNA fragmentation in plants using the yeast toxin *PiORF4*, which can induce a similar cleavage in yeast. In this work, a mutated cDNA gene encoding a form of the *PiORF4*(E9D) toxin with increased specificity for 18S rRNA was generated. The mutated gene was cloned into the pET23c vector, followed by expression in *Escherichia coli* BL21(DE3) cells. The resulting recombinant *PiORF4*(E9D)-6His protein was successfully purified by metal ion affinity chromatography and its identification confirmed by immunoblotting. In addition, preliminary *in vitro* studies demonstrated the ability of *PiORF4*(E9D) to specifically target 18S rRNA under controlled conditions, supporting its potential as a model system for plant stress research. The results lay the groundwork for studying the mechanisms of regulation of protein biosynthesis in plants under stress conditions. The practical significance of the work lies in the possibility of using the data obtained to develop approaches for the selection of plants resistant to stress.

Keywords: Genetic construct, *PiORF4*, *in vitro* mutagenesis, 18S rRNA, recombinant protein.

Т.С. Казанбасов^{1,2,3*}, Б.К. Искаков¹, А.В. Жигайлов^{1,4}

¹«М.Ә. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты» ШЖҚ РМК, Алматы, Қазақстан

²Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

³Шэньчжэнь университетінің медицина мектебі, Шэньчжэнь, Гуандун, Қытай

⁴«Ұлттық биотехнология орталығы» ШЖҚ, Алматы, Қазақстан

*e-mail: temirhankazanbasov@gmail.com

Escherichia coli жасушаларындағы *PIORF4* генінің қДНҚ-ын клондау, мутациялау мен экспрессиялау, және *PiORF4*(E9D)-6His рекомбинантты протеиндың тазарту

Стрестік жағдайдағы өсімдік жасушаларында 18S рРНҚ-ның кіші рибосомалық суббөлшек құрамында ажырап, 135 нуклеотидтен тұратын 5'-үштық фрагментті жинақтайтыны, оны 5,3S рРНҚ деп атайтыны анықталған. Алайда, бұл құбылыстың физиологиялық маңызы әлі белгісіз. Бұл зерттеудің мақсаты өсімдіктердегі 18S рРНҚ-ның дискретті фрагментациясының рөлін ашу болды. Ол үшін ашытқыда осындай ажырату процесін тудыруы мүмкін *PiORF4* ашытқы токсині пайдаланылды. Осы жұмыс аясында 18S рРНҚ-ға ерекше жоғары спецификалық қасиеті бар *PiORF4*(E9D) токсинін кодтайтын мутацияланған қДНҚ гені құрылды. Мутацияланған ген рЕТ23с векторына клондалып, содан кейін *Escherichia coli* BL21(DE3) жасушаларында экспрессияланды. Алынған рекомбинантты *PiORF4*(E9D)-6His протеинды металл-ионды аффинді хроматография арқылы табысты тазартылып, иммуноблоттинг әдісімен оның сәйкестігі расталды. Сонымен қатар, алдын ала жүргізілген *in vitro* зерттеулер *PiORF4*(E9D)-нің 18S рРНҚ-ға ерекше әсер ететін қабілетін бақыланатын жағдайларда көрсетіп, оны өсімдіктердің стресс жағдайындағы зерттеулерінде үлгілік жүйе ретінде пайдалану мүмкіндігін қолдады. Алынған нәтижелер өсімдіктердегі стресс жағдайында протеин биосинтезін реттеу механизмдерін зерттеуге негіз қалайды. Жұмыстың практикалық маңызы алынған деректерді стресс жағдайларына төзімді өсімдіктерді іріктеудің жаңа тәсілдерін дамыту үшін пайдалану мүмкіндігінде жатыр.

Түйін сөздер: Генетикалық конструкция, *PiORF4*, *in vitro* мутагенезі, 18S рРНҚ, рекомбинантты протеин.

Т.С. Казанбасов^{1,2,3*}, Б.К. Искаков¹, А.В. Жигайлов^{1,4}¹РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина» КН МНВО РК, Алматы, Казахстан²Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан³Медицинская школа Шэньчжэньского университета, Шэньчжэнь, Гуандун, Китай⁴Филиал ТОО «Национальный центр биотехнологии», Алматы, Казахстан

*e-mail: temirhankazanbasov@gmail.com

Клонирование, мутирование и экспрессия в клетках *Escherichia coli* κДНК гена *PiORF4* и очистка рекомбинантного белка *PiORF4(E9D)-6His*

Было замечено, что в клетках растений, находящихся в состоянии стресса, 18S рРНК расщепляется как часть малой рибосомной субчастицы и накапливает 135-нуклеотидный 5'-терминальный фрагмент, называемый 5,3S рРНК. Однако физиологическое значение этого явления остается неизвестным. Целью данного исследования было изучить роль дискретной фрагментации 18S рРНК в растениях с помощью дрожжевого токсина *PiORF4*, который может вызывать аналогичное расщепление в дрожжах. В данной работе был создан мутированный κДНК-ген, кодирующий форму токсина *PiORF4(E9D)* с повышенной специфичностью для 18S рРНК. Мутированный ген был клонирован в вектор pET23с, после чего он был экспрессирован в клетках *Escherichia coli* штамма BL21(DE3). Полученный рекомбинантный белок *PiORF4(E9D)-6His* был успешно очищен с помощью металл-ионной аффинной хроматографии, а его идентификация была подтверждена иммуноблотингом. Кроме того, предварительные исследования *in vitro* продемонстрировали способность *PiORF4(E9D)* специфически воздействовать на 18S рРНК в контролируемых условиях, что подтверждает его потенциал в качестве модельной системы для изучения стресса растений. Полученные результаты закладывают основу для изучения механизмов регуляции биосинтеза белка в растениях в условиях стресса. Практическая значимость работы заключается в возможности использования полученных данных для разработки подходов к селекции растений, устойчивых к стрессу.

Ключевые слова: Генетическая конструкция, *PiORF4*, мутагенез *in vitro*, 18S рРНК, рекомбинантный белок.

Abbreviations and notations

DNA – deoxyribonucleic acid, cDNA – complementary DNA, PAA-gel – polyacrylamide gel, PCR – polymerase chain reaction, RNA – ribonucleic acid, RT – reverse transcription, Tris – tris(hydroxymethyl)aminomethane, ATP – adenosine triphosphoric acid, BSA – bovine serum albumin, EDTA – ethylenediaminetetraacetate, 6His-tag – amino acid sequence of six histidines, *PiORF4* – *Pichia inositolivora* toxin encoded by the open frame ORF4.

1. Introduction

Plants are living organisms devoid of the capacity for movement. Like any other living organism, they are subject to periodic stress due to unfavourable influences such as drought, decreased or increased ambient temperature, increased salt concentrations, and hypoxia (overwatering). These factors have the capacity to alter gene expression at the level of transcription and also affect the process of protein biosynthesis [1]. Protein biosynthesis is one of the most energy-consuming processes in the cell; therefore, the ability of living organisms to suppress

this process under stresses to conserve resources and prevent the accumulation of misfolded proteins is critical [2]. One way in which this negative regulation of protein biosynthesis in eukaryotic cells is mediated is by so-called ribosome inactivating proteins, RIPs (from Ribosome Inactivating Proteins). Notable examples of RIPs include ricin and abrin, which are regarded as some of the most potent biologically derived poisons [3]. The mechanism of action of RIPs is based on the cleavage of the 28S rRNA molecule along the so-called ricin-sarcin loop due to apurination of one of its residues. This results in the inability of 60S ribosomal subunits to bind the elongation factor eEF2, and thus to blocking the elongation stage of the polypeptide chain [4, 5]. A number of prokaryotic toxins, such as shiga-toxin (shigatoxine), act in a similar manner [6].

The cleavage of rRNA is not invariably associated with ribosome inactivation; during ribosome biogenesis, several steps of cutting of the initial pre-rRNA molecule (45S) occur to form 18S, 28S and 5.8S rRNA [7]. Subsequent to the initial assembly of pre-40S particles and their transportation into the cytoplasm, the 3'-end of 18S rRNA is cleaved by the Nob1 endonuclease, thereby completing the maturation of the 40S subunit [8].

Previous studies have demonstrated that in plant cells experiencing specific forms of stress, 18S rRNA undergoes cleavage as part of the small ribosomal subunit, resulting in the accumulation of the 135-nucleotide 5'-end fragment (5.3S rRNA) within the cytoplasm [9]. The molecular mechanism and physiological significance of such discrete fragmentation of 18S rRNA remains to be elucidated [10]. One hypothesis suggests that this cleavage may lead to the suppression of translation for all mRNAs or specific mRNAs [11].

In yeast *Pichia inositolovora* cells, the *PiORF4* toxin has been found to cleave a 130-nucleotide fragment from yeast 18S rRNA, a process analogous to the cleavage of 5.3S rRNA molecules found in plant cells [12]. Bioinformatic analysis revealed that the 18S rRNA region where the break occurs is conserved in yeast and plants [13]. Consequently, the decision was taken to utilise the recombinant yeast toxin *PiORF4* to investigate the role of discrete 18S rRNA fragmentation in plants.

The present study presents data on the cloning of a mutated cDNA gene encoding the yeast toxin *PiORF4*(E9D) into the expression vector pET23c, optimisation of its expression in *Escherichia coli* cells, isolation of the recombinant *PiORF4*(E9D)-6His protein and confirmation of its identity by immunoblotting. In the future, the purified recombinant protein is planned to be used for site-directed cleavage of 18S rRNA as part of ribosomal subunits in a model cell-free system of protein synthesis *in vitro* from wheat embryos in order to study the role of discrete fragmentation of 18S rRNA in plants.

2. Materials and methods

The study focused on *Escherichia coli* bacteria cultivated in liquid LB medium at a temperature of 30°C [14].

Computer analysis was conducted utilising bioinformatic programmes such as MEGA-X, Blast, and RNA-structure 6.0.1. The nucleotide sequence of the *P. inositolovora* plasmid pPin1-3, which contains the ORF4 gene (GenBank: AJ564102), was retrieved from the NCBI database.

Creation of the pET23c-PiORF4(E9D)-6His genetic construct. The nucleotide sequence of the *P. inositolovora* ORF4 cDNA gene was optimised for optimal expression in *E. coli* cells, and a mutation was introduced into this open reading frame resulting in the replacement of a glutamic acid residue with an asparagine acid (D) residue at position 9. The mutated cDNA gene was synthesised de novo

and subsequently cloned by *NdeI/XhoI* restriction sites into the vector plasmid pET23c, utilising T4 DNA ligase (Thermo Fisher Sci.) in accordance with the manufacturer's protocol.

Polymerase chain reaction (PCR) was performed for clone screening. The primers utilised were 'PiORF4-Rev-Xho' (5'-ttactcgagagagtg-gagttggggacatttttttgg) and 'PiORF4-FW-Nde' (5'-atcggatccatatgaatcaacaacaagctgctcca). Reactions were performed using Hot Start Taq-DNA polymerase (NEB) kits, following the temperature conditions outlined below: Stage 1 – 10 minutes at 95°C; Stage 2 – 20 seconds at 94°C, 20 seconds at 55°C, 1 minute and 30 seconds at 72°C – 35 cycles; Stage 3 – 5 minutes at 72°C – 1 cycle [15]. The amplification products were analysed by electrophoresis in a 1.0% agarose gel containing ethidium bromide, followed by band detection in transmitted UV light in a Quantum gel-documentation system (Vilber).

The DNA sequencing of constructs was performed using gene-specific primers and the Big Dye Terminator v.3.1 kit (Applied Biosystems) in accordance with the manufacturer's instructions. Subsequently, the samples were subjected to capillary electrophoresis on a 310 genetic analyser (Applied Biosystems) [16]. The obtained data were then analysed using Sequencing Analysis 5.2 software [17].

Expression and isolation of recombinant proteins. Plasmid *pET23c-PiORF4(E9D)-6His* was used to transform cells of the expression strain *E. coli* BL-21(DE3) by heat shock (42° C 90 sec). The subsequent growth of the plasmid-containing *E. coli* cells was undertaken in 200 ml of liquid LB medium at 30° C to an optical density of OD⁶⁰⁰ = 0.5, after which they were precipitated at 4000 g for 3 min [18]. The cells were then resuspended in 200 ml of fresh LB medium containing IPTG to a final concentration of 1 mM and cultured at 30° C for 4 hours. The recombinant *PiORF4*(E9D)-6His protein was isolated under native conditions by immobilised metal ion affinity chromatography (IMAC) using a PerfectPro Ni-NTA Agarose kit (5-Prime) in accordance with the manufacturer's procedure.

The one-dimensional electrophoresis of proteins in polyacrylamide gel according to Lammler [19] was performed in 12.5% PAA gel in the presence of 0.1% SDS (C = 0.5%) on a Mighty-small device (Hoefer). The gels were then stained with 0.125% Coomassie brilliant blue G-250 solution (Serva).

Immunoblotting. Protein transfer from gel to nitrocellulose membrane was performed using a

semi-dry blotting apparatus (C.B.S. Scientific). This process was carried out in transfer buffer containing 102 mM glycine, 25 mM Tris and 20% ethanol using a current of 0.8 mA/cm² for 1 hour. Following this, the membrane was washed twice for 10 minutes each in TBS buffer (20 mM Tris-HCl at pH 7.6; 140 mM NaCl), followed by two further washes of 10 minutes each in TBST buffer (TBS supplemented with 0.05% Tween-20). The membrane was then incubated in blocking buffer (5% Sigma skimmed milk in TBST) at 4°C overnight. Following three 20-minute washes in TBST, the membrane was subjected to an incubation at room temperature for 1 hour with a secondary antibody, namely anti-mouse HRP-conjugate (5-Prime), prepared at a 1:2000 dilution in blocking buffer. Thereafter, the membrane underwent two additional 20-minute washes in TBST, followed by two 10-minute washes in TBS. Finally, the membrane was treated with a peroxidase chemiluminescent substrate, utilizing the SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate kit (Promega) in accordance with the protocol provided by the manufacturer.

3. Results and discussion

To clone *PiORF4* cDNA gene into expression vector pET23c, bioinformatic analysis was performed in MEGA-X programme and primers 'PiORF4-Rev-Xho' and 'PiORF4-FW-Nde' were designed and tested in RNA-structure 6.0.1 programme to check self-complementarity and cross-complementarity to avoid synthesis of non-specific PCR products and primer duplexes during PCR. DNA amplification was performed using Pwo high-precision polymerase to reduce the chance of incorporation of unforeseen mutations into *PiORF4* cDNA [20]. The amplicon was treated with NdeI/XhoI restriction endonucleases and cloned into the pET23c vector treated with the same enzymes. The map of the obtained DNA construct *T7-PiORF4-6His_Pet23c* is presented in Figure 1.

The DNA clones were subjected to a polymerase chain reaction (PCR) analysis, utilising the same primers employed for the amplification of *PiORF4* cDNA. The results of the analysis are presented in Figure 2.

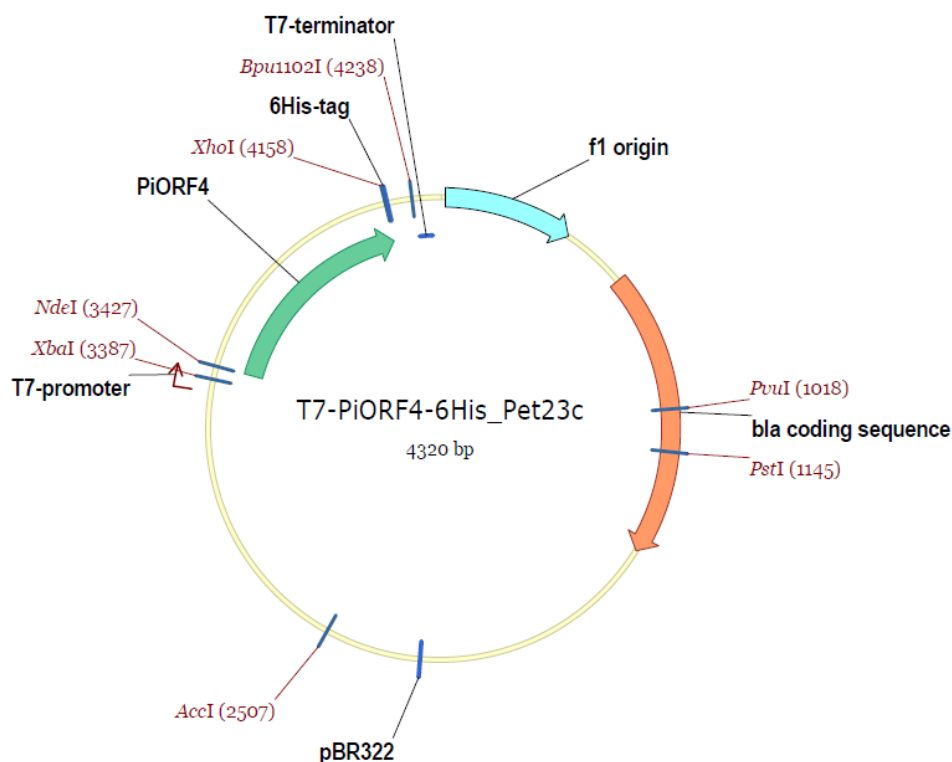


Figure 1 – T7-PiORF4-6His_Pet23c plasmid map

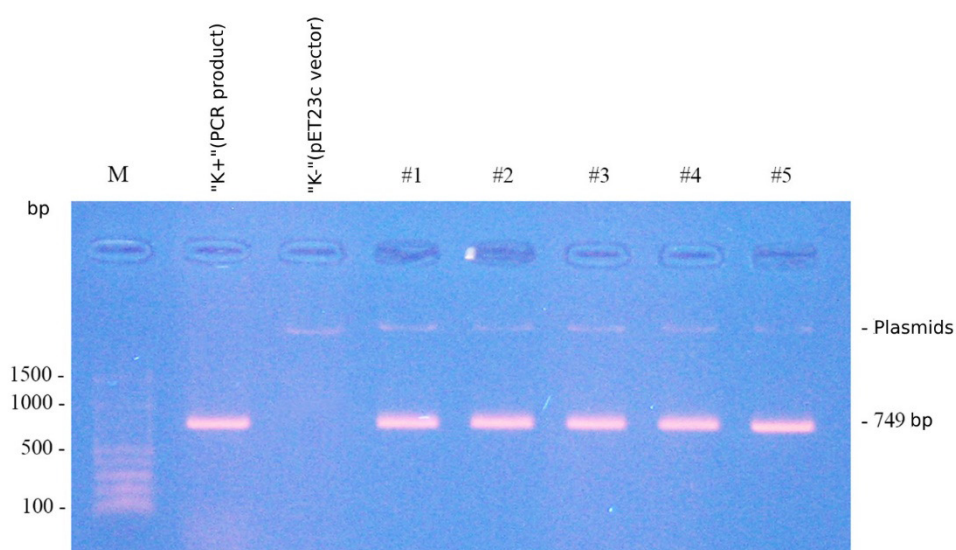


Figure 2 – PCR screening with primers of DNA clones “PiORF4-FW-Nde” / “PiORF4-Rev-Xho”

Electrophoresis was conducted in a 1.0% agarose gel containing ethidium bromide, followed by the detection of bands in transmitted UV light in a Quantum gel-documentation system (Vilber). M – marker 100bp DNA Ladder, (obtained from Thermo Fisher Sci.).

In addition, the PCR-positive clones were subjected to restriction analysis using restriction endonucleases *NdeI* and *XhoI* in order to verify them. The results of this analysis are presented in Figure 3.

According to Kast et al., replacement of a glutamic acid residue with an asparagine acid residue at position 9 of the yeast toxin *PiORF4* resulted in a significant increase in the specificity of cutting the 18S rRNA molecule within the small ribosomal subunit [9]. Therefore, it was decided to mutate the cloned *PiORF4* cDNA accordingly. The primers ‘PiORF4-D-Rev’ (5’-aatacatcaaAtcgtgtatggggag-cagcttgtgttg) and ‘PiORF4-D-FW’ (5’-tccatac-gaTttgatgatgtattgtgtgttg) were synthesised for *in vitro* mutagenesis (Figure 4).

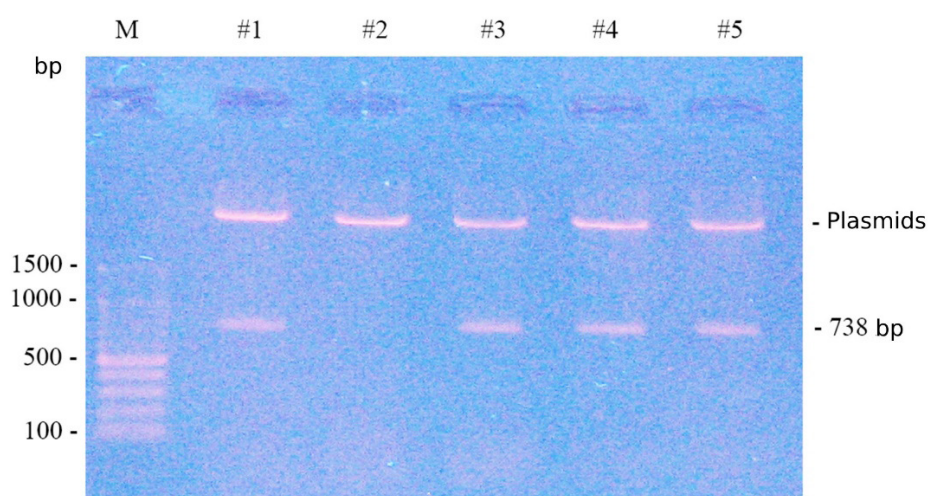


Figure 3 – Restriction analysis of *NdeI* / *XhoI* DNA clones

In order to verify that the nucleotide substitution had been correctly inserted at the designated site of the cloned cDNA and that no unforeseen mutation had occurred in parallel, Sanger sequencing [22] was performed using primer T7 (5'-taatacagactcactataggg). The analysis of the sequencing data of the obtained DNA construct *T7-PiORF4(E9D)-6His_Pet23c* confirmed that the adenine nucleotide was replaced by a thymine nucleotide at position 9 of the *PiORF4* gene. The mutated construct *T7-PiORF4(E9D)-6His_Pet23c* was then utilised to develop a recombinant protein, with the objective of enhancing the specificity of the recombinant *PiORF4* protein.

A bacterial expression system was selected for the production of yeast toxins. The anticipated molecular weight of the recombinant protein was approximately 28 kDa, and it was found to be active without the need for glycosylation. Furthermore, it was determined that the yeast gene expression system was not conducive to *PiORF4* gene expression,

owing to the toxicity of the translation product for yeast cells.

The *T7-PiORF4(E9D)-6His_Pet23c* plasmid was employed as a means of transforming cells of the expression strain *E. coli* BL-21(DE3), which contains the T7 bacteriophage RNA polymerase gene within its genome, under the control of the lacUV5 promoter. The *E. coli* cells that had been transformed with this plasmid were then grown, after which the synthesis of phage T7 polymerase was activated by adding IPTG to the medium. Following several hours of expression, the synthesis products were analysed by immunoblotting using antibodies to the 6-His amino acid sequence. Following confirmation of *PiORF4(E9D)-6His* cDNA expression in bacterial cells, its purification by IMAC affinity metal ion chromatography using Ni-NTA agarose was performed [23, 24]. The protein fractions obtained during the isolation of the recombinant protein were analysed by immunoblotting [25]. The results of this analysis are presented in Figure 6.

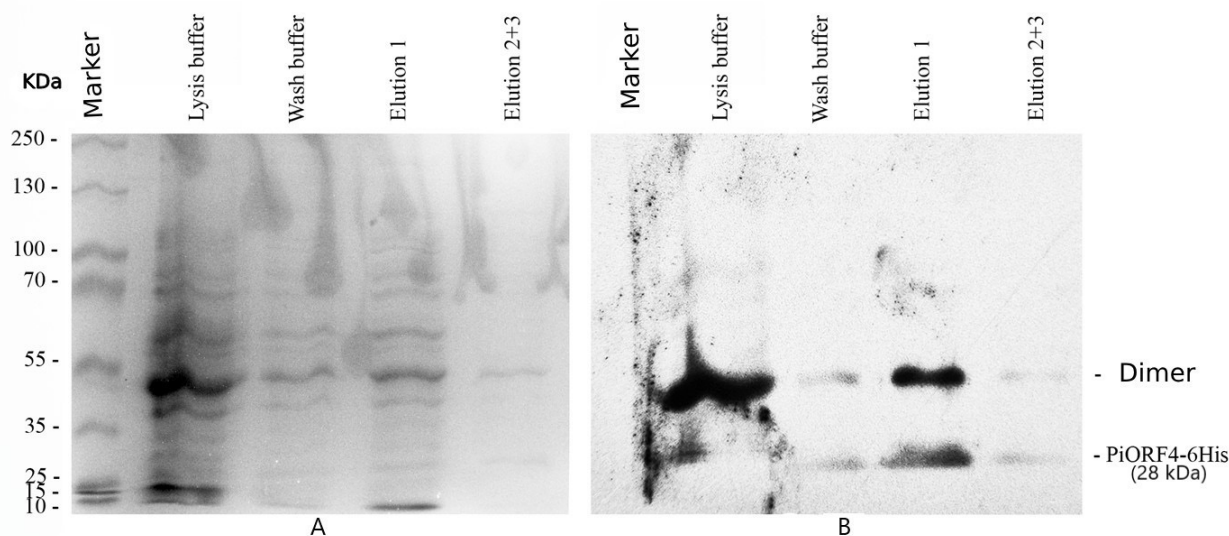


Figure 6 – Isolation of *PiORF4*-6His from *E. coli*

A – Electrophoresis in 12.5% polyacrylamide gel. B – Immunoblotting (Penta-His-Ab).
M – Protein marker, PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Fisher Sci.).

As demonstrated in Figure 6, in addition to the protein of the anticipated size (28 kDa), an additional product of approximately 50 kDa was released, which, according to the calculated parameters, corresponds to the dimer of *PiORF4(E9D)-6His* protein. The formation of dimers in *E. coli* has been observed during mass

expression [26], thus validating the outcome. The protein was purified by dialysis and concentrated in concentrating columns by centrifugation. The protein concentration was determined to be $571,9 \pm 13,3 \mu\text{g/ml}$ (total volume, 450 μl). The yield of the recombinant protein was 2,574 mg from 1 litre of nutrient medium.

Conclusion

A genetic construct, designated *pET23c-6His-PiORF4*, was obtained. This construct contains an open reading frame of the yeast toxin *PiORF4*, which is capable of producing targeted, specific breaks in rRNA molecules. Through *in vitro* mutagenesis, a nucleotide substitution was introduced into the cloned cDNA, resulting in an E9D substitution in the *PiORF4* protein, thereby increasing its specificity for 18S rRNA and preventing the yeast 28S rRNA molecule from being cut. The recombinant *PiORF4*(E9D)-6His protein was then produced in bacterial cells and successfully purified by means of the Immobilized Metal Affinity

Chromatography (IMAC) method. The purified *PiORF4*(E9D)-6His protein will be further used to evaluate the role of discrete 18S rRNA fragmentation in the regulation of protein biosynthesis in plants.

Funding

The work was carried out within the framework of the programme IRN BR27195585 'Creation of new domestic test systems and search for potential biomarkers for diagnosis of socially significant diseases', funded by the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan.

References

1. Жигаилов А.В., Полимбетова Н.С., Боранқұл Р.И., Исаков Б.К. Исследование дискретной фрагментации 18S рРНК в составе 40S рибосомных субчастиц клеток растений. // Вестник КазНУ. Серия биологическая – 2013. – 2(58), – С. 81-87.
2. Spriggs KA, Bushell M, Willis AE. Translational regulation of gene expression during conditions of cell stress. // *Molecular Cell* – 2010. – 40(2), – P. 228–237.
3. Janik E, Ceremuga M, Saluk-Bijak J, Bijak M. Biological toxins as the potential tools for bioterrorism. // *International Journal of Molecular Sciences* – 2019. – 20(5), – P. 1181.
4. Olsnes S, Refsnes K, Pihl A. Mechanism of action of the toxic lectins abrin and ricin. // *Nature* – 1974. – 249, – P. 627-631.
5. Endo Y. Mechanism of action of ricin and related toxins on the inactivation of eukaryotic ribosomes. // *Cancer Research Treatment* – 1988. – 37, – P. 75-89.
6. Walsh M, Dodd J, Hautbergue G. Ribosome-inactivating proteins. // *Virulence* – 2013. – 4, – P. 774-784.
7. Guydosh NR, Green R. Translation of poly(A) tails leads to precise mRNA cleavage. // *RNA* – 2017. – 23(5), – P. 749-761.
8. Parker MD, Collins JC, Korona B, Ghalei H, Karbstein K. A kinase-dependent checkpoint prevents escape of immature ribosomes into the translating pool. // *PLoS Biology* – 2020. – 18(10), – P. e3000960.
9. Zhigailov AV, Nizkorodova AS, Sharipov KO, Polimbetova NS, Isakov BK. Glyphosate treatment mediates the accumulation of small discrete 5'- and 3'-terminal fragments of 18S rRNA in plant cells. // *Vavilovskii Zhurnal Genet Selektsii* – 2023. – 27(2), – P. 93-98.
10. Henras AK, Soudet J, G rus M, Lebaron S, Caizergues-Ferrer M, Mougin A, Henry Y. The post-transcriptional steps of eukaryotic ribosome biogenesis. // *Trends in Biochemical Sciences* – 2008. – 33(2), – P. 140–150.
11. Holcik M, Sonenberg N. Translational control in stress and apoptosis. // *Nature Reviews Molecular Cell Biology* – 2005. – 6(4), – P. 318–327.
12. Kast A, Klassen R, Meinhardt F. rRNA fragmentation induced by a yeast killer toxin. // *Molecular Microbiology* – 2014. – 91(3), – P. 606–617.
13. Hillis DM, Dixon MT. Ribosomal RNA: molecular evolution and phylogenetic inference. // *Annual Review of Genetics* – 1991. – 25, – P. 635–654.
14. Sambrook J, Russell DW. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. – 3rd ed. – Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
15. Lee SJ, Park SY, Lee KH, Lee MW, Yu CY, Maeng J, Kim HD, Kim SW. Development of a simple direct and hot-start PCR using *Escherichia coli*-expressing Taq DNA polymerase. // *International Journal of Molecular Sciences* – 2023. – 24(14), – P. 11405.
16. Zhu Z, Lu JJ, Liu S. Protein separation by capillary gel electrophoresis: a review. // *Analytical Chimica Acta* – 2012. – 709, – P. 21-31.
17. Smith LM, Sanders JZ, Kaiser RJ, Hughes PD, Dodd CV, Connell CM, et al. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. // *Nature* – 1986. – 321(6071), – P. 674–679.
18. Yura T. Regulation of the heat shock response in *Escherichia coli*: history and perspectives. // *Genes Genet Systems* – 2019. – 94(3), – P. 103-108.
19. Gallagher SR. One-dimensional SDS gel electrophoresis of proteins. // *Current Protocols in Molecular Biology* – 2012. – 97, – P. 10.2A.1-10.2A.44.
20. Ghasemi A, Salmanian AH, Sadeghifard N, Salarian AA, Gholi MK. Cloning, expression and purification of Pwo polymerase from *Pyrococcus woesei*. // *Iranian Journal of Microbiology* – 2011. – 3(3), – P. 118-122.
21. Bryksin AV, Matsumura I. Overlap extension PCR cloning: a simple and reliable way to create recombinant plasmids. // *Biotechniques* – 2010. – 48(6), – P. 463-465.

22. Pareek CS, Smoczynski R, Tretyn A. Sequencing technologies and genome sequencing. // Journal of Applied Genetics – 2011. – 52(4), – P. 413–435.
23. Kimple ME, Brill AL, Pasker RL. Overview of affinity tags for protein purification. // Current Protocols in Protein Science – 2013. – 73, – P. 9.9.1–9.9.23.
24. Priestersbach A, Kubicek J, Schäfer F, Block H, Maertens B. Purification of His-tagged proteins. // Methods in Enzymology – 2015. – 559, – P. 1–15.
25. Sule R, Rivera G, Gomes AV. Western blotting (immunoblotting): history, theory, uses, protocol and problems. // Biotechniques – 2023. – 75(3), – P. 99–114.
26. Morão LG, Manzine LR, Clementino LOD, Wrenger C, Nascimento AS. A scalable screening of *E. coli* strains for recombinant protein expression. // PLoS One – 2022. – 17(7), – P. e0271403.

References

1. Bryksin, A. V., and I. Matsumura. (2010) Overlap extension PCR cloning: a simple and reliable way to create recombinant plasmids. *Biotechniques*, vol. 48, pp. 463–465.
2. Endo, Y. (1988) Mechanism of action of ricin and related toxins on the inactivation of eukaryotic ribosomes. *Cancer Research Treatment*, vol. 37, pp. 75–89.
3. Gallagher, S. R. (2012) One-dimensional SDS gel electrophoresis of proteins. *Current Protocols in Molecular Biology*, vol. 97, pp. 10.2A.1–10.2A.44.
4. Ghasemi, A., A. H. Salmanian, N. Sadeghifard, A. A. Salarian, and M. K. Gholi. (2011) Cloning, expression and purification of Pwo polymerase from *Pyrococcus woesei*. *Iranian Journal of Microbiology*, vol. 3, pp. 118–122.
5. Guydosh, N. R., and R. Green. (2017) Translation of poly(A) tails leads to precise mRNA cleavage. *RNA*, vol. 23, pp. 749–761.
6. Henras, A. K., J. Soudet, M. Gêrus, S. Lebaron, M. Caizergues-Ferrer, A. Mougin, and Y. Henry. (2008) The post-transcriptional steps of eukaryotic ribosome biogenesis. *Trends in Biochemical Sciences*, vol. 33, pp. 140–150.
7. Hillis, D. M., and M. T. Dixon. (1991) Ribosomal RNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Annual Review of Genetics*, vol. 25, pp. 635–654.
8. Holcik, M., and N. Sonenberg. (2005) Translational control in stress and apoptosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 6, pp. 318–327.
9. Janik, E., M. Ceremuga, J. Saluk-Bijak, and M. Bijak. (2019) Biological toxins as the potential tools for bioterrorism. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, pp. 1181.
10. Kast, A., R. Klassen, and F. Meinhardt. (2014) rRNA fragmentation induced by a yeast killer toxin. *Molecular Microbiology*, vol. 91, pp. 606–617.
11. Kimple, M. E., A. L. Brill, and R. L. Pasker. (2013) Overview of affinity tags for protein purification. *Current Protocols in Protein Science*, vol. 73, pp. 9.9.1–9.9.23.
12. Lee, S. J., S. Y. Park, K. H. Lee, M. W. Lee, C. Y. Yu, J. Maeng, H. D. Kim, and S. W. Kim. (2023) Development of a simple direct and hot-start PCR using *Escherichia coli*-expressing Taq DNA polymerase. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, pp. 11405.
13. Morão, L. G., L. R. Manzine, L. O. D. Clementino, C. Wrenger, and A. S. Nascimento. (2022) A scalable screening of *E. coli* strains for recombinant protein expression. *PLoS One*, vol. 17, pp. e0271403.
14. Olsnes, S., K. Refsnes, and A. Pihl. (1974) Mechanism of action of the toxic lectins abrin and ricin. *Nature*, vol. 249, pp. 627–631.
15. Pareek, C. S., R. Smoczynski, and A. Tretyn. (2011) Sequencing technologies and genome sequencing. *Journal of Applied Genetics*, vol. 52, pp. 413–435.
16. Parker, M. D., J. C. Collins, B. Korona, H. Ghalei, and K. Karbstein. (2020) A kinase-dependent checkpoint prevents escape of immature ribosomes into the translating pool. *PLoS Biology*, vol. 18, pp. e3000960.
17. Sambrook, J., and D. W. Russell. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
18. Smith, L. M., J. Z. Sanders, R. J. Kaiser, P. D. Hughes, C. V. Dodd, C. M. Connell, et al. (1986) Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature*, vol. 321, pp. 674–679.
19. Spriggs, K. A., M. Bushell, and A. E. Willis. (2010) Translational regulation of gene expression during conditions of cell stress. *Molecular Cell*, vol. 40, pp. 228–237.
20. Priestersbach, A., J. Kubicek, F. Schäfer, H. Block, and B. Maertens. (2015) Purification of His-tagged proteins. *Methods in Enzymology*, vol. 559, pp. 1–15.
21. Sule, R., G. Rivera, and A. V. Gomes. (2023) Western blotting (immunoblotting): history, theory, uses, protocol and problems. *Biotechniques*, vol. 75, pp. 99–114.
22. Walsh, M., J. Dodd, and G. Hautbergue. (2013) Ribosome-inactivating proteins. *Virulence*, vol. 4, pp. 774–784.
23. Yura, T. (2019) Regulation of the heat shock response in *Escherichia coli*: history and perspectives. *Genes & Genetic Systems*, vol. 94, pp. 103–108.
24. Zhigailov, A. V., A. S. Nizkorodova, K. O. Sharipov, and B. K. Iskakov. (2023) Glyphosate treatment mediates the accumulation of small discrete 5'- and 3'-terminal fragments of 18S rRNA in plant cells. *Vavilovskii Zhurnal Geneticheskoi Selekcii*, vol. 27, pp. 93–98.

25. Zhigailov, A. V., N. S. Polimbetova, R. I. Borankul, and B. K. Isakov. (2013) Issledovanie diskretnoi fragmentatsii 18S rRNK v sostave 40S ribosomal'nykh subchastits kletok rastenii. Vestnik KazNU. Seriya Biologicheskaya, vol. 2, pp. 81–87. (in Russian)

26. Zhu, Z., J. J. Lu, and S. Liu. (2012) Protein separation by capillary gel electrophoresis: a review. Analytical Chimica Acta, vol. 709, pp. 21–31.

Information about authors:

Kazanbassov Temirkhan Serikovich (corresponding author) – Laboratory assistant of the Laboratory of Protein and Nucleic Acids of RSE 'IMBB', student at the Department of Biotechnology, al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, email: temirhankazanbasov@gmail.com)

Andrey Viktorovich Zhigailov – Head of the Laboratory of Protein and Nucleic Acids of RSE 'IMBB', Acting Head of the Laboratory of Molecular Biology of the Almaty Branch of the National Centre for Biotechnology, PhD, Associate Professor. (Almaty, Kazakhstan, email: andrzhig@gmail.com)

Isakov Bulat Kudaibergenovich – Chief Researcher of the Laboratory of Protein and Nucleic Acids of RSE 'IMBB', Doctor of Biological Sciences, Professor. (Almaty, Kazakhstan, email: bulat.isakov2@gmail.com)

Авторлар туралы мәлімет:

Казанбасов Темірхан Серикович (жауапты автор) – ҚР БҒМ ҒК ИМББ ШЖҚ РМК Ақуыз және нуклеин қышқылдары зертханасының лаборанты, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті Биотехнология кафедрасының студенті (Алматы, Қазақстан, email: temirhankazanbasov@gmail.com).

Андрей Викторович Жигайлов – ҚР БҒМ ҒК ИМББ ШЖҚ РМК Ақуыз және нуклеин қышқылдары зертханасының меңгерушісі, ҚР ҰҒА Алматы филиалының Ұлттық биотехнология орталығы Молекулалық биология зертханасының уақытша меңгерушісі, PhD, қауымдастырылған профессор (Алматы, Қазақстан, email: andrzhig@gmail.com).

Ысқақов Болат Құдайбергенұлы – ҚР БҒМ ҒК ИМББ ШЖҚ РМК Ақуыз және нуклеин қышқылдары зертханасының бас ғылыми қызметкері, биология ғылымдарының докторы, профессор (Алматы, Қазақстан, email: bulat.isakov2@gmail.com).

Received January 28, 2024

Accepted May 20, 2025

IRSTI 76.29.47; 76.29.51; 76.03.43

<https://doi.org/10.26577/bb202510324>

Z. Meirmanova¹, S. Kozhakhmetov^{1*}, N. Mukhanbetzhanov¹,
E. Vinogradova¹, Zh. Jarmukhanov¹, S. Kozhakhmetova²,
M. Morenko³, K. Shnaider³, A. Duisebayeva³, A. Kushugulova¹

¹Nazarbayev University, Astana, Kazakhstan²National Center for Biotechnology, Astana, Kazakhstan³NJSC "Astana Medical University", Astana, Kazakhstan

*e-mail: sskozhakhmetov@gmail.com

LONGITUDINAL MICROBIOME ANALYSIS REVEALS EARLY *BACTEROIDES* PREDOMINANCE AS A POTENTIAL BIOMARKER FOR AUTISM SPECTRUM DISORDER: A PEDIATRIC CASE STUDY WITH COBALAMIN METABOLIC IMPLICATIONS

The intricate relationship between gut microbiota and neurodevelopmental disorders has emerged as a critical area of research, particularly in autism spectrum disorder (ASD). This case study presents groundbreaking longitudinal evidence of gut microbiota alterations preceding ASD diagnosis in a two-year-old female infant. The research aimed to characterize early-life microbiome dynamics and their potential connection to subsequent ASD development, contributing to our understanding of the gut-brain axis in neurodevelopmental disorders. Using shotgun metagenomic sequencing, we tracked the infant's microbiome composition from birth through 18 months of life, comparing it with 215 control samples. Our methodology incorporated comprehensive bioinformatic analysis using the bioBakery suite, including MetaPhlAn 4 for taxonomic profiling and HUMAnN 3 for functional profiling. The study revealed a persistent and significant elevation in *Bacteroides* abundance, particularly *B. fragilis*, from the first month of life, preceding clinical ASD manifestation. Notably, functional analysis demonstrated an increased presence of cobalamin biosynthesis genes associated primarily with *Bacteroides*, suggesting potential interference with vitamin B12 metabolism. These alterations persisted despite probiotic intervention, indicating a robust dysbiotic state. This research provides valuable insights into early microbiome changes that may serve as potential biomarkers for ASD risk.

Keywords: Autism Spectrum Disorder; *Bacteroides fragilis*; cobalamin; gut metagenome.

З. Мейрманова¹, С. Кожаметов^{1*}, Н. Муханбетжанов¹, Е. Виноградова¹,
Ж. Джармуханов¹, С. Кожаметова², М. Моренко³, К. Шнайдер³,
А. Дуйсебаева³, А. Кушугулова¹

¹Назарбаев Университеті, Астана, Қазақстан²Ұлттық биотехнология орталығы, Астана, Қазақстан³«Астана медицина университеті» КеАҚ, Астана, Қазақстан

*e-mail: sskozhakhmetov@gmail.com

**Микробиомның бойлық талдауы аутизм спектрінің бұзылысының
әлеуетті биомаркері ретінде *Bacteroides* бактериясының ерте басымдылығын
анықтайды: кобаламин метаболизміне әсер ететін педиатриялық клиникалық жағдай**

Ішек микробиотасы мен нейродамудың бұзылыстары арасындағы күрделі байланыс зерттеудің маңызды саласына айналды, әсіресе аутизм спектрінің бұзылысында (АСБ). Бұл клиникалық зерттеу екі жасар қыз баланың АСБ диагнозына дейінгі ішек микробиотасының өзгерістері туралы бұрын-соңды болмаған бойлық дәлелдемелерді ұсынады. Зерттеудің мақсаты ерте жастағы микробиомның динамикасын және оның кейінгі АСБ дамуымен ықтимал байланысын сипаттау болды, бұл нейродамудың бұзылыстарындағы ішек-ми осінің түсінігін кеңейтуге үлес қосты. Біз шотган метагеномдық секвенирлеуді қолдана отырып, нәрестенің туғаннан бастап 18 айға дейінгі микробиом құрамын бақылап, оны 215 бақылау үлгісімен салыстырдық. Біздің әдіснамамыз BioBakery жиынтығын қолданып жан-жақты биоинформатикалық талдауды қамтыды, оның ішінде MetaPhlAn 4 таксономиялық профилдеу және HUMAnN 3 функционалдық профилдеу бар. Зерттеу өмірдің бірінші айынан бастап, АСБ-ның клиникалық көрінісіне дейін *Bacteroides*, әсіресе *B. fragilis* мөлшерінің тұрақты және айтарлықтай жоғарылағанын анықтады.

функционалдык талдау негізінен *Bacteroides*-пен байланысты кобаламин биосинтезі гендерінің жоғарылауын көрсетті, бұл B12 дәруменінің метаболизміне ықтимал әсерін көрсетеді. Бұл өзгерістер пробиотикалық араласуға қарамастан сақталды, бұл тұрақты дисбиотикалық жағдайды көрсетеді. Бұл зерттеу АСБ қаупінің ықтимал биомаркерлері ретінде қызмет ете алатын ерте микробиомдық өзгерістер туралы құнды түсінік береді.

Түйін сөздер: Аутизм спектрінің бұзылысы; *Bacteroides fragilis*; кобаламин; ішек метагеномы.

З. Мейрманова¹, С. Кожаметов^{1*}, Н. Муханбетжанов¹, Е. Виноградова¹,
Ж. Джармуханов¹, С. Кожаметова², М. Моренко³, К. Шнайдер³,
А. Дуйсебаева³, А. Кушугулова¹

¹Назарбаев Университет, Астана, Казахстан

²Национальный центр биотехнологии, Астана, Казахстан

³НАО «Медицинский университет Астана», Астана, Казахстан

*e-mail: sskozhakhmetov@gmail.com

Продольное исследование микробиома обнаруживает раннее преобладание *Bacteroides* в качестве потенциального биомаркера аутизма: клинический случай у ребенка с последствиями для метаболизма витамина B12

Сложная связь между микробиотой кишечника и нарушениями нейроразвития стала важнейшей областью исследований, особенно при расстройствах аутистического спектра (РАС). В этом исследовании представлены новаторские продольные доказательства изменений микробиоты кишечника, предшествующих диагностике РАС у двухлетней девочки. Целью исследования было охарактеризовать динамику микробиома в раннем возрасте и ее потенциальную связь с последующим развитием РАС, что способствовало нашему пониманию оси кишечник-мозг при нарушениях нейроразвития. Используя детальное метагеномное секвенирование, мы отслеживали состав микробиома младенца с рождения до 18 месяцев жизни, сравнивая его с 215 контрольными образцами. Наша методология включала комплексный биоинформационный анализ с использованием пакета bioBakery, включая MetaPhlAn 4 для таксономического профилирования и HUMAnN 3 для функционального профилирования. Исследование выявило постоянное и значительное повышение численности *Bacteroides*, в частности *B. fragilis*, с первого месяца жизни, предшествующего клиническому проявлению РАС. В частности, функциональный анализ продемонстрировал повышенное присутствие генов биосинтеза кобаламина, связанных в первую очередь с *Bacteroides*, что указывает на потенциальное вмешательство в метаболизм витамина B12. Эти изменения сохранялись, несмотря на пробиотическое вмешательство, что указывает на сильное дисбиотическое состояние. Это исследование дает ценную информацию о ранних изменениях микробиома, которые могут служить потенциальными биомаркерами риска РАС.

Ключевые слова: Расстройство аутистического спектра; *Bacteroides fragilis*; кобаламин; метагеном кишечника.

1. Introduction

Recent studies highlight the complex nature of autism spectrum disorder (ASD), a neurodevelopmental condition characterized by difficulties in social communication and stereotypical behavior. The prevalence of ASD has increased significantly, with current estimates at approximately 2.8% [1]. Statistical data from Kazakhstan also indicate a rise in ASD cases over the past decade [2].

Recent research has identified a substantial impact of gut microbiota on neurotransmitters such as glutamate and GABA, and a significant association with mental disorders such as depression, schizophrenia, and ASD [3,4]. Studies from different national cohorts demonstrated significantly altered microbiota composition features in ASD patients, and in many cases, an increase in the short-chain fatty

acid (SCFA) producer *Bacteroides* [5-8]. Consistent with this, some studies have reported elevated levels of propionic acid (PPA) in ASD patients [9,10]. PPA, can cross the blood-brain barrier and may lead to neuroinflammation, increased oxidative stress, glutathione depletion, altered phospholipid/acylcarnitine profiles, effects on mitochondrial function, and altered gene expression. Noteworthy *Bacteroides* is known to be able to interfere with vitamin B utilization. It has been shown that the human gut bacterium *Bacteroides* can not only bind to vitamin B12 with high affinity, but also remove it from human intrinsic factor, a B12 transport protein in humans [11]. Vitamin B12 is essential for optimal brain development, neural myelination, and cognitive function. Significantly low or high levels of B12 during pregnancy have been associated with an increased risk of offspring with ASD [12].

2. Materials and methods

Recruiting

We recruited healthy newborns immediately after birth from the maternity ward of the Perinatal Center in Astana. After providing all necessary information, parents (mothers) signed an informed consent document, officially confirming their agreement for their child's participation in the study. Collection of infant fecal samples was conducted immediately after birth (first-pass meconium) and at dynamic observation points at 1, 3, 6, 12, and 18 months of life. Maternal fecal samples were collected one month postpartum. The study protocol was approved by the ethics committee of the National Laboratory Astana, Nazarbayev University (protocol #05-2022). The studies were conducted in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki.

This study included one child diagnosed with ASD and 215 samples basic group. ASD diagnosis was made by pediatric psychiatrists based on the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5) diagnostic criteria (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5TM, 5th Ed. 2013) at the age of 2 years. Exclusion criteria for neurotypical children included a positive family history of ASD. Exclusion criteria for both groups were neurological disorders, intellectual disability, depressive disorders, and other gastrointestinal tract-related diseases. All recruits included in this report had not taken antibiotics in the three months preceding sample collection.

DNA Extraction from Fecal Samples and Sequencing

Fecal samples were collected using DNA/RNA Shield Fecal Collection Tubes (Cat. # R1101, ZymoResearch). The samples were transported to the laboratory within 24 hours and stored at +4°C until DNA extraction. Bacterial genomic DNA was isolated from the fecal samples using the Zymo-BIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research, D4300), with sterile μ Q water as a negative extraction control. Quality control of DNA isolation was performed using OD260/280 Nanodrop and 1% agarose gel electrophoresis. The concentration and purity of each DNA sample were determined using an Invitrogen Qubit 3.0 fluorometer (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Sterile μ Q water served as a negative control. Following standard Illumina protocols, sequencing was conducted on the Illumina NovaSeq 6000 platform at Novogene Laboratory (Beijing, China).

Data Processing and Statistical Analysis

Our research took a comprehensive approach to the analysis of raw sequencing data. We employed the bioBakery suite, which integrates a range of methods for taxonomic and phylogenetic profiling of metagenomes. MetaPhlAn 4 was used for taxonomic profiling, and HUMAnN 3 for functional profiling. We applied the recommended parameters provided by the developers to all tools used in the analysis, ensuring a thorough and rigorous approach.

To identify taxonomic and functional markers across time points and at individual time points, the DESeq2 algorithm from the PyDESeq2 0.4.9 library was implemented. Markers were considered significant at $p \leq 0.05$ after correction for multiple comparisons (BH FDR). The relative abundance of bacterial genes was analysed based on the results of HUMAnN 3 profiling. Annotation of HUMAnN 3 profiling results at the gene level was performed based on UniProt annotations, considering only current entries.

3. Results and discussion

We present a case of a female newborn subsequently diagnosed with early childhood autism. The child was born from the seventh pregnancy, complicated by gestational hypertension and chronic pyelonephritis. Spontaneous vaginal delivery occurred at 265 days of gestation. The newborn was in good condition (Apgar score 8/9), requiring no resuscitation, with a birth weight of 4,630 grams and a length of 56 cm. The infant was discharged after 72 hours with moderate risk of perinatal central nervous system involvement.

Follow-up examinations revealed persistent intestinal dysbiosis from 6 months of age (continuing through 36 months), positive IgG antibodies to cytomegalovirus, and mild anaemia. At 21 months of age, the child experienced initial absence seizures, which progressed to clonic-tonic seizures by 22 months, occurring twice daily with a duration of 1-20 minutes. Magnetic resonance imaging revealed the right frontal lobe pachygyria and focal brain matter changes. Treatment included magnesium sulfate for 3 days and carbamazepine 75 mg twice daily (15 mg/kg) for one month, followed by oxcarbazepine 1.5 mL in the morning and 2.0 mL in the evening. At 24 months, autism spectrum disorder was diagnosed. The child had been receiving bifidobacteria-containing probiotics since 3 months of age.

To comprehensively understand the microbiome characteristics prior to ASD manifestation, we me-

ticulously conducted a comparative analysis of fecal samples from the child and mother against a control group (total 215 samples: 41 mothers and their children Female/Male: T2 – 37 children (19/18), T3 – 30 children (15/15), T6 – 33 children (15/18), T12 – 26 children (13/13), T18 – 22 children (11/11)). The average sequencing depth was 7.0 Gigabases per metagenome. All samples underwent a standardized processing protocol to minimize technical variability.

Our longitudinal analysis of taxonomic diversity showed no significant increase in alpha diversity (Observed index, $p=0.28$; Shannon index, $p=0.19$) in the ASD child's samples from birth to 18 months. This finding contrasts with some recent reports suggesting increased alpha diversity in ASD cohorts [6], which traditionally challenges prevailing notions as decreased alpha diversity has been associated with compromised health in various conditions. The maintained alpha diversity in our case may reflect the early intervention with probiotics, though it did not prevent the underlying dysbiotic changes. However, our comparison of relative microbial abundance (Fig. 1A) revealed significant differences between the control and ASD groups at all analyzed points, which aroused our interest. Longitudinal monitoring of the *Bacteroides* genus (Fig. 1B) demonstrated its significant predominance in the microbial structure from the first to sixth month of life ($p=0.037$) in the child with ASD, peaking at approximately 55.0% in the first month (T2).

Recent experimental evidence demonstrates that *B. fragilis*-treated male mice display social behavior dysfunction, increased repetitive behaviors, and gene expression dysregulation in the prefrontal cortex, while female mice do not display behavioral deficits [6]. While our case involves a female infant, the early and persistent *Bacteroides* elevation suggests that the timing of exposure may be more critical than sex-specific susceptibility during early neurodevelopmental windows. The *Collinsella* genus also showed consistent elevation in the ASD group ($p=0.007$), particularly notable until 3 months of age (T3), maintaining elevated levels at T12 and T18 time points. Additionally, non-significant decreases in *Escherichia coli* ($p=0.24$) and *Bifidobacterium* ($p=0.37$) were observed from the early months of life.

Notably, administering bifidobacteria-containing probiotics at 3 months did not increase the relative abundance of the *Bifidobacterium* genus. Conversely, by 6 months, an increase in *Bacteroides* was observed, predominantly due to *B. fragilis*. This resistance to probiotic intervention aligns with emerg-

ing evidence that different microbial interventions may have varying effectiveness in ASD, with some studies exploring more comprehensive approaches such as microbiota transfer therapy [13]. By 12 months of age, the fecal microbiome was dominated by *Bacteroides* and *Faecalibacterium prausnitzii* (Fig. 1A). Notably, the *Bifidobacterium* level in the mother of the child with future ASD status was below the group average (0.6% vs 7% in controls). This observation is consistent with emerging research on the maternal exposome and autism risk [14], suggesting that maternal microbiome composition may influence offspring neurodevelopmental trajectories.

Functional gene profiling based on the UniProt database revealed a significantly increased presence of cobalamin biosynthesis genes (KW0169), primarily associated with *Bacteroides* and, to a lesser extent, with *Collinsella* and *Blautia*, as illustrated in the taxonomic distribution diagram of cobalamin biosynthesis genes (Fig. 1C). The discovered association between microbial composition and metabolic disturbances is of utmost importance. The increased potential ability of *Bacteroides* for B12 synthesis (Fig. 1C) and utilization [11] may indicate possible cobalamin sequestration by the microbiota. Recent systematic reviews have identified 17 studies examining B12 as a treatment in ASD, with most studies using oral or injected methylcobalamin, demonstrating potential therapeutic benefits [15]. Vitamin B12 is critical in myelin synthesis, DNA methylation, and nervous system development, potentially significantly affecting cognitive functions and neurodevelopment [16]. The early-life elevation of *Bacteroides* in our case study suggests that microbial sequestration of cobalamin may occur during critical neurodevelopmental windows, potentially contributing to the pathophysiology of ASD.

Interestingly, recent studies have shown that *Bacteroides*-dominant gut microbiomes in late infancy are associated with enhanced neurodevelopment, with different species of *Bacteroides* including *B. fragilis* and *B. uniformis* positively associated with increased cognitive development [17]. This apparent contradiction with our findings highlights the importance of timing, dose-response relationships, and individual susceptibility factors in microbiome-neurodevelopment interactions. The persistence of *Bacteroides* elevation from the first month of life in our case suggests that early, excessive colonization may disrupt normal neurodevelopmental processes, whereas moderate levels at later time points may be beneficial.

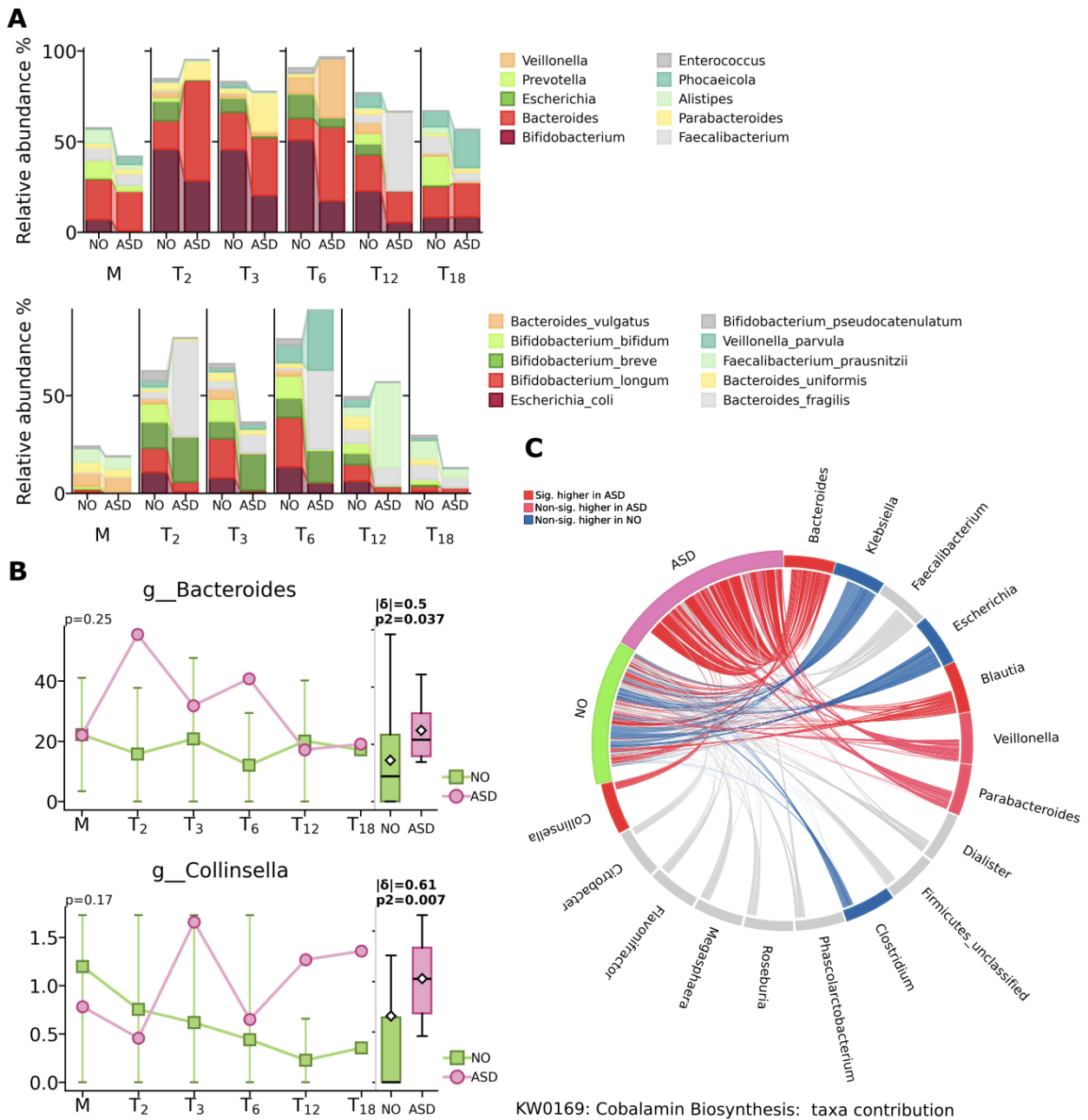


Figure 1 – Relative abundance of microbial taxa in fecal samples from control group children (NO) and child with autism spectrum disorder (ASD) during the first 18 months of life, as well as their mothers. A) Mean relative abundance of taxa at taxonomic levels: genus and species levels. B) Relative abundance of *Bacteroides* in *Collinsella* genera in NO and ASD. Data are presented for six time points: mother microbiome (M), at 1 month (T2), 3 months (T3), 6 months (T6), 12 months (T12), and 18 months (T18). C) Chord diagram of the taxonomic distribution of cobalamin biosynthesis genes (KW0169) at genera level

Our study highlights the critical importance of developing an altered microbial structure in a child who subsequently develops ASD. From the first month of early life, we detected significant dysbiotic changes in the feces of the child with future ASD status, characterized by the predominance of

Bacteroides (31.0% vs 18.5% in controls on average), mainly due to *B. fragilis* (19.1% vs 3.8% in controls), which chronologically preceded clinical disease manifestation. Recent research suggests that interventions targeting the gut microbiota through various approaches, including fecal microbiota

transplantation, may be promising for treating gastrointestinal disorders and behavioral traits associated with ASD [13]. Our findings support the potential for early microbiome screening as a risk assessment tool, potentially enabling interventions before clinical symptoms manifest.

The gut-brain axis and its complex bidirectional communication system between the central nervous system and the enteric nervous system have revealed the central role of the gut microbiome in regulating neuroimmune networks, modifying neural networks, and communicating directly with the brain [4]. Our case study contributes to this understanding by providing longitudinal evidence of microbiome alterations preceding clinical diagnosis. Recent randomized clinical trials have demonstrated that specific *Bacteroides* strains, such as *B. fragilis* BF839, can significantly improve abnormal behavior and gastrointestinal symptoms in children with ASD [18]. However, our findings suggest that the therapeutic window and strain-specific effects require careful consideration, as early-life overgrowth of certain *Bacteroides* species may be detrimental.

While our case study provides valuable longitudinal data, several limitations must be acknowledged. First, this is a single case study, limiting generalizability. Second, the complex interplay between genetic predisposition, environmental factors, and microbiome composition requires larger cohort studies to disentangle. Third, the functional implications of elevated cobalamin biosynthesis genes require direct metabolomic validation. Recent systematic reviews of pediatric and adult studies have highlighted the functional contribution of intestinal microbiomes in various neurodevelopmental disorders [19], emphasizing the need for standardized methodologies and larger sample sizes. Our study contributes to this growing body of evidence while acknowledging the need for replication in larger cohorts.

The relationship between eating issues, microbiome, and gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder has become increasingly recognized, with food selectivity and nutritional deficiencies being closely associated with altered gut microbiota composition [20]. Our case study supports these associations, as the child showed selective eating patterns and required nutritional interventions. The findings of this case report shed light on the forma-

tion of an altered gut microbiome prior to ASD, indicating a potential role for the microbiota in the development of the pathological process. The increase in the copy number of vitamin B12 biosynthetic genes, a significant finding in this study, suggests a potential link between gut microbiome and vitamin B12 metabolism in ASD. Given that most existing studies have focused on cross-sectional observation of microbiota after the onset of ASD, there is a significant opportunity for further research in this area.

Conclusion

This case study identified significant changes in the gut microbiota in the first months of early life, characterized by *Bacteroides* dominance and increased cobalamin biosynthesis genes, preceding the onset of ASD. The persistence of these changes despite probiotic therapy, along with a similar maternal microbiota profile, reveals potential microbial markers of ASD risk. These findings highlight the importance of early screening of the microbiota and its metabolic activity. However, they also underscore the urgent need for extensive prospective studies to confirm these associations and advance our understanding of ASD.

Funding

This research has is funded by the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No. AP19575153) and Nazarbayev University Cooperative Research Grant 2023-2025 (No. 20122022CRP1604).

Data Availability Statement

The raw sequence data in this study can be found in online repositories. The names of the repository/repositories and accession number(s) can be found below: NCBI BioProject [accession number PRJ-NA949528].

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

References

1. Hwang J.W., Lee J.S. Korean Clinical Guideline for Autism Spectrum Disorder – Clinical Features, Course, Epidemiology, and Cause // *Journal of Child & Adolescent Psychiatry*. – 2024. Vol. 35(1). – P. 8–14.
2. Mussina K., Syssoyev D., Gaipov A., Poddighe D., Galiyeva D. Epidemiology of Autism Spectrum Disorder in children in Kazakhstan // *Data from Unified National Electronic Healthcare System 2014-2021*. – 2024.
3. Mhanna A., Martini N., Hmaydoosh G., Hamwi G., Jarjanazi M., Zaifah G., Kazzazo R., Haji Mohamad A., Alshehabi Z. The correlation between gut microbiota and both neurotransmitters and mental disorders: A narrative review // *Medicine*. – 2024. Vol. 103(5). – P. e37114.
4. Ullah H., Arbab S., Tian Y., Liu C.Q., Chen Y., Qijie L., Khan M.I.U., Hassan I.U., Li K. The gut microbiota-brain axis in neurological disorder // *Frontiers in Neuroscience*. – 2023. Vol. 17. – P. 1225875.
5. Ma B., Liang J., Dai M., Wang J., Luo J., Zhang Z., Jing J. Altered Gut Microbiota in Chinese Children With Autism Spectrum Disorders // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2019. Vol. 9. – P. 40.
6. Carmel J., Ghanayem N., Mayouf R., Saleev N., Chaterjee I., Getselter D., Tikhonov E., Turjeman S., Shaalan M., Khateeb S., Kuzminsky A., Kvetniy-Ferdman N., Kronos T., Bretler-Zager T., Koren O., Elliott E. *Bacteroides* is increased in an autism cohort and induces autism-relevant behavioral changes in mice in a sex-dependent manner // *Npj Biofilms and Microbiomes*. – 2023. Vol. 9(1). – P. 103.
7. Zuffa S., Schimmel P., Gonzalez-Santana A., Belzer C., Knol J., Bölte S., Falck-Ytter T., Forssberg H., Swann J., Diaz Heijtz R. Early-life differences in the gut microbiota composition and functionality of infants at elevated likelihood of developing autism spectrum disorder // *Translational Psychiatry*. – 2023. Vol. 13(1). – P. 257.
8. Lagod P.P., Naser S.A. The Role of Short-Chain Fatty Acids and Altered Microbiota Composition in Autism Spectrum Disorder: A Comprehensive Literature Review // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. Vol. 24(24). – P. 17432.
9. De Angelis M., Piccolo M., Vannini L., Siragusa S., De Giacomo A., Serrazzanetti D.I., Cristofori F., Guerzoni M.E., Gobetti M., Francavilla R. Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified // *PloS One*. – 2013. Vol. 8(10). – P. e76993.
10. Coretti L., Paparo L., Riccio M.P., Amato F., Cuomo M., Natale A., Borrelli L., Corrado G., De Caro C., Comegna M., Buommino E., Castaldo G., Bravaccio C., Chiariotti L., Berni Canani R., Lembo F. Gut Microbiota Features in Young Children With Autism Spectrum Disorders // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. Vol. 9. – P. 3146.
11. Wexler A.G., Schofield W.B., Degnan P.H., Folta-Stogniew E., Barry N.A., Goodman A.L. Human gut *Bacteroides* capture vitamin B(12) via cell surface-exposed lipoproteins // *ELife*. – 2018. Vol. 7. – P. e37138.
12. Sourander A., Silwal S., Surcel H.M., Hinkka-Yli-Salomäki S., Upadhyaya S., McKeague I.W., Cheslack-Postava K., Brown A.S. Maternal Serum Vitamin B12 during Pregnancy and Offspring Autism Spectrum Disorder // *Nutrients*. – 2023. Vol. 15(8). – P. 2009.
13. Takyi E., Nirmalkar K., Adams J., Krajmalnik-Brown R. Interventions targeting the gut microbiota and their possible effect on gastrointestinal and neurobehavioral symptoms in autism spectrum disorder // *Gut Microbes*. – 2025. Vol. 17(1). – P. 2499580.
14. Di Gesù C.M., Buffington S.A. The early life exposome and autism risk: a role for the maternal microbiome? // *Gut Microbes*. – 2024. Vol. 16(1). – P. 2385117.
15. Rossignol D.A., Frye R.E. The Effectiveness of Cobalamin (B12) Treatment for Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis // *J Pers Med*. – 2021. Vol. 11(8). – P. 784.
16. Zwierz M., Suprunowicz M., Mrozek K., Pietruszkiewicz J., Oracz A.J., Konarzewska B., Waszkiewicz N. Vitamin B12 and Autism Spectrum Disorder: A Review of Current Evidence // *Nutrients*. – 2025. Vol. 17(7). – P. 1220.
17. Tamana S.K., Tun H.M., Konya T., Chari R.S., Field C.J., Guttman D.S., Becker A.B., Moraes T.J., Turvey S.E., Subbarao P., Sears M.R., Pei J., Scott J.A., Mandhane P.J., Kozyrskyj A.L. *Bacteroides*-dominant gut microbiome of late infancy is associated with enhanced neurodevelopment // *Gut Microbes*. – 2021. Vol. 13(1). – P. 1-17.
18. Lin C.H., Zeng T., Lu C.W., Li D.Y., Liu Y.Y., Li B.M., Chen S.Q., Deng Y.H. Efficacy and safety of *Bacteroides fragilis* BF839 for pediatric autism spectrum disorder: a randomized clinical trial // *Front Nutr*. – 2024. Vol. 11. – P. 1447059.
19. Caputi V., Hill L., Figueiredo M., Popov J., Hartung E., Margolis K.G., Baskaran K., Joharapurkar P., Moshkovich M., Pai N. Functional contribution of the intestinal microbiome in autism spectrum disorder, attention deficit hyperactivity disorder, and Rett syndrome: a systematic review of pediatric and adult studies // *Front Neurosci*. – 2024. Vol. 18. – P. 1341656.
20. Tomaszek N., Urbaniak A.D., Bądyga D., Chwesiuk K., Modzelewski S., Waszkiewicz N. Unraveling the Connections: Eating Issues, Microbiome, and Gastrointestinal Symptoms in Autism Spectrum Disorder // *Nutrients*. – 2025. Vol. 17(3). – P. 486.

References

1. Caputi V., Hill L., Figueiredo M., Popov J., Hartung E., Margolis K.G., Baskaran K., Joharapurkar P., Moshkovich M., Pai N. Functional contribution of the intestinal microbiome in autism spectrum disorder, attention deficit hyperactivity disorder, and Rett syndrome: a systematic review of pediatric and adult studies // *Front Neurosci*. – 2024. Vol. 18. – P. 1341656.
2. Carmel J., Ghanayem N., Mayouf R., Saleev N., Chaterjee I., Getselter D., Tikhonov E., Turjeman S., Shaalan M., Khateeb S., Kuzminsky A., Kvetniy-Ferdman N., Kronos T., Bretler-Zager T., Koren O., Elliott E. *Bacteroides* is increased in an autism cohort and induces autism-relevant behavioral changes in mice in a sex-dependent manner // *Npj Biofilms and Microbiomes*. – 2023. Vol. 9(1). – P. 103.

3. Coretti L., Paparo L., Riccio M.P., Amato F., Cuomo M., Natale A., Borrelli L., Corrado G., De Caro C., Comegna M., Buommino E., Castaldo G., Bravaccio C., Chiariotti L., Berni Canani R., Lembo F. Gut Microbiota Features in Young Children With Autism Spectrum Disorders // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. Vol. 9. – P. e3146.
4. De Angelis M., Piccolo M., Vannini L., Siragusa S., De Giacomo A., Serrazzanetti D.I., Cristofori F., Guerzoni M.E., Gobetti M., Francavilla R. Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified // *PloS One*. – 2013. Vol. 8(10). – P. e76993.
5. Di Gesù C.M., Buffington S.A. The early life exposome and autism risk: a role for the maternal microbiome? // *Gut Microbes*. – 2024. Vol. 16(1). – P. 2385117.
6. Hwang J.W., Lee J.S. Korean Clinical Guideline for Autism Spectrum Disorder – Clinical Features, Course, Epidemiology, and Cause // *Journal of Child & Adolescent Psychiatry*. – 2024. Vol. 35(1). – P. 8–14.
7. Lagod P.P., Naser S.A. The Role of Short-Chain Fatty Acids and Altered Microbiota Composition in Autism Spectrum Disorder: A Comprehensive Literature Review // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. Vol. 24(24). – P. 17432.
8. Lin C.H., Zeng T., Lu C.W., Li D.Y., Liu Y.Y., Li B.M., Chen S.Q., Deng Y.H. Efficacy and safety of *Bacteroides fragilis* BF839 for pediatric autism spectrum disorder: a randomized clinical trial // *Front Nutr*. – 2024. Vol. 11. – P. 1447059.
9. Ma B., Liang J., Dai M., Wang J., Luo J., Zhang Z., Jing J. Altered Gut Microbiota in Chinese Children With Autism Spectrum Disorders // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2019. Vol. 9. – P. 40.
10. Mhanna A., Martini N., Hmaydoosh G., Hamwi G., Jarjanazi M., Zaifiah G., Kazzazo R., Haji Mohamad A., Alshehabi Z. The correlation between gut microbiota and both neurotransmitters and mental disorders: A narrative review // *Medicine*. – 2024. Vol. 103(5). – P. e37114.
11. Mussina K., Syssoyev D., Gaipov A., Poddighe D., Galiyeva D. Epidemiology of Autism Spectrum Disorder in children in Kazakhstan // *Data from Unified National Electronic Healthcare System 2014-2021*. – 2024.
12. Rossignol D.A., Frye R.E. The Effectiveness of Cobalamin (B12) Treatment for Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis // *J Pers Med*. – 2021. Vol. 11(8). – P. 784.
13. Sourander A., Silwal S., Surcel H.M., Hinkka-Yli-Salomäki S., Upadhyaya S., McKeague I.W., Cheslack-Postava K., Brown A.S. Maternal Serum Vitamin B12 during Pregnancy and Offspring Autism Spectrum Disorder // *Nutrients*. – 2023. Vol. 15(8). – P. 2009.
14. Takyi E., Nirmalkar K., Adams J., Krajmalnik-Brown R. Interventions targeting the gut microbiota and their possible effect on gastrointestinal and neurobehavioral symptoms in autism spectrum disorder // *Gut Microbes*. – 2025. Vol. 17(1). – P. 2499580.
15. Tamana S.K., Tun H.M., Konya T., Chari R.S., Field C.J., Guttman D.S., Becker A.B., Moraes T.J., Turvey S.E., Subbarao P., Sears M.R., Pei J., Scott J.A., Mandhane P.J., Kozyskyj A.L. *Bacteroides*-dominant gut microbiome of late infancy is associated with enhanced neurodevelopment // *Gut Microbes*. – 2021. Vol. 13(1). – P. 1-17.
16. Tomaszek N., Urbaniak A.D., Baldyga D., Chwesiuk K., Modzelewski S., Waszkiewicz N. Unraveling the Connections: Eating Issues, Microbiome, and Gastrointestinal Symptoms in Autism Spectrum Disorder // *Nutrients*. – 2025. Vol. 17(3). – P. 486.
17. Ullah H., Arbab S., Tian Y., Liu C.Q., Chen Y., Qijie L., Khan M.I.U., Hassan I.U., Li K. The gut microbiota-brain axis in neurological disorder // *Frontiers in Neuroscience*. – 2023. Vol. 17. – P. 1225875.
18. Wexler A.G., Schofield W.B., Degnan P.H., Foltz-Stogniew E., Barry N.A., Goodman A.L. Human gut *Bacteroides* capture vitamin B(12) via cell surface-exposed lipoproteins // *ELife*. – 2018. Vol. 7. – P. e37138.
19. Zuffa S., Schimmel P., Gonzalez-Santana A., Belzer C., Knol J., Bölte S., Falck-Ytter T., Forssberg H., Swann J., Diaz Heijtz R. Early-life differences in the gut microbiota composition and functionality of infants at elevated likelihood of developing autism spectrum disorder // *Translational Psychiatry*. – 2023. Vol. 13(1). – P. 257.
20. Zwierz M., Suprunowicz M., Mrozek K., Pietruszkiewicz J., Oracz A.J., Konarzewska B., Waszkiewicz N. Vitamin B12 and Autism Spectrum Disorder: A Review of Current Evidence // *Nutrients*. – 2025. Vol. 17(7). – P. 1220.

Авторлар туралы мәлімет:

Мейірманова Зарина Қадылбекқызы – (корреспонденция авторы) «Астана медицина университеті» КеАҚ аллергия, гематология, иммунология және эндокринология курстары бар балалар аурулары кафедрасының ассистенті (Астана қ., Қазақстан. E-mail: zarina_ze@mail.ru)

Қожахметов Самат Серікұлы – биология ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор, Назарбаев Университеті National Laboratory Astana жетекшісі ғылыми қызметкері (Астана қ., Қазақстан, e-mail: sskozhakhmetov@gmail.com)

Мұханбетжанов Нұрислам Әсетұлы – биология ғылымдарының магистрі, Назарбаев Университеті National Laboratory Astana кіші ғылыми қызметкері (Астана қ., Қазақстан, e-mail: nurislam.mukhanbetzhanov@nu.edu.kz)

Виноградова Елизавета Александровна – биология ғылымдарының магистрі, Назарбаев Университеті National Laboratory Astana ғылыми қызметкері (Астана қ., Қазақстан, e-mail: st.paulmississippi@gmail.com)

Джармұханов Жарқын Манасұлы – биология ғылымдарының магистрі, Назарбаев Университеті National Laboratory Astana ғылыми қызметкері (Астана қ., Қазақстан, e-mail: zharkyn.jarmukhanov@nu.edu.kz)

Қожахметова Сәния Сәттібайқызы – биология ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор, ҚР ДСМ Ұлттық биотехнология орталығының аға ғылыми қызметкері (Астана қ., Қазақстан, e-mail: saniya.s.kozhakhmetova@gmail.com)

Моренко Марина Алексеевна – медицина ғылымдарының докторы, профессор, «Астана медицина университеті» КеАҚ аллергия, гематология, иммунология және эндокринология курстары бар балалар аурулары кафедрасының меңгерушісі (Астана қ., Қазақстан. E-mail: morenko_m.a@mail.ru)

Шнайдер Ксения Викторовна – «Астана медицина университеті» КеАҚ аллергия, гематология, иммунология және эндокринология курстары бар балалар аурулары кафедрасының доценті (Астана қ., Қазақстан. E-mail: kseniya_shnayder@mail.ru)

Дүйсебаева Арайлым Құдабайқызы – магистр, «Астана медицина университеті» КеАҚ аллергия, гематология, иммунология және эндокринология курстары бар балалар аурулары кафедрасының ассистенті (Астана қ., Қазақстан. E-mail: arayl@mail.ru)

Құшығұлова Алмагүл Рахымберліқызы – медицина ғылымдарының докторы, профессор, Назарбаев Университеті National Laboratory Astana жетекші ғылыми қызметкері (Астана қ., Қазақстан, e-mail: akushugulova@nu.edu.kz)

Information about the authors:

Meirmanova Zarina Kadylbekkyzy – (corresponding author) Assistant of the Department of Children's Diseases with Courses in Allergology, Hematology, Immunology and Endocrinology, NJSC "Astana Medical University" (Astana, Kazakhstan. E-mail: zarina_ze@mail.ru)

Kozhakhmetov Samat Serikovich – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher at National Laboratory Astana, Nazarbayev University (Astana, Kazakhstan, e-mail: sskozhakhmetov@gmail.com)

Mukhanbetzhanov Nurislam Assetovich – Master of Biological Sciences, Junior Researcher at National Laboratory Astana, Nazarbayev University (Astana, Kazakhstan, e-mail: nurislam.mukhanbetzhanov@nu.edu.kz)

Vinogradova Elizaveta Alexandrovna – Master of Biological Sciences, Researcher at National Laboratory Astana, Nazarbayev University (Astana, Kazakhstan, e-mail: st.paulmississippi@gmail.com)

Jarmukhanov Zharkyn Manasuly – Master of Biological Sciences, Researcher at National Laboratory Astana, Nazarbayev University (Astana, Kazakhstan, e-mail: zharkyn.jarmukhanov@nu.edu.kz)

Kozhakhmetova Saniya Sattybayevna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Senior Researcher at the National Center for Biotechnology, Ministry of Healthcare of the Republic of Kazakhstan (Astana, Kazakhstan, e-mail: saniya.s.kozhakhmetova@gmail.com)

Morenko Marina Alexeyevna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Children's Diseases with Courses in Allergology, Hematology, Immunology and Endocrinology, NJSC "Astana Medical University" (Astana, Kazakhstan. E-mail: morenko_m.a@mail.ru)

Shnaider Kseniya Viktorovna – Associate Professor of the Department of Children's Diseases with Courses in Allergology, Hematology, Immunology and Endocrinology, NJSC "Astana Medical University" (Astana, Kazakhstan. E-mail: kseniya_shnayder@mail.ru)

Duissebayeva Arailym Kudabaikyzy – Master's Degree, Assistant of the Department of Children's Diseases with Courses in Allergology, Hematology, Immunology and Endocrinology, NJSC "Astana Medical University" (Astana, Kazakhstan. E-mail: arayl@mail.ru)

Kushugulova Almagul Rakhimberliyevna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Leading Researcher at National Laboratory Astana, Nazarbayev University (Astana, Kazakhstan, e-mail: akushugulova@nu.edu.kz)

Received January 6, 2025

Accepted May 20, 2025

N.M. Kerimbek^{1,2} , R.T. Kenzhebekova^{1,2} ,
A.I. Kapytina¹ , D.A. Gritsenko^{1,2*} 

¹“Institute of Plant Biology and Biotechnology”, Almaty, Kazakhstan

²“Al-Farabi Kazakh National University”, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: d.kopytina@gmail.com

DETECTION OF GRAPEVINE FANLEAF VIRUS BY NEW GRNAS

Grapevine fanleaf virus (GFLV) is an important worldwide pathogen of grapes that leads to significant economic losses due to reduced health and productivity of the vines. In this study, a highly sensitive and specific molecular diagnostic system for GFLV was established. Synthetic control sequences were developed to detect conserved regions of the viral RNA2 genome, enabling precise detection. The performance of a CRISPR/Cas12a-based diagnostic platform integrated with Recombinase Polymerase Amplification (RPA) was validated, demonstrating sensitive and rapid detection of GFLV even at low viral loads. Although the Cas13a system was tested, its sensitivity was insufficient due to guide RNA inefficiencies and the complex structure of viral RNA, indicating the necessity for further optimization. The combination of Cas12a with RPA was demonstrated to be a powerful diagnostic approach for the detection of plant viruses, with potential for field-integrated diagnostic applications. This research provides a foundation for the development of diagnostic tools aimed at controlling GFLV and improving viticulture management approaches, thereby promoting sustainable viticulture.

Keywords: grapevine fanleaf virus, CRISPR/Cas12a, recombinase polymerase amplification, molecular diagnostics, plant virus detection.

Н.М. Керімбек^{1,2}, Р.Т. Кенжебекова^{1,2},
А.И. Капытина¹, Д.А. Гриценко^{1,2*}

¹«Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты», Алматы, Қазақстан

²«Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті», Алматы, Қазақстан

*e-mail: d.kopytina@gmail.com

Жаңа гРНҚ арқылы жүзімнің желпуіш-жапырақ вирусын анықтау

Жүзімнің желпуіш-жапырақ вирусы (GFLV) – жүзімнің денсаулығы мен өнімділігін төмендетуге байланысты елеулі экономикалық шығындарға әкелетін бүкіл әлемде маңызды қоздырғыш болып табылады. Бұл зерттеуде GFLV үшін жоғары сезімтал және ерекше молекулалық диагностикалық жүйе әзірленді. Вирустың RNA2 геномының сақталған аймақтарын анықтай алатын синтетикалық бақылау реттілігі жасалып, нақты анықтау мүмкіндігі қамтамасыз етілді. CRISPR/Cas12a негізіндегі диагностикалық платформаның рекомбиназалық полимеразды күшейту әдісімен (RPA) біріктірілген өнімділігі тексеріліп, вирустың аз мөлшерінде де GFLV-ді жылдам және сезімтал анықтауға мүмкіндік беретіні көрсетілді. Cas13a жүйесі де зерттелгенімен, бағыттаушы РНҚ-ның тиімсіздігі мен вирустық РНҚ-ның күрделі құрылымы себепті жеткілікті сезімталдық көрсетпегені анықталды, бұл оның әрі қарай оңтайландырылуын қажет ететінін көрсетті. Cas12a мен RPA-ны біріктіру өсімдік вирустарын анықтауға арналған қуатты диагностикалық әдіс ретінде танылып, оны далалық жағдайларда қолдану мүмкіндігі бар екені дәлелденді. Бұл зерттеу GFLV-ді бақылауға арналған диагностикалық құралдарды әзірлеу және жүзім шаруашылығын басқару тәсілдерін жақсарту үшін негіз жасайды, осылайша тұрақты жүзім шаруашылығын дамытуға ықпал етеді.

Түйін сөздер: жүзімнің желпуіш-жапырақ вирусы, CRISPR/Cas12a, рекомбиназа-полимеразды амплификация, молекулалық диагностика, өсімдік вирусын анықтау.

Н.М. Керімбек^{1,2}, Р.Т. Кенжебекова^{1,2},
А.И. Капытина¹, Д.А. Гриценко^{1,2*}

¹«Институт биологии и биотехнологии растений», Алматы, Казахстан

²«Казахский национальный университет имени аль-Фараби», Алматы, Казахстан

*e-mail: d.kopytina@gmail.com

Обнаружение вируса веерной мозаики винограда с использованием новых гРНК

Вирус веерчатости листьев винограда (Grapevine fanleaf virus, GFLV) является значимым глобальным патогеном винограда, который вызывает существенные экономические потери из-за снижения здоровья и продуктивности лоз. В данном исследовании была разработана высокочувствительная и специфичная молекулярная диагностическая система для GFLV. Были созданы синтетические контрольные последовательности, которые позволяют точно выявлять консервативные участки в геноме RNA2 вируса. Производительность диагностической платформы CRISPR/Cas12a была протестирована в сочетании с методом рекомбиназной полимеразной амплификации (RPA), что продемонстрировало способность платформы к быстрому и чувствительному выявлению GFLV даже при низкой вирусной нагрузке. Хотя система Cas13a также была протестирована, её чувствительность оказалась недостаточной из-за неэффективности направляющих РНК и сложной структуры вирусной РНК, что указывает на необходимость дальнейшей оптимизации. Сочетание Cas12a и RPA было признано мощным диагностическим подходом для обнаружения растительных вирусов с потенциалом интеграции в полевых условиях. Это исследование создаёт основу для разработки диагностических инструментов, направленных на контроль GFLV и улучшение подходов к управлению виноградарством, способствуя устойчивому развитию виноградарства.

Ключевые слова: вирус веерчатости листьев винограда, CRISPR/Cas12a, рекомбиназная полимеразная амплификация, молекулярная диагностика, выявление растительных вирусов.

1. Introduction

Grapevine (*Vitis* spp.) is one of the most important crops in agriculture but is affected by many viruses. To date, over 90 viruses and viroids have been characterized from vineyards, many of which have a severe impact on the growth, viability, and productivity of this crop [1, 2, 3]. These viruses lower both the quality and quantity of the harvest and shorten the productive lifespan of vineyards, causing major economic damage. In grapevines, the virus is mainly transmitted in propagation via infected material or vectors such as nematodes, mealybugs, and scale insects.

Grapevine fanleaf virus (GFLV), which causes fanleaf degeneration of grapevine, is the most damaging viral diseases among these [4, 5]. This disease has been reported in over 60% of vineyard areas in France [6]. Xiphinema index [7] is the most important vector of GFLV transmission. This virus causes crop losses of up to 80% and considerably shorten the vineyard lifespan through progressive degeneration of the vines [8, 9].

Typical fanleaf degeneration symptoms include leaf discoloration (e.g., yellowing, vein banding, mosaic patterns), leaf deformation (e.g., small leaves, open petiole sinus), shoot abnormalities (e.g., short internodes, fasciation), and stunted plant

growth [10]. Disease severity depends on the grapevine variety, rootstock genotype, viral strain, environmental conditions, and vineyard management practices [11].

The GFLV genome contains two positive-sense single-stranded RNAs, RNA1 and RNA2, which translate into polyproteins (P1 and P2) that are processed into functional proteins through a viral protease [12, 13]. Genetic diversity studies have indicated that GFLV has a high polymorphism rate and frequent recombination events in its genome, probably because the same plant can contain more than one viral variant [14].

Sanitary selection and certification programs targeting the most important infectious agents, such as GFLV, ampeloviruses, closteroviruses, and the phytoplasmas associated with bois noir and flavescentia dorée, are recommended by the International Council for the Study of Viruses and Virus-like Diseases of Grapevine (ICVG) as a means of combating grapevine viruses.

New developments in molecular diagnostics have resulted in novel methods harnessing isothermal amplification techniques integrated with CRISPR/Cas systems, improving the accessibility, speed, and accuracy of virus detection. These technologies allow for the early detection of viruses such as GFLV, which is important for control-

ling their spread and preventing economic losses [15, 16].

A particularly promising development is the combination of isothermal amplification techniques, including Recombinase Polymerase Amplification (RPA) or Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP), and CRISPR/Cas systems. Not requiring thermal cycling, this combination enables sensitive and fast detection of viral nucleic acids and then becomes suitable for point-of-care diagnostics. The most established example of this, for instance, is the SHERLOCK (Specific High Sensitivity Enzymatic Reporter UNLOCKing) platform, which achieves specific, highly sensitive, and specific RNA or DNA sequence detection with the combination of CRISPR/Cas13 and isothermal amplification [17, 18, 19].

DETECTR (DNA Endonuclease-Targeted CRISPR Trans Reporter) is another representative system that uses a combination of CRISPR/Cas12a and isothermal amplification to detect plant viruses by identifying specific DNA sequences. These platforms are promising new tools to transform the field of pathogen diagnostics via rapid, accurate, and low-cost detection [17–20].

Though these technologies can be pathed to other organisms, their utilization for GFLV detection is in its infancy. CRISPR-based diagnostics for GFLV, when harvested or individual detection should enhance the speed of detection which in turn will allow faster management of the disease, thus preventing huge economic losses [21, 22].

2. Materials and methods

Sampling and Storage of Plant Material

In 2024, infected plant material with Grapevine fanleaf virus (GFLV) has been collected from vineyards and private farms, especially, the Turkestan region, including the village of Tulkibas. The symptoms of infection by this virus include leaf discoloration, leaf deformation and stunted growth. Samples were collected from grapevine exhibiting the symptoms of fanleaf degeneration. In order to maintain integrity, collected samples were shipped in thermal boxes, equipped with cooling packs. The samples were brought to the laboratory, where they were held at -80 °C until use.

Development of Synthetic Control Sequences

Synthetic sequences that had homology to strongly conserved regions of the GFLV genome were designed in Geneious Prime® 2024.0.5 software based on previous publications. These sequences targeted a critical region within the **RNA2**

segment of the GFLV genome, specifically the coat protein (CP) coding region, which is important for virion and transmission.

The following primers were used for amplification and detection of GFLV:

– Forward primer: CCWGACYTMTTCYYTRC-CAAG;

– Reverse primer: GGYTTTRCACAARACDC-GGAG.

These primers amplify a conserved fragment of 200–250 base pairs (bp) located between nucleotide positions 5,200–5,400 bp of the RNA2 genome segment according to the reference sequence (GCA_000860305.1). High conservation across diverse GFLV isolates in this region facilitated accurate and specific detection.

These synthetic sequences were cloned into the pMG-Amp plasmid, ordered from Macrogen (Republic of Korea), to facilitate further experimentation and the development of molecular diagnostic tools.

Cloning and Transformation

The GFLV sequences were cloned by blunt-end ligation into the pCambia2300 vector. The GFLV sequences were cloned in this study under the control of the Cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S promoter and the nopaline synthase (NOS) terminator.

Transformation of *E. coli* cells (Dh5 α strain) was carried out using the heat shock method. Competent cells were thawed on ice for 15 minutes, followed by the addition of ligated plasmid DNA. The mixture was incubated on ice for 30 minutes. Cells were subjected to heat shock at 42°C for 1 minute, then cooled on ice for 5 minutes. A total of 250 μ L of LB medium (antibiotic-free) was added to the cells, and the mixture was incubated at 37°C with shaking (160 rpm) for 1 hour. After centrifugation at 5000 rpm for 5 minutes, the supernatant was discarded, and the pellet was resuspended in 100 μ L of the remaining solution.

The transformed cells were plated onto solid LB agar medium containing kanamycin (50 μ g/mL) and incubated at 37°C for 16 hours. Individual colonies were transferred to 2 mL of liquid LB medium with kanamycin and incubated at 37°C with shaking (160 rpm) for 16 hours. Transformation success was confirmed using restriction digestion.

Confirmed clones were stored as glycerol stocks at -80°C. Plasmid DNA was extracted using the GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Thermo Fisher Scientific), and concentrations were measured using a NanoDrop One spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific).

RNA Extraction and Reverse Transcription

Total RNA was extracted from GFLV-infected plant material using the FastPure Plant Total RNA Isolation Kit (Vazyme) following the manufacturer's protocol. RNA quality was assessed by electrophoresis in a 1.5% agarose gel with TAE buffer and ethidium bromide staining.

For reverse transcription, the following reaction mixture (15 μ L) was prepared: 0.5 mM oligo-dT primers, 0.5 mM random hexamer primers, 3 μ L of total RNA. The mixture was incubated at 72°C for 10 minutes, cooled on ice for 3 minutes, then supplemented with 1X RT buffer, 0.5 mM dNTPs, and 5 U of RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific). The reaction was carried out at 45°C for 1 hour.

Recombinase Polymerase Amplification (RPA)

RPA was performed to amplify target regions of the GFLV genome using Bsu DNA Polymerase (New England Biolabs). Primers targeting conserved regions of GFLV, as listed above, were designed using PrimedRPA software. The reaction mixture included: 1X NEBuffer™ 2, 0.2 mM primers, 50 ng of DNA template.

Reactions were incubated at 37°C for 1 hour with constant agitation. Amplification products were analyzed via electrophoresis in a 1.5% agarose gel with TAE buffer.

CRISPR/Cas12a-Based Detection

For CRISPR/Cas12a detection, the enzyme En-Gen® Lba Cas12a (Cpf1) (New England Biolabs) was complexed with synthetic guide RNA (gRNA), transcribed from the pMG-Amp plasmid using the MEGA-script™ T7 Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific). The detection mixture included: 2 μ L of RPA-amplified DNA, 50 nM of the Cas12a/gRNA complex, 500 nM of single-stranded DNA fluorescent reporter. Fluorescence readings were taken on the QuantStudio 5 real-time PCR system at 37°C for 30-60 minutes.

Comparative Analysis of Detection Methods

To compare the efficiency of the CRISPR/Cas12a-based system, conventional PCR was performed. The reaction mixture included: 1X Taq buffer, 0.2 mM dNTPs, 0.2 mM primers (as listed above), 1 U of Taq polymerase. PCR products were analyzed using agarose gel electrophoresis in a 1.5% agarose gel, visualized under UV light.

3. Results and discussion

Sampling and Detection of Grapevine Fanleaf Virus (GFLV)

The study was conducted on grapevine samples collected from private farms in Turkestan region

and the village Tulkibas. Most plants screened displaying symptoms characteristic of Grapevine fanleaf virus (GFLV) infection, such as leaf distortion, discoloration and growth inhibition. Five of the 16 tested samples had previously been assayed and proven to be infected by GFLV.

Pathogen detection was performed using modern molecular techniques such as reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Sensitivity and specificity of RT-PCR were both high, thereby making RT-PCR a reliable method for the diagnosis of viral infections in grapevines. Subsequent sequencing showed, with regard to the GFLV, that local strains might differ genetically, improving the knowledge of the evolution and epidemiology of the virus.

Figure 1 presents the RT-PCR results for GFLV. The successful amplification of target sequences in infected samples highlights the effectiveness of RT-PCR for detecting these viruses.

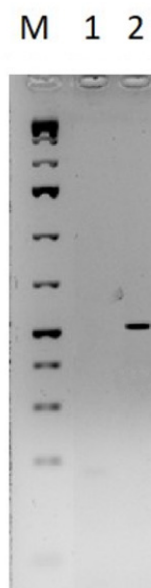


Figure 1 – The electrophoresis results of RT-PCR detection: M – DNA size marker (1 Kb Plus DNA Ladder, Invitrogen). 1– Negative control for GFLV. 2 – GFLV -infected sample.

These results confirm the specific amplification of viral sequences and the absence of nonspecific bands in negative controls, underscoring the reliability of RT-PCR for GFLV detection.

Development of Synthetic Control Sequences for GFLV Detection

To facilitate diagnostics of GFLV, synthetic control sequences were designed based on conserved

regions of the viral genome. These sequences were designed for enabling scalable and reproducible detection. The synthetic constructs were cloned into plasmids in *E. coli* cells for scalable production and molecular testing.

Figure 2 presents the design of the synthetic sequence for GFLV, with key components used for molecular cloning and diagnostic applications. The diagnostic target, identified as the Gf-con homo-

log conserved region, is marked with a blue bar. Two specific primers, Gf-3 and Gf-4 (green bars), are used to amplify this target region. The figure also indicates the restriction sites (PstI, SstI, SacI, Aval, XhoI, and AluI) located further downstream that are important for cloning and sequence verification. This design allows for plasmid vector incorporation and diagnostic workflows, including CRISPR and PCR-based approaches.

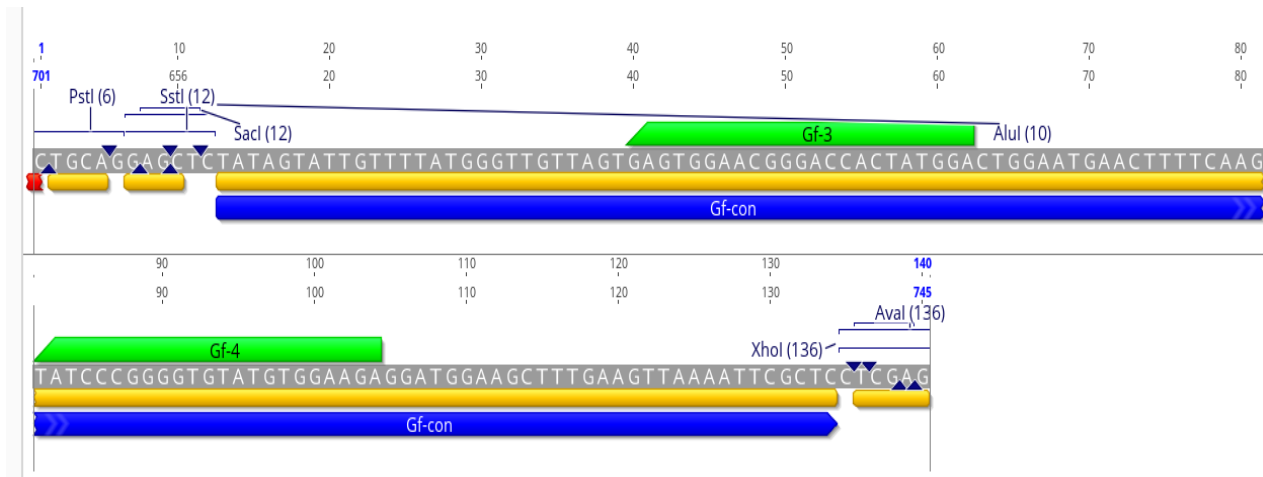


Figure 2 – A schematic representation of the synthetic sequence for GFLV

Optimization of GFLV Detection Using CRISPR/Cas Systems

Synthetic control sequences complementary to conserved regions of the GFLV genome were used to optimize detection protocols. We tested two CRISPR-based systems, Cas13a and Cas12a, to assess their sensitivity and efficacy for detecting GFLV infections.

Direct detection of GFLV RNA by the Cas13a system used RNase Alert reporters to measure RNA cleavage activity. This approach, however, showed very low sensitivity, as pronounced fluorescence signal were obtained only at high RNA concentration. The fluorescence was observed to peak at 306.14 RFU at 10 ng/μL and 51.43 RFU at a concentration of 1 ng/μL, with concentrations of 100 pg/μL or below not showing any detectable signal. As such, these results illustrate the crude sensitivity of Cas13a type sdrNPs as presently configured. More optimizations are needed to enhance the system specificity and efficient targeting of viral RNA by for example, designing guide RNAs.

In comparison, the Cas12a system used reverse transcription and RPA (recombinase polymerase

amplification) to amplify the target sequence in advance of detection. Combined with DNase Alert reporters, this increased sensitivity dramatically. The fluorescence signals were 512.20 RFU (10 ng/μL) and 131.72 RFU (1 ng/μL), indicating the capacity to detect lower viral loads than what was achievable with Cas13a. No signals were observed with concentrations lower than 100 pg/μL, but was overall expected as the additional use of RPA was indeed able to amplify enough the target material to increase the detection limit.

The GFLV-specific RPA primers were designed based on strict criteria to minimize off-target amplifications and maximizing efficiencies for RPA reactions. Primers were 30–35 nucleotides in length, with GC content between 40% and 60%, no secondary structures, and no formation of heterodimer. The GFLV target sequence was amplified using specific forward primer (5'-CGTACGACTGATGCTGACGTGCT-3') and reverse primer (5'-GACTGACGTAGCTGACGTGACT-3').

The relative comparison of the systems confirmed the benefits of Cas12a over Cas13a for GFLV detection. Combined with RPA, Cas12a

exhibited greater reliability and sensitivity, establishing it as the diagnostic method of choice for GFLV infections. While Cas13a has a limited performance, meaning additional optimization, especially the guide RNA design, is required for GFLV, it is confirmed a better diagnostic approach in this sense.

The results of this study highlight the benefits of integrating RPA with CRISPR/Cas systems for enhanced molecular diagnostics. This detection method offers high sensitivity, specificity, and efficiency, and can be readily applied on-site, which is particularly valuable for controlling economically important grapevine viruses. An additional approach involves optimizing the Cas13a system while developing alternative protocols for a broader range of sample types to evaluate the viability of these tools across diverse contexts.

The results demonstrate the relevance of CRISPR systems to plant virus diagnostics, mirroring recent reports about their speed and sensitivity. For instance, Mahas et al. developed a CRISPR–Cas12a-based assay to detect plant DNA viruses with high sensitivity and specificity in about one hour [23]. Similarly, Aman et al. reported an efficient one-pot RT-RPA–CRISPR/Cas12a assay for plant RNA viruses, emphasizing its rapidity and sensitivity [24].

However, in this study, the Cas12a system showed the greatest sensitivity for GFLV detection when combined with RPA which was consistent with prior research. An amplification step, such as RPA, is likely implicated in the improved sensitivity associated with Cas12a-based detection methods. In contrast, the RNA-targeting Cas13a system did not incorporate an amplification step and, as a result, exhibited lower sensitivity. The limitations may be due to the guide RNA being poorly designed, or that the structure of the viral RNA is complex and has been implicated in previous studies as affecting detection efficacy. [25–27].

The development of synthetic control sequences for GFLV provided a reliable means to optimize and validate the detection assays. Such controls are essential for standardizing diagnostic tests and ensuring their accuracy and reproducibility across different laboratories and field conditions.

Conclusion

The Cas12a system along with RPA was validated as rapid, highly sensitive, and specific mo-

lecular identification strategies for the Grapevine fanleaf virus (GFLV). Its sensitivity to detect low viral loads makes it particularly appropriate for the diagnosis of GFLV infection in grapevine samples. The introduction of an additional amplification step, such as RPA, increases the detection of sensitivity and makes the Cas12a system the diagnostic of choice compared to the less sensitive Cas13a system in its present configuration.

Although the Cas13a system had limited sensitivity, we speculate that this was due to potentially subpar guide RNA design or structural complexity of the viral RNA. Future work will be centered on guide RNAs for Cas13a optimization to enhance diagnostic capability of GFLV and other plant viruses.

The Cas12a system will also undergo further confirmation on a broader sample size obtained from various geographical locations. This will enable its robustness and reliability across diverse field conditions. Furthermore, the adaptation of Cas12a-based detection techniques to other plant pathogens may enhance its applicability in agricultural diagnostics.

Synthetic control sequences were integral to this study, providing a standardized and scalable framework for molecular diagnostics. Such controls not only facilitated the fine-tuning of detection protocol but also went a long way in ensuring the reproducibility of the experiments, an essential feature in the development of diagnostic assays.

Overall, the proposed CRISPR/Cas12a platform integrated with RPA is a promising step towards robust molecular diagnostics of GFLV, contributing to faster, more sensitive, and scalable plant virus detection. In the future, we will improve the guide RNAs for both the Cas12a and Cas13a systems and test their applicability for more plant viruses. Moreover, the advancement in portable field-deployable diagnostic technologies stemming from these systems potentially transforms approaches towards plant disease management, facilitating the early detection and control of economically significant pathogens in viticulture and other high-value crops.

Funding

The work was carried out within the framework of project BR21882269 “Using genome editing technology to increase the productivity of economically important crop plants”.

References

1. Fuchs M. Grapevine viruses: Did you say more than a hundred? // *Journal of Plant Pathology*. – 2024. – <https://doi.org/10.1007/s42161-024-01819-5>.
2. Zherdev A.V., Vinogradova S.V., Byzova N.A., Porotikova E.V., Kamionskaya A.M., Dzantiev B.B. Methods for the Diagnosis of Grapevine Viral Infections: A Review // *Agriculture*. – 2018. – Vol. 8. – No. 12. – Article 195. <https://doi.org/10.3390/agriculture8120195>.
3. Basso M.F., Fajardo T.V.M., Saldarelli P. Grapevine virus diseases: economic impact and current advances in viral prospection and management // *Revista Brasileira de Fruticultura*. – 2017. – Vol. 39. – No. 1. – Article e-411.
4. Martelli G.P. An overview on grapevine viruses, viroids, and the diseases they cause // *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*. – Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2017. – P. 31–46.
5. Gambino G., Di Matteo D., Gribaudo I. Elimination of Grapevine fanleaf virus from three *Vitis vinifera* cultivars by somatic embryogenesis // *European Journal of Plant Pathology*. – 2009. – Vol. 123. – P. 57–60. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9342-x>.
6. Demangeat G., Esmenjaud D., Voisin R.R., Bidault J.M., Grenan S., Claverie M. Le court-noué de la vigne: État des connaissances sur cette maladie // *Phytoma*. – 2005. – No. 587. – P. 38–42.
7. Andret-Link P., Schmitt-Keichinger C., Demangeat G., Komar V., Fuchs M. The specific transmission of Grapevine fanleaf virus by its nematode vector *Xiphinema index* is solely determined by the viral coat protein // *Virology*. – 2004. – Vol. 320. – P. 12–22.
8. Legin R., Bass P., Etienne L., Fuchs M. Selection of mild virus strains of fanleaf degeneration by comparative field performance of infected grapevines // *VITIS – Journal of Grapevine Research*. – 2015. – Vol. 32. – No. 2. – P. 103–110. <https://doi.org/10.5073/vitis.1993.32.103-110>.
9. Krebelj A.J., Čepin U., Ravnika M., et al. Spatio-temporal distribution of Grapevine fanleaf virus (GFLV) in grapevine // *European Journal of Plant Pathology*. – 2015. – Vol. 142. – P. 159–171. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0600-4>.
10. Vuitteze A. Variation des symptômes de la dégénérescence infectieuse de la vigne // *Comptes Rendus Séances L'académie Sci.* – 1956. – Vol. 243. – P. 515–517.
11. Vigne E., Komar V., Fuchs M. Comparative pathogenic effects of distinct Grapevine fanleaf virus strains on *Vitis vinifera* cvs Gewurztraminer and Chardonnay // *Proceedings of the 18th Congress of the International Council for the Study of Virus and Virus-Like Diseases of the Grapevine (ICVG)*. – Ankara, Turkey, 7–11 September 2015. – P. 236–237.
12. Panno S., Caruso A.G., Bertacca S., Pisciotta A., Lorenzo R.D., Marchione S., Matić S., Davino S. Genetic structure and molecular variability of Grapevine fanleaf virus in Sicily // *Agriculture*. – 2021. – Vol. 11. – No. 496. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060496>.
13. Schmitt-Keichinger C., Hemmer C., Komar V., Fuchs M. Molecular, cellular, and structural biology of Grapevine fanleaf virus // *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*. – Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2017. – P. 83–107.
14. Vigne E., Komar V., Fuchs M. Population structure and genetic variability within isolates of Grapevine fanleaf virus from a naturally infected vineyard in France: Evidence for mixed infection and recombination // *Journal of General Virology*. – 2004. – Vol. 85. – P. 2435–2445.
15. Andret-Link P., Laporte C., Valat L., Demangeat G., Vigne E., Laval V., Pfeiffer P., Stussi-Garaud C., Fuchs M. Functional analysis of the protease domain encoded by RNA2 of Grapevine fanleaf virus // *Virology*. – 2004. – Vol. 321. – No. 1. – P. 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.01.009>.
16. Li Y. Naked-eye detection of Grapevine red-blotch viral infection using a plasmonic CRISPR Cas12a assay // *Analytical Chemistry*. – 2019. – Vol. 91. – No. 21. – P. 13875–13883. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03691>.
17. Kellner M.J., Koob J.G., Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Zhang F. SHERLOCK: nucleic acid detection with CRISPR nucleases // *Nature Protocols*. – 2019. – Vol. 14. – P. 2986–3012. <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0210-2>.
18. Mustafa M.I., Makhawi A.M. SHERLOCK and DETECTR: CRISPR-Cas systems as potential rapid diagnostic tools for emerging infectious diseases // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2021. – Vol. 59. <https://doi.org/10.1128/jcm.00745-20>.
19. Joung J., Ladha A., Saito M., Kim N.G., Woolley A.E., Segel M., Barcena C., Collins J.J., Koochaki S.H., Yan W.X., Zhang F. Detection of plant pathogens using CRISPR-based diagnostics // *Nature Reviews Microbiology*. – 2020. – Vol. 18. – P. 702–714. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00422-w>.
20. Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Lee J.W., Essletzbichler P., Dy A.J., Joung J., Verdine V., Donghia N., Daringer N.M., Freije C.A., Myhrvold C., Bhattacharyya R.P., Livny J., Regev A., Koonin E.V., Hung D.T., Sabeti P.C., Collins J.J., Zhang F. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2 // *Science*. – 2017. – Vol. 356. – No. 6336. – P. 438–442. <https://doi.org/10.1126/science.aam9321>.
21. Chen J.S., Ma E., Harrington L.B., Da Costa M., Tian X., Palefsky J.M., Doudna J.A. CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity // *Science*. – 2018. – Vol. 360. – No. 6387. – P. 436–439. <https://doi.org/10.1126/science.aar6245>.
22. Vigne E., Komar V., Fuchs M. Advances in Grapevine Fanleaf Virus diagnostics and control strategies // *Journal of Plant Pathology*. – 2021. – Vol. 103. – P. 9–19. <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00686-x>.
23. Mahas A., Hassan N., Aman R., Marsic T., Wang Q., Ali Z., Mahfouz M.M. LAMP-coupled CRISPR–Cas12a module for rapid and sensitive detection of plant DNA viruses // *Viruses*. – 2021. – Vol. 13. – No. 466. <https://doi.org/10.3390/v13030466>.

24. Aman R., Mahas A., Marsic T., Hassan N., Mahfouz M.M. Efficient, rapid, and sensitive detection of plant RNA viruses with one-pot RT-RPA–CRISPR/Cas12a assay // *Frontiers in Microbiology*. – 2020. – Vol. 11. – Article 610872. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.610872>.
25. Hak H., Ostendorp S., Reza A., Greenberg S.I., Pines G., Kehr J., Spiegelman Z. Rapid on-site detection of crop RNA viruses using CRISPR/Cas13a // *Journal of Experimental Botany*. – 2024. – Article erae495. <https://doi.org/10.1093/jxb/erae495>.
26. Li Y., Wang X., Xu R., Zhang T., He L., Liu W. Establishment of RT-RPA-Cas12a assay for rapid and sensitive detection of human rhinovirus B // *BMC Microbiology*. – 2023. – Vol. 23. – Article 333. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03096-1>.
27. Krohannon A., Srivastava M., Rauch S., Schmitt L., Cohen A., Daley A., Gootenberg J.S. CASowary: CRISPR-Cas13 guide RNA predictor for transcript depletion // *BMC Genomics*. – 2022. – Vol. 23. – Article 172. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08366-2>.

References

1. Aman R., Mahas A., Marsic T., Hassan N., Mahfouz M.M. (2020) Efficient, rapid, and sensitive detection of plant RNA viruses with one-pot RT-RPA–CRISPR/Cas12a assay. *Frontiers in Microbiology*, vol. 11, article 610872. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.610872>.
2. Andret-Link P., Laporte C., Valat L., Demangeat G., Vigne E., Laval V., Pfeiffer P., Stussi-Garaud C., Fuchs M. (2004) Functional analysis of the protease domain encoded by RNA2 of Grapevine fanleaf virus. *Virology*, vol. 321, no. 1, pp. 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.01.009>.
3. Andret-Link P., Schmitt-Keichinger C., Demangeat G., Komar V., Fuchs M. (2004) The specific transmission of Grapevine fanleaf virus by its nematode vector *Xiphinema index* is solely determined by the viral coat protein. *Virology*, vol. 320, pp. 12–22.
4. Basso M.F., Fajardo T.V.M., Saldarelli P. (2017) Grapevine virus diseases: economic impact and current advances in viral prospection and management. *Revista Brasileira de Fruticultura*, vol. 39, no. 1, article e-411.
5. Chen J.S., Ma E., Harrington L.B., Da Costa M., Tian X., Palefsky J.M., Doudna J.A. (2018) CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity. *Science*, vol. 360, no. 6387, pp. 436–439. <https://doi.org/10.1126/science.aar6245>.
6. Demangeat G., Esmenjaud D., Voisin R.R., Bidault J.M., Grenan S., Claverie M. (2005) Le court-noué de la vigne: État des connaissances sur cette maladie. *Phytoma*, no. 587, pp. 38–42.
7. Fuchs M. (2024) Grapevine viruses: Did you say more than a hundred? *Journal of Plant Pathology*, <https://doi.org/10.1007/s42161-024-01819-5>.
8. Gambino G., Di Matteo D., Griabudo I. (2009) Elimination of Grapevine fanleaf virus from three *Vitis vinifera* cultivars by somatic embryogenesis. *European Journal of Plant Pathology*, vol. 123, pp. 57–60. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9342-x>.
9. Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Lee J.W., Essletzbichler P., Dy A.J., Joung J., Verdine V., Donghia N., Daringer N.M., Freije C.A., Myhrvold C., Bhattacharyya R.P., Livny J., Regev A., Koonin E.V., Hung D.T., Sabeti P.C., Collins J.J., Zhang F. (2017) Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*, vol. 356, no. 6336, pp. 438–442. <https://doi.org/10.1126/science.aam9321>.
10. Hak H., Ostendorp S., Reza A., Greenberg S.I., Pines G., Kehr J., Spiegelman Z. (2024) Rapid on-site detection of crop RNA viruses using CRISPR/Cas13a. *Journal of Experimental Botany*, p. 495. <https://doi.org/10.1093/jxb/erae495>.
11. Joung J., Ladha A., Saito M., Kim N.G., Woolley A.E., Segel M., Barcena C., Collins J.J., Koochaki S.H., Yan W.X., Zhang F. (2020) Detection of plant pathogens using CRISPR-based diagnostics. *Nature Reviews Microbiology*, vol. 18, pp. 702–714. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00422-w>.
12. Kellner M.J., Koob J.G., Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Zhang F. (2019) SHERLOCK: nucleic acid detection with CRISPR nucleases. *Nature Protocols*, vol. 14, pp. 2986–3012. <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0210-2>.
13. Krehannon A., Srivastava M., Rauch S., Schmitt L., Cohen A., Daley A., Gootenberg J.S. (2022) CASowary: CRISPR-Cas13 guide RNA predictor for transcript depletion. *BMC Genomics*, vol. 23, article 172. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08366-2>.
14. Krebelj A.J., Čepin U., Ravnikar M., et al. (2015) Spatio-temporal distribution of Grapevine fanleaf virus (GFLV) in grapevine. *European Journal of Plant Pathology*, vol. 142, pp. 159–171. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0600-4>.
15. Legin R., Bass P., Etienne L., Fuchs M. (2015) Selection of mild virus strains of fanleaf degeneration by comparative field performance of infected grapevines. *VITIS – Journal of Grapevine Research*, vol. 32, no. 2, pp. 103–110. <https://doi.org/10.5073/vitis.1993.32.103-110>.
16. Li Y., Wang X., Xu R., Zhang T., He L., Liu W. (2023) Establishment of RT-RPA-Cas12a assay for rapid and sensitive detection of human rhinovirus B. *BMC Microbiology*, vol. 23, article 333. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03096-1>.
17. Li Y. (2019) Naked-eye detection of Grapevine red-blotch viral infection using a plasmonic CRISPR Cas12a assay. *Analytical Chemistry*, vol. 91, no. 21, pp. 13875–13883. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03691>.
18. Mahas A., Hassan N., Aman R., Marsic T., Wang Q., Ali Z., Mahfouz M.M. (2021) LAMP-coupled CRISPR–Cas12a module for rapid and sensitive detection of plant DNA viruses. *Viruses*, vol. 13, no. 466. <https://doi.org/10.3390/v13030466>.
19. Martelli G.P. (2017) An overview on grapevine viruses, viroids, and the diseases they cause. *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, pp. 31–46.
20. Mustafa M.I., Makhawi A.M. (2021) SHERLOCK and DETECTR: CRISPR-Cas systems as potential rapid diagnostic tools for emerging infectious diseases. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 59. <https://doi.org/10.1128/jcm.00745-20>.

21. Panno S., Caruso A.G., Bertacca S., Pisciotto A., Lorenzo R.D., Marchione S., Matić S., Davino S. (2021) Genetic structure and molecular variability of Grapevine fanleaf virus in Sicily. *Agriculture*, vol. 11, article 496. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060496>.
22. Schmitt-Keichinger C., Hemmer C., Komar V., Fuchs M. (2017) Molecular, cellular, and structural biology of Grapevine fanleaf virus. *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, pp. 83–107.
23. Vigne E., Komar V., Fuchs M. (2004) Population structure and genetic variability within isolates of Grapevine fanleaf virus from a naturally infected vineyard in France: Evidence for mixed infection and recombination. *Journal of General Virology*, vol. 85, pp. 2435–2445.
24. Vigne E., Komar V., Fuchs M. (2015) Comparative pathogenic effects of distinct Grapevine fanleaf virus strains on *Vitis vinifera* cvs Gewürztraminer and Chardonnay. *Proceedings of the 18th Congress of the International Council for the Study of Virus and Virus-Like Diseases of the Grapevine (ICVG)*, Ankara, Turkey, 7–11 September, pp. 236–237.
25. Vigne E., Komar V., Fuchs M. (2021) Advances in Grapevine Fanleaf Virus diagnostics and control strategies. *Journal of Plant Pathology*, vol. 103, pp. 9–19. <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00686-x>.
26. Vuittenéz A. (1956) Variation des symptômes de la dégénérescence infectieuse de la vigne. *Comptes Rendus Séances L'académie Sci.*, vol. 243, pp. 515–517.
27. Zherdev A.V., Vinogradova S.V., Byzova N.A., Porotikova E.V., Kamionskaya A.M., Dzantiev B.B. (2018) Methods for the Diagnosis of Grapevine Viral Infections: A Review. *Agriculture*, vol. 8, no. 12, article 195. <https://doi.org/10.3390/agriculture8120195>.

Information about authors:

Kerimbek Nazym – PhD student of the Faculty of Biology and Biotechnology at Al-Farabi Kazakh National University, junior researcher at the Laboratory of Molecular Biology, RSE on REM «Institute of Plant Biology and Biotechnology» CS MSHE RK, (Almaty, Kazakhstan, e-mail: nazymkerimbek@gmail.com)

Kenzhebekova Roza – PhD student of the Faculty of Biology and Biotechnology at Al-Farabi Kazakh National University, researcher at the Laboratory of Molecular Biology, RSE on REM “Institute of Plant Biology and Biotechnology” CS MSHE RK (Almaty, Kazakhstan, e-mail: rozakenzhebekova344@gmail.com).

Kapytina Anastasiya – junior researcher at the Laboratory of Molecular Biology, RSE on REM “Institute of Plant Biology and Biotechnology” CS MSHE RK (Almaty, Kazakhstan, e-mail: anastasiya.kapytina@mail.ru).

Gritsenko Dilyara (corresponding author) – PhD, Associate Professor, Head of the Laboratory of Molecular Biology, RSE on REM “Institute of Plant Biology and Biotechnology” CS MSHE RK (Almaty, Kazakhstan, e-mail: d.kopytina@gmail.com).

Авторлар туралы мәлімет:

Керімбек Назым – Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің биология және биотехнология факультетінің PhD докторанты, ҚР ҒЖБМ ҒК “Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты” ШЖҚ РМК молекулалық биология зертханасының кіші ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан, e-mail: nazymkerimbek@gmail.com).

Кенжебекова Роза – Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің биология және биотехнология факультетінің PhD докторанты, ҚР ҒЖБМ ҒК “Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты” ШЖҚ РМК молекулалық биология зертханасының ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан, e-mail: rozakenzhebekova344@gmail.com).

Капытина Анастасия – ҚР ҒЖБМ ҒК “Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты” ШЖҚ РМК молекулалық биология зертханасының кіші ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан, e-mail: anastasiya.kapytina@mail.ru).

Гриценко Дилара (сәйкес автор) – PhD, доцент, ҚР ҒЖБМ ҒК “Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты” ШЖҚ РМК молекулалық биология зертханасының меңгерушісі (Алматы, Қазақстан, e-mail: d.kopytina@gmail.com).

Received January 12, 2025

Accepted May 20, 2025

FTAMP 34.15.25; 34.15.27; 34.15.31

<https://doi.org/10.26577/bb202510326>

З.Б. Сапахова^{1,2*}, З.Б. Стамгалиева³, Р. Канат¹,
Д. Дауров¹, А. Даурова^{1,4}, К. Жамбакин¹, М. Шамекова^{1,2}

¹Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институты, Алматы, Қазақстан

²Tanir Research Laboratory, Алматы, Қазақстан

³Биорталық I – Йоханнес Гутенберг Университеті, Майнц, Германия

⁴Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан

*e-mail: z.sapakhova@ipbb.kz

ӨСІМДІК ГЕНОМЫН ӨНДЕУГЕ АРНАЛҒАН ВИРУСТЫҚ ВЕКТОРҒА НЕГІЗДЕЛГЕН CRISPR/CAS

CRISPR-Cas9 көмегімен геномдық редакциялау қазіргі биотехнологияда әртүрлі организмдердің геномдық тізбегін дәл өзгертуге мүмкіндік беретін қуатты құралға айналды. CRISPR-Cas9 өсімдік биологиясында технология ерекше маңызға ие, өйткені ол дақылдарды жақсарту және қажетті қасиеттері бар жаңа сорттарды дамыту мақсатында өсімдік геномдарын тиімді өзгертуге мүмкіндік береді. Зерттеудің мақсаты – өсімдік геномын өңдеу үшін вирустық векторға негізделген CRISPR/CAS генетикалық жүйесін әзірлеу. Вирустық векторларға негізделген өсімдіктерде CRISPR-Cas9 геномдық өңдеуді енгізу дақылдарды жақсарту және ауруларға төзімділік, климаттық өзгерістер және өсімдіктердің тағамдық қасиеттері мәселелерін шешу үшін айтарлықтай мүмкіндіктерін ұсынады. Өсімдіктерде Cas9 өтпелі экспрессиясын алу үшін өсімдік ұлпасында экспрессиясы үшін 35s промоторы бар оңтайландырылған жүгері кодоны бар spCas9 бар нуклеазасы бар pKSE401 плазмидасы қолданылады. PDS геніне арналған бағыттаушы РНҚ дизайны CRISPR-P-2.0 және CRISPOR бағдарламаларында жасалды. Анықтамалық гендерді алу үшін Sol Genomics Network (SGN) базасы пайдаланылды және Blast-Nucleotide көмегімен туралау арқылы реттілік валидациясы жүргізілді. РНҚ бағыттаушылары GoldenGate клондау әдісімен плазмидаға «тігілген». *Nicotiana benthamiana* L. өсімдіктеріндегі вирустық вектордағы Cas9 экспрессиясына талдау жасалды. Өсімдіктер геномын редакциялау үшін CRISPR-Cas9 жүйесін және вирустық векторларды пайдалануға негізделген жұмыстың нәтижелері Қазақстан мен әлемдегі белгілі аналогтармен салыстырғанда жоғары бәсекеге қабілеттілікке ие. Жасалған тәсіл дәстүрлі өсіру әдістері мен басқа геномды өңдеу технологияларынан асып түсетін өсімдік геномдарына өзгерістер енгізудің дәлдігін, тиімділігін және икемділігін қамтамасыз етеді.

Түйін сөздер: CRISPR/Cas, қызанақ ергежейлі вирусы, вирус векторы, бағытталған РНҚ, *Nicotiana benthamiana* L.

Z. Sapakhova^{1,2*}, Z. Stamgaliyeva³, R. Kanat¹,
D. Daurov¹, A. Daurova^{1,4}, K. Zhambakin¹, M. Shamekova^{1,2}

¹Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan

²Tanir Research Laboratory, Almaty, Kazakhstan

³Biocenter I – Johannes-Gutenberg-University, Hanns-Dieter-Hüsch-Weg 15, Mainz, Germany

⁴Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: z.sapakhova@ipbb.kz

CRISPR/Cas virus-based system for plant genome editing

Genome editing using CRISPR-Cas9 has become a powerful tool in modern biotechnology to precisely modify the genomic sequences of various organisms. In plant biology, CRISPR-Cas9 technology is of particular importance because it allows efficient modification of plant genomes to improve crops and develop new varieties with desirable traits. This study aims to develop a CRISPR/Cas genetic system based on a viral vector for plant genome editing. The introduction of CRISPR-Cas9 genomic editing in plants based on viral vectors offers significant potential for crop improvement and addressing disease resistance, climate change, and nutritional traits. To obtain transient expression of Cas9 in plants, we used plasmids pKSE401 that contain nuclease containing spCas9 with an optimized maize codon under the control of the 35S promoter for expression in plant tissue. The design of guide RNAs for the PDS gene was carried out in CRISPR-P-2.0 and CRISPOR programs. Sol Genomics Network (SGN) database was used to obtain reference genes and sequence validation was performed by Blast-Nucleotide alignment. Guide RNAs were “sewn” into the plasmid by GoldenGate cloning. The expression of Cas9 in the viral

vector in *Nicotiana benthamiana* L. plants was analyzed. The results of the work based on the use of the CRISPR-Cas9 system and viral vectors for plant genome editing are highly competitive in comparison with known analogs in the Kazakhstan and the world. This approach provides accuracy, efficiency, and flexibility of making changes in plant genomes, surpassing traditional breeding methods and other genome editing technologies.

Keywords: CRISPR/Cas, tomato bushy stunt virus, viral vector, guide RNA, *Nicotiana benthamiana* L.

З.Б. Сапахова^{1,2*}, З.Б. Стамғалиева², Р. Канат¹,
Д.А. Дауров¹, А.К. Даурова^{1,4}, К.Ж. Жамбакин¹, М.Ш. Шапекова^{1,2}

¹Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан

²Tanir Research Laboratory, Алматы, Казахстан

³Биоцентр I – Университет Йоханнеса Гутенберга, Майнц, Германия

⁴Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Алматы, Казахстан

*e-mail: z.sapakhova@ipbb.kz

CRISPR/Cas, основанную на вирусном векторе для редактирования генома растений

Геномное редактирование с использованием CRISPR-Cas9 стало мощным инструментом в современной биотехнологии, позволяющим точно изменять геномные последовательности различных организмов. В биологии растений CRISPR-Cas9 технология приобретает особую важность, поскольку позволяет эффективно модифицировать геномы растений с целью улучшения сельскохозяйственных культур и разработки новых сортов с желаемыми свойствами. Целью исследования является разработать генетическую систему CRISPR/Cas, основанную на вирусном векторе для редактирования генома растений. Введение CRISPR-Cas9 геномного редактирования в растениях на основе вирусных векторов предлагает значительный потенциал для улучшения сельскохозяйственных культур и решения проблем, связанных с устойчивостью к болезням, климатическим изменениям и питательным свойствам растений. Для получения транзientной экспрессии Cas9 в растениях использован плазмид pKSE401, которые содержат нуклеазу содержащие spCas9 с оптимизированным кодоном кукурузы под управлением промотора 35S для экспрессии в растительной ткани. Дизайн направляющих РНК для гена PDS проводилось в программе CRISPR-P-2.0 и CRISPOR. Для получения референсных генов использовалась база Sol Genomics Network (SGN) и валидация последовательностей проводилась путем выравнивания с помощью Blast-Nucleotide. Направляющие РНК были «вшиты» в плазмиду методом GoldenGate клонирования. Проведен анализ экспрессии Cas9 в вирусном векторе в растениях *Nicotiana benthamiana* L. Результаты работы, основанной на использовании системы CRISPR-Cas9 и вирусных векторов для редактирования генома растений, обладают высокой конкурентоспособностью по сравнению с известными аналогами в Казахстане и мире. Данный подход обеспечивает точность, эффективность и гибкость внесения изменений в геномы растений, превосходя традиционные методы селекции и другие технологии редактирования генома.

Ключевые слова: CRISPR/Cas, вирус кустистой карликовости томата, вирусный вектор, направляющая РНК, *Nicotiana benthamiana* L.

Кіріспе

Өсімдік геномын өңдеудің жылдам және тиімді технологиялары гендік функцияларды зерттеу және дақылдарды жақсарту үшін пайдалы. Соңғы онжылдықтарда кездейсоқ мутацияларды генерациялау үшін химиялық немесе физикалық мутагенез әдістері кеңінен қолданылды, содан кейін олар қызығушылық тудыратын фенотиптерге скринингтен өтті [1, 2]. Соңғы жылдары геномды өңдеу үшін көзделген днк қос тізбекті үзілуін (DSB) генерациялау үшін реттілікке тән нуклеазаларды қамтитын әдістер қолданыла басталды, олардың қатарына zinc finger nucleases (ZFNs) және транскрипциялық актива-

тор тәрізді эффекторлық нуклеазалар (TALENs) сияқты генетикалық құралдар [3] кіреді. Тиімсіз, көп еңбекті қажет ететін және кеңінен қолданылмайтын дәстүрлі қолданылатын ZFNs [4], TALEN әдістерімен салыстырғанда көзделген гендік генді өңдеу технологиялары мутанттарды генерациялау процесін айтарлықтай жақсарты алады [5]. Көзделген гендік инженерия өсімдіктерді өсірудің классикалық әдістеріне және дақылдарды жақсартудың трансгендік әдістеріне балама ретінде пайда болды [6]. Басқа әдістермен салыстырғанда, CRISPR әдісі ең тиімді, ыңғайлы және ең арзан болып шықты [7]. Жақында II типті CRISPR/Cas9 жүйесі өзінің жоғары тиімділігімен, төмен құнымен, қарапайым

дизайнымен және әмбебаптығымен өсімдіктердің көптеген түрлерінде, соның ішінде *Nicotiana benthamiana* L. [8, 9, 10], *Nicotiana tabacum* [11, 12], *Arabidopsis thaliana* [13], бидай [14], күріш [15], жүгері [16], қызанақ [17] және картоп [18] гендерін өңдеуде тиімді екендігі дәлелденді.

Молекулалық редакциялау үшін ең көп қолданылатын хосттардың бірі – *Nicotiana benthamiana* L. Бұл түр өсімдік гендерін функционалдық талдау және патогендермен өзара әрекеттесу үлгісі ретінде кеңінен қолданылды, өйткені оның өмірлік циклі қысқа және мутацияға тез ұшырайтындылығы оны көптеген вирустарға өте сезімтал етеді [19].

Әртүрлі өсімдік жүйелерінде CRISPR/Cas9 платформасын құруға тырысатын зерттеулер үшін фитоен десатураза (PDS) гені хлорофилл биосинтезінде орталық рөл атқарады және CRISPR/Cas9 өңдеу үшін танымал маркер ретінде пайдаланылды [20, 21, 22]. Себебі PDS мутантында альбинос фенотипі, мақсатты мутацияның визуалды көрсеткіші бар [22], АЛ PDS әртүрлі диплоидты өсімдік геномдарындағы бір даналы ген болып табылады. Сондықтан PDS мутантын оңай тануға және алуға болады. Осы себепті PDS гені өсімдіктердегі гендерді өңдеу тұжырымдамасын тексеру үшін эндогендік репортер гені ретінде қарастырылады [5, 6, 23, 24, 25, 26].

Томаттың бұталы ергежейлі вирусының p19 протеині димерлердің түзіп кешенді бағдарламалау арқылы РНҚ-индукцияланған үнсіздік кешенінің (RISC) белсендірілуіне жол бермейді. Бұл әрекет жүктырған хост кешенінің RISC белсенділігін тежеу арқылы бөтен және кішкентай РНҚ-ның (21, 22 нп) деградациясын тежейді. Бұл берілген генді хостта бөгде гендерді экспрессиялау үшін пайдалануға мүмкіндік береді [27, 28].

Бұл жұмыста, pKSE401 плазмидасын Cas9 ақуызын экспрессиялау векторы және GoldenGate әдісімен айқастырылған бағыттаушы РНҚ (gRNA) векторы ретінде қолданылды. Бұл зерттеудің мақсаты *Nicotiana benthamiana* L. үшін CRISPR/Cas9 жүйесін әзірлеу және растау және ең тиімдісін анықтау үшін әртүрлі gRNA тізбектерін сынау болды.

Зерттеу материалдары мен әдістері

gRNA дизайнын жасау. gRNA дизайнын жасау үшін Fasta форматында қолданылу үшін *Nicotiana benthamiana* L. модельдік өсімдігінің толық аннотацияланған геномы Sol Genomics

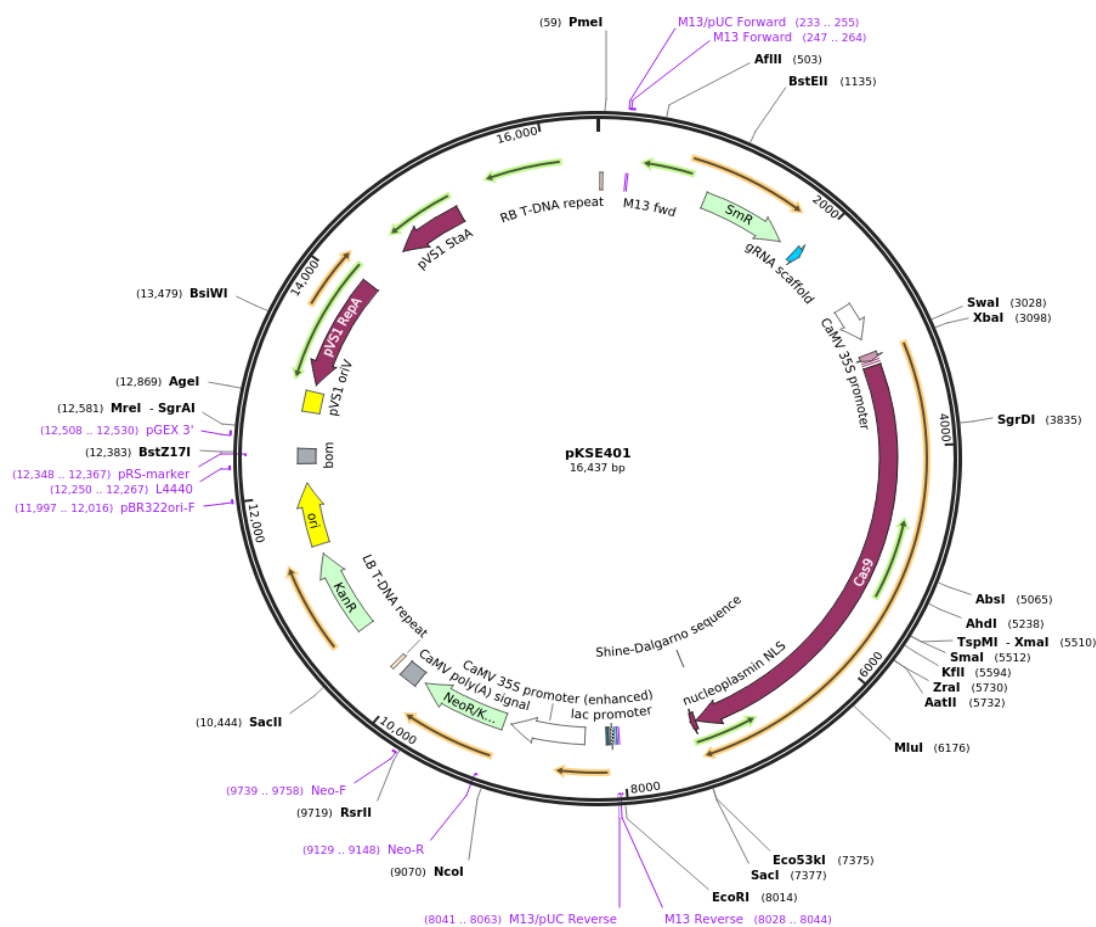
Network (SGN) (*Solanaceae* тұқымдасының геномдық ақпаратына арналған мәліметтер базасы) алынды. Ықтимал салыстыру үшін басқа өсімдіктердің геномдары NCBI ұымдастырған эукариоттық геномдар жинағынан FASTA форматында алынды [30]. CRISPR-P 2.0 веб-бағдарламасы [31] плазмидаға енгізілген РНҚ-ны (gRNA) жобалау үшін пайдаланылды. РНҚ валидациясына арналған праймер Primer-BLAST веб-сервисінің көмегімен жасалды [32]. Плазмидтік шаблондар Addgene веб-сайтынан алынды [33], және SnapGene® бағдарламалық жасақтамасында өңделген (www.snapgene.com).

Өсімдік материалдарын өсіру. *N. benthamiana* L. өсімдіктері ұзақ күндізгі жарық 16 сағат және түнгі қараңғылық 8 сағат жағдайында өсіріледі. Ауаның салыстырмалы ылғалдылығы 75-80% деңгейінде ұсталып тұрды. Өсімдіктерді өсіру кезінде температура 20 мен 27°C температура аралығында сақталды.

Конструкцияларды жобалау. Өсімдіктердегі Cas9 өтпелі экспрессиясын алу үшін pKSE401 плазмидасы (Addgene, Plasmid #62202) (Сурет 1) пайдаланылды, оның құрамында 35s промоторының бақылауымен оңтайландырылған жүгері кодоны бар spCas9 бар нуклеаза өсімдіктерде тиімді экспрессиялану үшін енгізілген. PDS геніне арналған gRNA дизайны CRISPR-P-2.0 және CRISPR бағдарламаларында жүзеге асырылды. Анықтамалық гендерді алу үшін Sol Genomics Network (SGN) дерекқоры пайдаланылды, ал реттілікті тексеру Blast-Nucleotide көмегімен туралау арқылы жүзеге асырылды.

Конструкцияларды клондау. gRNA плазмидаға GoldenGate клондау әдісімен тігілген. Ол үшін PDS1, PDS2, PDS3 және PDS4 олигонуклеотидтерінің бір тізбегі 95°C температурада күйдіру арқылы гибридизацияланды және 2% агарозды геледе сыналды. Әрі қарай, GoldenGate реакциясын жүзеге асыру үшін BsaI ферменті мен T4 лигазасының қатысуымен қос тізбекті олигонуклеотидтер pKSE401 плазмидасымен инкубацияланды. Алынған конструкциялар жылу соққысы әдісімен *Escherichia coli* жасушаларына трансформацияланды.

Бактериалдық трансформация. Бактерияларды өсіруге антибиотик қосылған Luria-Bertani (LB) қоректік ортасы қолданылды. Плазмида бактерияларға, ортаға 50-100 мкл жасушаларға 1-5 мкл плазмида ерітіндісін қосу арқылы енгізілді. Жасуша мембраналарының плазмидаға өткізгіштігін арттыру үшін қоспаны мұзға 30 минутқа қойды.



1-сурет – pKSE401 плазмидасының гендік картасы (Addgene, Plasmid #62202). Өсімдік геномын редакциялау және CRISPR/Cas негізіндегі гендерді реттеу үшін; 3×FLAG-NLS-zCas9-NLS, көзделген реттілікті енгізу үшін gRNA тіректері

Қоспа бактериялық инкубаторға қойылып, жылу соққысы жағдайларын жасау үшін 42°C температурада 30-90 секунд инкубацияланды. Жылу соққысынан кейін қоспаны қайтадан мұзға 2 минутқа қойылды. Қоспаға 500 мкл жылы қоректік ортасы қосылып, жасушаларды қалпына келтіру үшін 37°C температурада 1-2 сағат инкубацияланды. Жасушалар антибиотиктер қосылған агар пластиналарына жайылып, түнде 37°C температурада инкубацияланды.

Agrobacterium tumefaciens жасушаларын алу. Бактериялар 50 мл стерильді LB ортасында тұрақты араластыра отырып (160 айн/мин) OD600 = 0,5-0,8 дейін 28-30°C температурада 18 сағат бойы өсірілді. Содан кейін мұзбен салқындатылған культура 4°C және 6000 айн/мин температурада 7 минут бойы центрифугаланды. Супернатанты алып тастағаннан кейін түнба стерильді ерітіндімен екі рет жуылып, 20 мл 10% глицерин ерітіндісімен салқындатылды. Содан кейін түнба 1:1 қатынасында 10% глицерин ерітіндісімен

қайта араластырылып, қаптамаға салынды.

ДНҚ/РНҚ оқшаулау. Өсімдік ДНҚ-сы өндірушінің нұсқауларына сәйкес Sigma-Aldrich GenElute PLANT GENOMIC DNA MINIPREP жинағы арқылы оқшауланған. РНҚ өндірушінің нұсқауларына сәйкес TRI Reagentінің (Sigma-Aldrich) көмегімен оқшауланған. Алынған нуклеин қышқылдарының саны мен сапасы өндірушінің нұсқауларына сәйкес NanoDrop 2000 құрылғыларында спектрофотометриялық әдістермен бағаланды.

Инфльтрацияланған жапырақтардағы ПТР талдауы. Көзделген аймақтың ПТР амплификациясы Mubarić et al., 2016 [34] сипаттаған әдіс бойынша жүргізілді. Ол үшін ПТР амплификациялау үлгісі ретінде *N. benthamiana* L. инфльтрацияланған және бақылау жапырақтарынан оқшауланған геномдық ДНҚ пайдаланылды. 1-кестеде gRNA NbPDS генімен әрекеттесу орнында жасалған праймерлер көрсетілген (Кесте 1).

1-кесте – NbPDS gRNA генімен өзара әрекеттесу орнында жасалған праймерлер

Аты	Тізбек	Сипаттама
NB-PDS3-TR1,2-gDNA-F2	GAAACACATCACCTAGGCGG	Көзделген PDS генінің айналасында орналасқан ПТР
NB-PDS3-TR1,2-gDNA-R	GGGCGTGAGGAAGTACGAAA	
NBPDS3-gDNA-404bp- F	GTAATAATGCCCCAAATTGGACTTGT	404пн PDS фрагментін көбейту үшін
PDS NBPDS3-gDNA-404bp-R	CGTGAGGAAGTACGAAATGATGATGA	404пн PDS фрагментін көбейту үшін

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

gRNA дизайны CRISPR-P-2.0 және CRISPOR бағдарламаларында жүзеге асырылды (Сурет 2). Ол үшін Sol Genomics Network

(SGN) дерекқорынан PDS гендерінің тізбегі тандалды.

Алынған PDS тізбегі бағдарламадағы реттілік терезесіне жүктелді және gRNA-ға ең қолайлы үміткерлер тандалды (3-сурет).

Show All entries Search:

position start - end	target sequence 20mer+PAM (total 23mer)	sequence information				number of target sites		
		GC% of 20mer	Tm of 20mer	TTTT in 20mer	restriction sites	20mer +PAM	12mer +PAM	8mer +PAM
6 - 28	CCC TTGCTTCTGCTTTATTTGCT [gRNA]	35.00 %	66.36 °C	-		3 [detail]	253 [detail]	8734 [detail]
7 - 29	CCT TGCCTTCTGCTTTATTTGCTC [gRNA]	40.00 %	67.58 °C	-		3 [detail]	284 [detail]	4189 [detail]
15 - 37	CTGCTTTATTTGCTCATGCA TGG [gRNA]	40.00 %	67.41 °C	-	NsiI	1 [detail]	35 [detail]	2521 [detail]
16 - 38	TGCTTTATTTGCTCATGCAT GGG [gRNA]	35.00 %	66.24 °C	-	NsiI	3 [detail]	33 [detail]	5602 [detail]
19 - 41	TTTATTTGCTCATGCATGGG CCG [gRNA]	40.00 %	67.67 °C	-	NsiI	2 [detail]	41 [detail]	3402 [detail]
52 - 74	GTCGCCCATCTCTCGAACG TGG [gRNA]	65.00 %	77.31 °C	-		24 [detail]	106 [detail]	1625 [detail]
54 - 76	CCG CATCTCTCTCGAACGTGGAA [gRNA]	55.00 %	73.34 °C	-		26 [detail]	189 [detail]	8772 [detail]
57 - 79	CCA TCTCTCGAACGTGGAAATA [gRNA]	45.00 %	69.47 °C	-		4 [detail]	155 [detail]	4231 [detail]
63 - 85	CCT CGAACGTGGAAATAATTTTG [gRNA]	35.00 %	60.87 °C	-		45 [detail]	122 [detail]	5172 [detail]
64 - 86	CTCGAACGTGGAAATAATTT TGG [gRNA]	35.00 %	62.61 °C	-		44 [detail]	423 [detail]	20108 [detail]
68 - 90	AACGTGGAAATAATTTTGGC CCG [gRNA]	35.00 %	64.47 °C	+	EaeI	47 [detail]	118 [detail]	6975 [detail]
76 - 98	AATAATTTTGGCCGTAGCT AGG [gRNA]	40.00 %	70.31 °C	+	EaeI	41 [detail]	315 [detail]	1565 [detail]
85 - 107	GGCCGGTAGCTAGGAATACC AGG [gRNA]	60.00 %	78.90 °C	-		10 [detail]	32 [detail]	5530 [detail]
87 - 109	CCG GTAGCTAGGAATACCAGGTC [gRNA]	50.00 %	72.73 °C	-		5 [detail]	50 [detail]	2480 [detail]
103 - 125	CCA GGTCACTGCCCTCTCTGTCA [gRNA]	65.00 %	80.10 °C	-	Bme1580I	2 [detail]	13 [detail]	1916 [detail]
114 - 136	CCG CTCCTGTCACTGTTTCGCCG [gRNA]	60.00 %	75.12 °C	-		20 [detail]	55 [detail]	1926 [detail]
115 - 137	CCCTCCTGTCACTGTTTCGC CCG [gRNA]	60.00 %	75.94 °C	-		1 [detail]	2 [detail]	1193 [detail]
115 - 137	CCC TCCTGTCACTGTTTCGCCGG [gRNA]	60.00 %	76.55 °C	-		1 [detail]	68 [detail]	3056 [detail]
116 - 138	CCT CTCCTGTCACTGTTTCGCCGA [gRNA]	60.00 %	76.55 °C	-		1 [detail]	166 [detail]	3929 [detail]
119 - 141	CCT GTCAGTGTTCGCCGGATGT [gRNA]	55.00 %	74.17 °C	-		1 [detail]	118 [detail]	1511 [detail]
134 - 156	CGG GATGTCTTCAGTAGCACATA [gRNA]	40.00 %	66.77 °C	-		1 [detail]	7 [detail]	2281 [detail]
137 - 159	GATGTCCTCAGTAGCACATA TGG [gRNA]	40.00 %	66.77 °C	-	NdeI	1 [detail]	7 [detail]	5694 [detail]
156 - 178	ATGGTACCTGTTCTTTTGAT AGG [gRNA]	35.00 %	65.87 °C	+	Acc65I KpnI	64 [detail]	363 [detail]	8777 [detail]
162 - 184	CCT GTTCTTTTGATAGGTCCTTA [gRNA]	35.00 %	64.37 °C	-		3 [detail]	426 [detail]	8105 [detail]
180 - 202	CCT TACCCTTTACAGCAGTGATG [gRNA]	45.00 %	70.33 °C	-		1 [detail]	14 [detail]	5771 [detail]
185 - 207	CCC TTTACAGCAGTGATGTAATG [gRNA]	35.00 %	63.97 °C	-		1 [detail]	107 [detail]	3084 [detail]
186 - 208	CCTTACAGCAGTGATGTAA TGG [gRNA]	40.00 %	67.24 °C	-		1 [detail]	13 [detail]	4524 [detail]
186 - 208	CCT TACAGCAGTGATGTAATGG [gRNA]	40.00 %	67.17 °C	-		1 [detail]	16 [detail]	1916 [detail]
195 - 217	CAGTGATGTAATGGATCAAG TGG [gRNA]	40.00 %	64.79 °C	-		2 [detail]	46 [detail]	5181 [detail]
203 - 225	TAATGGATCAAGTGGTCCTC AGG [gRNA]	45.00 %	69.64 °C	-		20 [detail]	179 [detail]	3383 [detail]
204 - 226	AATGGATCAAGTGGTCCTCA GGG [gRNA]	45.00 %	70.64 °C	-		3 [detail]	15 [detail]	2706 [detail]
219 - 241	CCT CAGGTATGTAGTGCCGTCG [gRNA]	60.00 %	76.47 °C	-		1 [detail]	3 [detail]	1834 [detail]
236 - 258	CCGTCGTACACTCTCAAGTA AGG [gRNA]	50.00 %	71.07 °C	-	SmlI	15 [detail]	46 [detail]	4942 [detail]
236 - 258	CCG TCGTACACTCTCAAGTAAGG [gRNA]	45.00 %	68.88 °C	-	SmlI	19 [detail]	128 [detail]	1240 [detail]
239 - 261	TCGTACACTCTCAAGTAAGG TGG [gRNA]	45.00 %	68.88 °C	-	SmlI	26 [detail]	42 [detail]	3404 [detail]
257 - 279	GGTGAATTTGAAAATTTT CCG [gRNA]	25.00 %	57.92 °C	+	ApoI	1 [detail]	698 [detail]	33897 [detail]
262 - 284	AATTTGAAAATTTTCGGAA TGG [gRNA]	20.00 %	54.84 °C	+	ApoI	1 [detail]	17 [detail]	4210 [detail]
263 - 285	ATTTTGAAAATTTTCGGAAT GGG [gRNA]	20.00 %	55.06 °C	+	ApoI	2 [detail]	45 [detail]	4292 [detail]
264 - 286	TTTTGAAAATTTTCGGAATG GGG [gRNA]	25.00 %	56.28 °C	+	ApoI	1 [detail]	35 [detail]	1489 [detail]
269 - 291	AAAATTTTCGGAATGGGGA TGG [gRNA]	35.00 %	65.89 °C	+	ApoI	1 [detail]	48 [detail]	5546 [detail]
289 - 311	TGGTGAGCCTCTCCGTGT AGG [gRNA]	60.00 %	78.84 °C	-		72 [detail]	135 [detail]	1760 [detail]
290 - 312	GGTGAGCCTCTCCGTGTA GGG [gRNA]	60.00 %	77.94 °C	-		105 [detail]	213 [detail]	1297 [detail]
297 - 319	CCT CTCCTGTAGGGTTGTTAG [gRNA]	50.00 %	71.40 °C	-		3 [detail]	142 [detail]	1687 [detail]
303 - 325	CCG TGTAGGGTTGTTAGCAAAC [gRNA]	40.00 %	67.42 °C	-		2 [detail]	457 [detail]	2293 [detail]
323 - 345	AACCTCCCTACGTCATGCTT TGG [gRNA]	50.00 %	74.41 °C	-		4 [detail]	8 [detail]	4972 [detail]

2-сурет – CRISPOR жасаған gRNA нұсқаларының тізімі

or Paste a nucleotide sequence: ?

```

ATTGACCCTTGCTTCTGCTTTATTTGCTCATGCGGGCGGTGACAACTTGCCGCCATCTCCTCGAAC
GTGGAAATAATTTTGGCCGGTAGCTAGGAATACCAGGTCAAGTGCCTCTCTGTCAGTGTTCGCCGGATG
TCTTCAGTAGCAGATATGGTACCTGTTCTTTTGATAGGTCCTTACCTTTACAGCAGTGATGTAATGGAT
CAAGTGGTCCTCAGGGTATGTAGTCCGTCGTACACTCTCAAGTAAGGTGGAATTTTAAAAATTTTCGGA
ATGGGGTATGGTGCAGCCTCTCCGTGTAGGGTTGTAGACAAACCTCCCTACGTCATGCTTTGGCAGCA
GTTTGGGGGCACCAAGGATATTGTCCACCTCTCTTGATGTTCTTCATCTGATCACGAAGTGACAGATT
TTCGTTTTCCATTTCTCCATCTTCTTGAGGATGGTTGTGATCATGCCGCCGTTGGATGGAGTATCGGCG
AACACATTATTTGCGCGAGTGACCTCGGGTTCGCCTCCAAGTGTAGCAAGATCTGCGGTCGGCCTGCATC
TGACATTTTGTGAGGTGAATTCTCAACAAGCCGCTTAGAGTGCTCGTTAACCCTCTTCTAGTAATTTA
CTGACCTCTAGGGGTGCTTCTCAGATGCGGATGTGGAAGCGCTTTTCTGCAAGATCGTTAGATCTT
CGGGTTGTGGATGGGGGATTTCTCACTCAAGGTGGTACTAGGGGTTGAAATCAAAACCCATCTTCACC
GGCTTCGTTGAAATGGCCGATGAGGTTGGTTCACATCTGCTATTATTTTATTTCTTGCCTTGTGTCA
GCCATTTTTCATTTTGTGTTGTAAGAAGGGTTTTGATGGTTCTTAGGTGCAAACTATGGTTTTGAT
TCTCGAAATCCCAACACGCGGCCAAATTTGTTAGCTTAAAAATTATATTCGATTTTGTAAAGCCTAAA
AACAAATCGAAAAATATAGGGGTAAATCGTAATCAAATATAATAAGCCCAAGAGATGATTATTGCTTCGAG

```

or upload sequence file: ? Choose File no file selected

PAM sequence requirement: NGG (e.g. NGG, NRG, NNGRRT, NG) ?

Specificity check: Tobacco (Nicotiana benthamiana) genome, v1.0.1 (Jul, 2014)

design

3-сурет – CRISPOR-ға жүктелген PDS көзделген реттілігі

Алынған gRNA нұсқаларының ішінен көзделген емес өңірлердің саны ең аз, GC% мазмұнының оңтайлы мөлшері бар және кесу учаскелерінің шектеулері жоқ учаскелер таңдалды (2-кесте).

Сонымен қатар, *Nicotiana tabacum*-да PDS геніне негізделген gRNAs әзірленді (3-кесте).

E. coli жасушаларында оңтайландырылған жүгері кодоны бар spCas9 бар CRISPR/Cas9

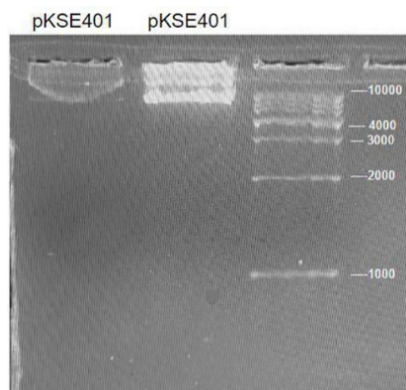
конструкциялары әзірленді. Ол үшін жасушалар жылу соққысы арқылы трансформацияланды, нәтижесінде пайда болған жасушалар канамицинмен LB ортасында өсірілді. Осыдан кейін трансформацияланған жасушалардан плазмидтік рКSE401 бөлініп, агарозды геледе тексерілді (Сурет 4). Алынған плазмидалардың бір бөлігі одан әрі клондау үшін пайдаланылды, ал қалғандары – 80°C температурада сақтауға көшірілді.

2-кесте – gRNA сипаттамалары: реттілігі, GC мазмұны, күйдіру температурасы және нысанадан тыс өңірлер саны

Position		Target sequences	Sequence information				Number of target sites		
start - end	+/-	20 mer+PAM (total 23 mer)	GC%	Tm of 20 mer	TTTT in 20 mer	restriction sites	20 mer +PAM	12 mer +PAM	8 mer +PAM
496 – 518	+	ATTATTTGCGCGAGTGACCTCGG [gRNA]	45 %	71.08°C	-	-	1 [detail]	1 [detail]	2065 [detail]

3-кесте – *N. tabacum* PDS геніне негізделген gRNAs сипаттамалары

No.	Тізбек	Ұзындық
1	F- ATTGGCCGTTAATTTGAGAGTCCA R- AAAGTGGACTCTCAAATTAACGGC	24 bp
2	F- ATTGGAGATTGTTATTGCTGGTGC R- AAACGCACCAGCAATAACAATCTC	24 bp



4-сурет – Трансформацияланған жасушалардан оқшауланған spCas9 тасымалдайтын pKSE401 плазмидалары

PDS геніне (Macrogen) арналған gRNAs олигонуклеотидтері HPLC арқылы синтезделді және тазартылды. Содан кейін алынған нуклеазасыз суда қайта суспензияланды және жұмыс концентрациясы 10 mM болатын қажетті аликвоттар жасалды. Синтезделген gRNAs-ны амплификациялау ПТР амплификаторда келесі жағдайларда жүргізілді: 5 минут ішінде 95°C, 3 минут ішінде 25°C. Осыдан кейін бір тізбекті және екі тізбекті олигонуклеотидтер 2,5% РНҚ агарозды гелінде сыналды (5-сурет).

Бір тізбекті олигонуклеотидтер жұбы PDS1 және PDS2 «gRNA1» құрады; және бір тізбекті олигонуклеотидтер жұбы PDS3 және PDS4 «gRNA2» құрады.



5-сурет – PDS геніне арналған gRNAs олигонуклеотидтері

N. benthamiana L. өсімдіктеріндегі вирустық вектордағы Cas9 экспрессиясын талдау. *N. benthamiana* L. өсімдіктеріндегі Cas9 ақуызының экспрессиясын талдау үшін ПТР Cas9 тізбегіне тән праймерлермен, сондай-ақ pKSE401 плазмидасының аймақтарына тән қосымша праймерлермен жүргізілді. Праймерлер Primer-BLAST бағдарламасында жасалған және NCBI-BLAST көмегімен тексерілген (4-кесте).

Ол үшін ДНҚ трансформацияланған *N. benthamiana* L. жапырақтарынан жоғарыда айтылған әдіспен оқшауланған. Алынған ДНҚ концентрациясы мен тазалығы Nanodrop 2000 құрылғының көмегімен өлшенді. Содан кейін

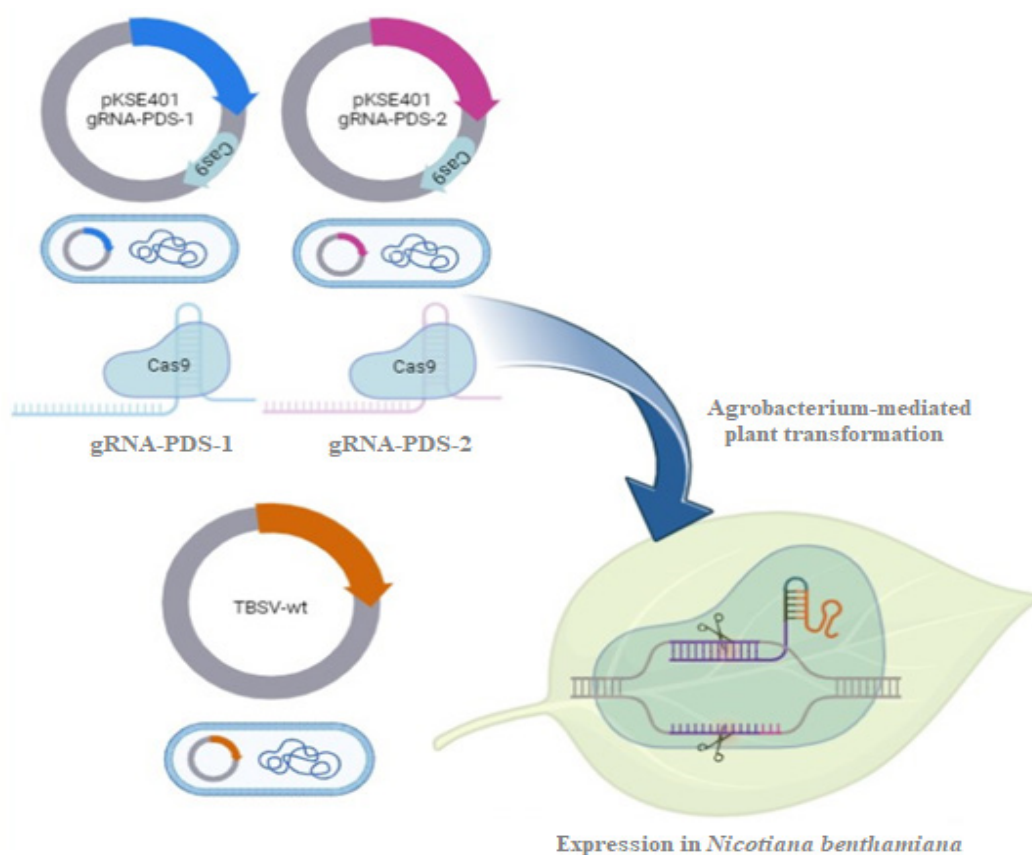
алынған ДНҚ Cas9 ақуызының экспрессиясын ПТР талдау үшін үлгі ретінде пайдаланылды.

ПТР үшін реакция қоспасы дайындалды, оның ішінде Cas9 генін көбейту үшін Cas9-570-F, Cas9-570-R праймерлері, сондай-ақ pKSE401 фрагменті үшін U626-401f, U629-401r праймерлері бар. Сонымен қатар, реакция қоспасына Nb-PPR-F және Nb-PPR-R ішкі бақылауға арналған праймерлер қосылды. Оқшауланған ДНҚ ПТР үлгісі ретінде пайдаланылды.

CRISPR-Cas9 кассетасының конструкциялары бір векторда PDS геніне арналған gRNAs және Cas9 эндонуклеаза тізбегі болатындай етіп жасалған (Сурет 6).

4-кесте – Cas9 реттілігіне тән праймерлердің сипаттамасы

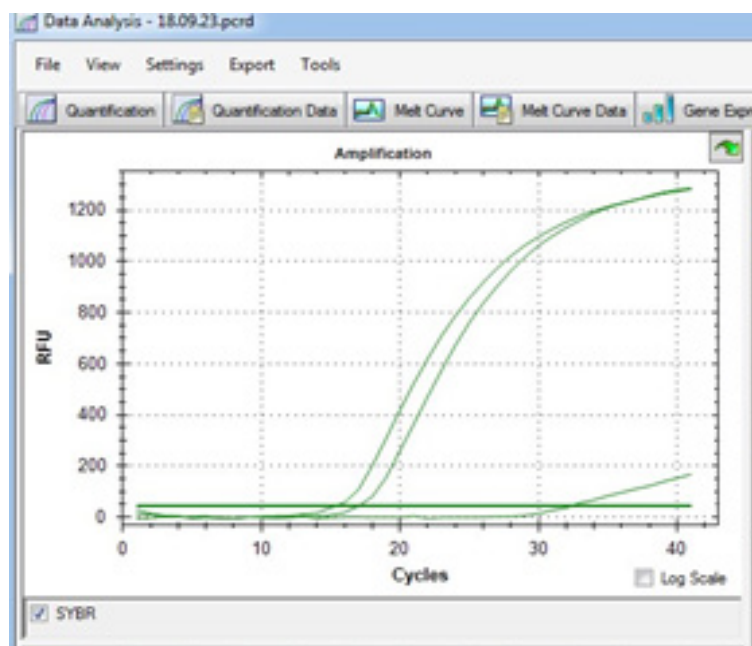
Аты	Тізбек	Сипаттамасы
Cas9-570-F	AGACCGTGAAGGTTGTGGAC	Cas9 генін тексеру үшін
Cas9-570-R	TAGTGATCTGCCGTGTCTCG	Cas9 генін тексеру үшін
U626-401F	TGTCCCAGGATTAGAATGATTAGGC	pKSE401 тізбегін тексеру үшін
U629-401R	GTCAGGCTGCAGTAGTTTCCATTAA	pKSE401 тізбегін тексеру үшін
Nb-PPR-F	GAGGGTCCATTTGAGTGAC	Ішкі бақылау <i>N. Benthamiana</i> L., пентатрикопептидті ақуыздың қайталанатын гені (PPR)
Nb-PPR-R	AGGCTGATGTTGGAATCTGG	Ішкі бақылау <i>N. Benthamiana</i> L., пентатрикопептидті ақуыздың қайталанатын гені (PPR)

6-сурет – CRISPR-Cas9 конструкцияларының схемасы және олардың *N. benthamiana*-дағы көрінісі

pKSE401 плазмидасында gRNA кассетасы (PDS1, PDS2), Cas9 ақуызын белсендіруге арналған РНҚ тірегі және CAMV 35s промоторының астында Cas9 ақуыз тізбегінің өзі бар.

РНҚ *N. benthamiana* L. өсімдіктерінен TRIzol көмегімен оқшауланған, содан кейін

Cas9 ақуызының экспрессиясын RT-PCR талдауы үшін cDNA синтезделген. PPR үй шаруашылығының гені бақылау құралы ретінде пайдаланылды, ал теріс бақылау құралы ретінде суы бар және днк үлгісі жоқ үлгі пайдаланылды (Сурет 7).



7-сурет – Трансформацияланған *N. benthamiana* L. өсімдіктеріндегі Cas9 ақуызының экспрессиясының ПТР талдауы

Нәтижесінде геномдық инженерия мен өсімдік шаруашылығында қолдану үшін жоғары көзделген gRNA тізбектері жасалды. Жұмыста Қазақстандағы ауыл шаруашылығы дақылдарының төзімділігін, агрономиялық сипаттамаларын және тағамдық сапасын арттыру мақсатында олардың геномдарын өзгерту үшін озық технологиялар қолданылады. Осылайша, бағдарламаның күтілетін нәтижелері ауыл шаруашылығын дамытуға және адамдардың өмір сүру сапасын жақсартуға маңызды үлес қосады.

Қорытынды

Зерттеу өсімдік геномын өндеудің озық технологияларына негізделген және осы саладағы әлемдік тәжірибеге негізделген. Бұл дақылдарды жақсарту мақсаттарына жету үшін озық құралдар мен әдістерді қолдануға мүмкіндік береді. Бұл жұмыстың нәтижелері Cas9 ақуызының TBSV вирустық векторымен және оның штаммдарымен бірге инфильтрациясын одан әрі зерттеуде, сондай-ақ гендік инженерия жүйесінің тиімділігін одан әрі арттыру үшін мультиплексті бағыттаушы РНҚ жүйесін сынауда қолданылатын болады.

Өсімдіктер геномын өндеу үшін CRISPR-Cas9 жүйесі мен вирустық векторларды пай-

далануға негізделген зерттеуіміздің нәтижелері ғылыми, технологиялық және қоғамдық қажеттіліктер, сондай-ақ экономикалық және өнеркәсіптік мүдделер үшін маңызды. Ұсынылған тәсіл өсімдіктердегі генетикалық ақпаратты өндеудің жоғары дәлдігі мен тиімділігін қамтамасыз етеді. Бұл функционалды геномика, ауылшаруашылық өнімділігі мен азық-түлік қауіпсіздігін арттыру саласындағы зерттеулерге жаңа мүмкіндіктер ашады. Сонымен қатар, ГМО қолданбай жақсартылған сипаттамалары бар өсімдіктерді құру қоғамдық сұранысты қанағаттандырады және нормативтік шектеулерді болдырмайды. Бұл сонымен қатар жаңа биотехнологиялық және ауылшаруашылық салаларын дамытуға мүмкіндік береді.

Мүдделер қақтығысы

Барлық авторлар мақаланың мазмұнын оқып, танысты және мүдделер қақтығысы жоқ.

Қаржыландыру көзі

Бұл зерттеуді қазақстан Республикасы Ғылым және Жоғары Білім Министрлігінің Ғылым Комитеті қаржыландырды (ЖТН BR21882269).

Әдебиеттер

1. Daurova A., Daurov D., Volkov D., Karimov A., Abai Z., Raimbek D., Zhapar K., Zhambakin K., Shamekova M. Mutagenic treatment of microspore-derived embryos of turnip rape (*Brassica rapa*) to increase oleic acid content // Plant Breeding. – 2020. – Vol. 139, No 5. – P. 916-922. <https://doi.org/10.1111/pbr.12830>.
2. Daurova A., Daurov D., Zhapar K., Volkov D., Sapakhova Z., Shamekova M., Zhambakin K. Improvement of breeding-valuable traits of rapeseed (*Brassica napus*) using mutagenesis // International Journal of Agriculture and Biology. – 2022. – Vol. 28, No 4. – P. 219-227. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1973>.
3. Bogdanove A.J., Schornack S., Lahaye T. TAL effectors: finding plant genes for disease and defense // Curr Opin Plant Biol. – 2010. – Vol. 13, No 4. – P. 394-401. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.04.010>.
4. Kim Y.G., Cha J., Chandrasegaran S. Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to Fok I cleavage domain // Proc Natl Acad Sci USA. – 1996. – Vol. 6, No 93(3). – P. 1156-1160. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.3.1156>.
5. Ma C., Zhu C., Zheng M., Liu M., Zhang D., Liu B., Li Q., Si J., Ren X., Song H. CRISPR/Cas9-mediated multiple gene editing in *Brassica oleracea* var. capitata using the endogenous tRNA-processing system // Hortic. Res. – 2019. – Vol. 16, No 20. <https://doi.org/10.1038/s41438-018-0107-1>.
6. Charrier A., Vergne E., Dousset N., Richer A., Petiteau A., Chevreau E. Efficient targeted mutagenesis in apple and first time edition of pear using the CRISPR-Cas9 system // Front. Plant Sci. – 2019. – Vol. 10, No 40. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00040>.
7. Doudna J.A., Charpentier E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9 // Science. – 2014. – Vol. 28, No 346 (6213). – P. 1258096. <https://doi.org/10.1126/science>.
8. Ma X., Li X., Li Z. Transgene-free genome editing in *Nicotiana benthamiana* with CRISPR/Cas9 delivered by a rhabdovirus vector // Methods Mol Biol. – 2023. – Vol. 2653. – P. 173-185. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3131-7_11.
9. Wang Z., Shea Z., Li Q., Wang K., Mills K., Zhang B., Zhao B. Evaluate the guide RNA effectiveness via Agrobacterium-mediated transient assays in *Nicotiana benthamiana* // Front. Plant Sci. – 2023. – Vol. 14. – P. 1111683. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1111683>.
10. Yoshida T., Ishikawa M., Toki S., Ishibashi K. Heritable tissue-culture-free gene editing in *Nicotiana benthamiana* through viral delivery of SpCas9 and sgRNA // Plant and Cell Physiology. – 2024. – Vol. 65, No 11. – P. 1743–1750. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcae100>.
11. Chen Y., Xiang H., Jia L., Yang Q., Zhang J., Jiang J., Zeng W., Deng L., Jin J., Gao Q., Li X. High-throughput creation of *Nicotiana tabacum* gene-targeted mutants based on CRISPR/Cas9 // Plant Cell Rep. – 2023. – Vol. 42. – P. 2039-2042. <https://doi.org/10.1007/s00299-023-03050-5>.
12. Le N.T., Tran H.T., Bui T.P., Nguyen G.T., Nguyen D.V., Ta D.T., Trinh D.D., Molnar A., Pham N.B., Chu Ha.H., Do P.T. Simultaneously induced mutations in eIF4E genes by CRISPR/Cas9 enhance PVY resistance in tobacco // Sci Rep. – 2022. – Vol. 12. – P. 14627. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18923-0>.
13. Angulo J., Astin C.P., Bauer O., Blash K.J., Bowen N.M., Chukwudinma N.J., DiNofrio A.S., Faletti D.O., Ghulam A.M., Gusinde-Duffy C.M., Horace K.J., Ingram A.M., Isaack K.E., Jeong G., Kiser R.J., Kobylanski J.S., Long M.R., Manning G.A., Morales J.M., Nguyen K.H., Pham R.T., Phillips M.H., Reel T.W., Seo J.E., Vo H.D., Wukoson A.M., Yeary K.A., Zheng G.Y., Lukowitz W. CRISPR/Cas9 mutagenesis of the Arabidopsis growth-regulating factor (GRF) gene family // Front. Genome Ed. – 2023. – Vol. 5. – P. 1251557. <https://doi.org/10.3389/fgeed.2023.1251557>.
14. Elsharawy H., Refat M. CRISPR/Cas9 genome editing in wheat: enhancing quality and productivity for global food security-a review // Funct Integr Genomics. – 2023. – Vol. 4, No 23(3). – P. 265. <https://doi.org/10.1007/s10142-023-01190-1>.
15. Romero F.M., Gatica-Arias A. CRISPR/Cas9: Development and application in rice breeding // Rice Science. – 2019. – Vol. 26, No 5. – P. 265-281. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2019.08.001>.
16. Wang Y., Tang Q., Pu L., Zhang H., Li X. CRISPR-Cas technology opens a new era for the creation of novel maize germplasms // Front. Plant Sci. – 2022. – Vol. 13. – P. 1049803. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1049803>.
17. Naeem M., Zaman W., Saqib S., Shahzad A., ur Rahman S., Ahmad N. CRISPR/Cas-mediated genome editing for efficient tomato breeding: past achievements and future directions // South African Journal of Botany. – 2024. – Vol. 172. – P. 277-288. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.07.038>.
18. Hou X., Guo X., Zhang Y., Zhang Q. CRISPR/Cas genome editing system and its application in potato // Front Genet. – 2023. – Vol. 13, No 14. – P. 1017388. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1017388>.
19. Jutras P.V., Marusic C., Lonoce C., Deflers C., Goulet M.-C., Benvenuto E., Michaud D., Donini M. An accessory protease inhibitor to increase the yield and quality of a tumour-targeting mAb in *Nicotiana benthamiana* leaves // Plos One. – 2016. – Vol 11, No 11. – P. e0167086. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167086>.
20. Zhang K., Raboanatahiry N., Zhu B., Li M. Progress in genome editing technology and its application in plants // Frontiers in Plant Science. – 2017. – Vol. 8, No 177. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00177>.
21. Pan C., Ye L., Qin L., Liu X., He Y., Wang J., Chen L., Lu G. CRISPR/Cas9-mediated efficient and heritable targeted mutagenesis in tomato plants in the first and later generations // Sci. Rep. – 2016. – Vol. 6. – P. 24765. <https://doi.org/10.1038/srep24765>.
22. Qin G., Gu H., Ma L., Peng Y., Deng X.W., Chen Z., Qu L.J. Disruption of phytoene desaturase gene results in albino and dwarf phenotypes in Arabidopsis by impairing chlorophyll, carotenoid, and gibberellin biosynthesis // Cell Res. – 2007. – Vol. 17. – P. 471–482. <https://doi.org/10.1038/cr.2007.40>.
23. Odipio J., Alicai T., Ingelbrecht I., Nusinow D.A., Bart R., Taylor N.J. Efficient CRISPR/Cas9 genome editing of phytoene desaturase in Cassava // Front. Plant Sci. – 2017. – Vol. 8. – P. 1780. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01780>.

24. Shan S., Mavrodiev E.V., Li R., Zhang Z., Hauser B.A., Soltis P.S., Soltis D.E., Yang B. Application of CRISPR/Cas9 to *Tragopogon (Asteraceae)*, an evolutionary model for the study of polyploidy // *Mol. Ecol. Resour.* – 2018. – Vol. 18. – P. 1427-1443. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12935>.
25. Bernard G., Gagneul D., Alves Dos Santos H., Etienne A., Hilbert J. L., Rambaud C. Efficient genome editing using CRISPR/Cas9 technology in chicory // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20. – P. E1155. <https://doi.org/10.3390/ijms20051155>.
26. Wilson F.M., Harrison K., Armitage A.D., Simkin A.J., Harrison R.J. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of phytoene desaturase in diploid and octoploid strawberry // *Plant Methods* – 2019. – Vol. 15. – P. 45. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0428-6>.
27. Chiong K.T., Cody W.B., Scholthof H.B. RNA silencing suppressor-influenced performance of a virus vector delivering both guide RNA and Cas9 for CRISPR gene editing // *Sci Rep.* – 2021. – Vol. 11. – P. 6769. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85366-4>.
28. Shamekova M., Mendoza M.R., Hsieh Y.C., Lindbo J., Omarov R.T., Scholthof H.B. Tombusvirus-based vector systems to permit over-expression of genes or that serve as sensors of antiviral RNA silencing in plants // *Virology.* – 2014. – Vol. 452. – P. 159-165. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.12.031>.
29. Fernandez-Pozo N., Menda N., Edwards J.D., Saha S., Tecle I.Y., Strickler S.R., Bombarely A., Fisher-York T., Pujar A., Foerster H., Yan A., Mueller L.A. The sol genomics network (SGN) – from genotype to phenotype to breeding // *Nucleic Acids Research.* – 2015. – Vol. 43. – P. D1036-1041. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1195>.
30. Sayers E.W., Bolton E.E., Brister J.R., Canese K., Chan J., Comeau D.C., Connor R., Funk K., Kelly C., Kim S., Madej T., Marchler-Bauer A., Lanczycki C., Lathrop S., Lu Z., Thibaud-Nissen F., Murphy T., Phan L., Skripchenko Y., Tse T., Wang J., Williams R., Trzavick B.W., Pruitt K.D., Sherry S.T. Database resources of the national center for biotechnology information // *Nucleic Acids Research.* – 2022. – Vol. 50. – P. 20-26. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1112>.
31. Hao L., Yudian D., Yanqing Z., Wenqi J., Kabin X., Ling-Ling C. CRISPR-P 2.0: An improved CRISPR-Cas9 tool for genome editing in plants // *Molecular Plant.* – 2017. – Vol. 10, No 3. – P. 530-532. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.01.003>.
32. Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction // *BMC Bioinformatics.* – 2012. – Vol. 13, No 134. – P. 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>.
33. Website of Addgene. Available online: <https://www.addgene.org/>. (accessed on 10 September 2023).
34. Mubarik M.S., Khan S.H., Ahmad A., Khan Z., Sajjad M., Khan I.A. Disruption of phytoene desaturase gene using transient expression of Cas9: gRNA Complex // *International Journal of Agriculture & Biology.* – 2016. – Vol. 18, No 5. – P. 990-996. <https://doi.org/10.17957/ijab/15.0199>.

References

1. Angulo J., Astin C.P., Bauer O., Blash K.J., Bowen N.M., Chukwudinma N.J., DiNofrio A.S., Faletti D.O., Ghulam A.M., Gusinde-Duffy C.M., Horace K.J., Ingram A.M., Isaack K.E., Jeong G., Kiser R.J., Kobylanski J.S., Long M.R., Manning G.A., Morales J.M., Nguyen K.H., Pham R.T., Phillips M.H., Reel T.W., Seo J.E., Vo H.D., Wukoson A.M., Yearly K.A., Zheng G.Y., Lukowitz W. (2023) CRISPR/Cas9 mutagenesis of the Arabidopsis growth-regulating factor (GRF) gene family. *Front. Genome Ed.*, vol. 5, pp. 1251557. <https://doi.org/10.3389/fgeed.2023.1251557>.
2. Bernard G., Gagneul D., Alves Dos Santos H., Etienne A., Hilbert J. L., Rambaud C. (2019) Efficient genome editing using CRISPR/Cas9 technology in chicory. *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, pp. E1155. <https://doi.org/10.3390/ijms20051155>.
3. Bogdanove A.J., Schornack S., Lahaye T. (2010) TAL effectors: finding plant genes for disease and defense. *Curr Opin Plant Biol.*, vol. 13, no 4, pp. 394-401. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.04.010>.
4. Charrier A., Vergne E., Dousset N., Richer A., Petiteau A., Chevreau E. (2019) Efficient targeted mutagenesis in apple and first time edition of pear using the CRISPR-Cas9 system. *Front. Plant Sci.*, vol. 10, no 40. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00040>.
5. Chen Y., Xiang H., Jia L., Yang Q., Zhang J., Jiang J., Zeng W., Deng L., Jin J., Gao Q., Li X. (2023) High-throughput creation of *Nicotiana tabacum* gene-targeted mutants based on CRISPR/Cas9. *Plant Cell Rep.*, vol. 42, pp. 2039-2042. <https://doi.org/10.1007/s00299-023-03050-5>.
6. Chiong K.T., Cody W.B., Scholthof H.B. (2021) RNA silencing suppressor-influenced performance of a virus vector delivering both guide RNA and Cas9 for CRISPR gene editing. *Sci Rep.*, vol. 11, pp. 6769. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85366-4>.
7. Daurova A., Daurov D., Volkov D., Karimov A., Abai Z., Raimbek D., Zhapar K., Zhambakin K., Shamekova M. (2020) Mutagenic treatment of microspore-derived embryos of turnip rape (*Brassica rapa*) to increase oleic acid content. *Plant Breed.*, vol. 139, no 5, pp. 916-922. <https://doi.org/10.1111/pbr.12830>.
8. Daurova A., Daurov D., Zhapar K., Volkov D., Sapakhova Z., Shamekova M., Zhambakin K. (2022) Improvement of breeding-valuable traits of rapeseed (*Brassica napus*) using mutagenesis. *International Journal of Agriculture and Biology*, vol. 28, no 4, pp. 219-227. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1973>.
9. Doudna J.A., Charpentier E. (2014) Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, vol. 28, no 346 (6213), pp. 1258096. <https://doi.org/10.1126/science>.
10. Elsharawy H., Refat M. (2023) CRISPR/Cas9 genome editing in wheat: enhancing quality and productivity for global food security-a review. *Funct Integr Genomics*, vol. 4, no 23(3), pp. 265. <https://doi.org/10.1007/s10142-023-01190-1>.

11. Fernandez-Pozo N., Menda N., Edwards J.D., Saha S., Tecle I.Y., Strickler S.R., Bombarely A., Fisher-York T., Pujar A., Foerster H., Yan A., Mueller L.A. (2015) The sol genomics network (SGN) – from genotype to phenotype to breeding. *Nucleic Acids Research*, vol. 43, pp. D1036-1041. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1195>.
12. Hao L., Yudian D., Yanqing Z., Wenqi J., Kabin X., Ling-Ling C. (2017) CRISPR-P 2.0: An improved CRISPR-Cas9 tool for genome editing in plants. *Mol. Plant.*, vol. 10, no 3, pp. 530-532. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.01.003>.
13. Hou X., Guo X., Zhang Y., Zhang Q. (2023) CRISPR/Cas genome editing system and its application in potato. *Front Genet.*, vol. 13, no 14, pp. 1017388. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1017388>.
14. Jutras P.V., Marusic C., Lonoce C., Deflers C., Goulet M.-C., Benvenuto E., Michaud D., Donini M. (2016) An accessory protease inhibitor to increase the yield and quality of a tumour-targeting mAb in *Nicotiana benthamiana* leaves. *Plos One*, vol. 11, no 11, pp. e0167086. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167086>.
15. Kim Y.G., Cha J., Chandrasegaran S. (1996) Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to Fok I cleavage domain. *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 6, no 93(3), pp. 1156-1160. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.3.1156>.
16. Le N.T., Tran H.T., Bui T.P., Nguyen G.T., Nguyen D.V., Ta D.T., Trinh D.D., Molnar A., Pham N.B., Chu Ha.H., Do P.T. (2022) Simultaneously induced mutations in eIF4E genes by CRISPR/Cas9 enhance PVY resistance in tobacco. *Sci Rep.*, vol. 12, pp. 14627. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18923-0>.
17. Ma C., Zhu C., Zheng M., Liu M., Zhang D., Liu B., Li Q., Si J., Ren X., Song H. (2019) CRISPR/Cas9-mediated multiple gene editing in *Brassica oleracea* var. capitata using the endogenous tRNA-processing system. *Hortic. Res.*, vol. 16, no 20. <https://doi.org/10.1038/s41438-018-0107-1>
18. Ma X., Li X., Li Z. (2023) Transgene-free genome editing in *Nicotiana benthamiana* with CRISPR/Cas9 delivered by a rhabdovirus vector. *Methods Mol Biol.*, vol. 2653, pp. 173-185. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3131-7_11.
19. Mubarik M.S., Khan S.H., Ahmad A., Khan Z., Sajjad M., Khan I.A. (2016) Disruption of phytoene desaturase gene using transient expression of Cas9: gRNA Complex. *International Journal of Agriculture & Biology*, vol. 18, no 5, pp. 990-996. <https://doi.org/10.17957/ijab/15.0199>.
20. Naeem M., Zaman W., Saqib S., Shahzad A., ur Rahman S., Ahmad N. (2024) CRISPR/Cas-mediated genome editing for efficient tomato breeding: past achievements and future directions. *South African Journal of Botany*, vol. 172, pp. 277-288. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.07.038>.
21. Odipto J., Alicai T., Ingelbrecht I., Nusinow D.A., Bart R., Taylor N.J. (2017) Efficient CRISPR/Cas9 genome editing of phytoene desaturase in Cassava. *Front. Plant Sci.*, vol. 8, pp. 1780. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01780>.
22. Pan C., Ye L., Qin L., Liu X., He Y., Wang J., Chen L., Lu G. (2016) CRISPR/Cas9-mediated efficient and heritable targeted mutagenesis in tomato plants in the first and later generations. *Sci. Rep.*, vol. 6, pp. 24765. <https://doi.org/10.1038/srep24765>.
23. Qin G., Gu H., Ma L., Peng Y., Deng X.W., Chen Z., Qu L.J. (2007) Disruption of phytoene desaturase gene results in albino and dwarf phenotypes in Arabidopsis by impairing chlorophyll, carotenoid, and gibberellin biosynthesis. *Cell Res.*, vol. 17, pp. 471-482. <https://doi.org/10.1038/cr.2007.40>.
24. Romero F.M., Gatica-Arias A. (2019) CRISPR/Cas9: Development and application in rice breeding. *Rice Science*, vol. 26, no 5, pp. 265-281. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2019.08.001>.
25. Sayers E.W., Bolton E.E., Brister J.R., Canese K., Chan J., Comeau D.C., Connor R., Funk K., Kelly C., Kim S., Madej T., Marchler-Bauer A., Lanczycki C., Lathrop S., Lu Z., Thibaud-Nissen F., Murphy T., Phan L., Skripchenko Y., Tse T., Wang J., Williams R., Trawick B.W., Pruitt K.D., Sherry S.T. (2022) Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Research*, vol. 50, pp. 20-26. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1112>.
26. Shamekova M., Mendoza M.R., Hsieh Y.C., Lindbo J., Omarov R.T., Scholthof H.B. (2014) Tombusvirus-based vector systems to permit over-expression of genes or that serve as sensors of antiviral RNA silencing in plants. *Virology*, vol. 452, pp. 159-165. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.12.031>.
27. Shan S., Mavrodiev E.V., Li R., Zhang Z., Hauser B.A., Soltis P.S., Soltis D.E., Yang B. (2018) Application of CRISPR/Cas9 to Tragopogon (*Asteraceae*), an evolutionary model for the study of polyploidy. *Mol. Ecol. Resour.*, vol. 18, pp. 1427-1443. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12935>.
28. Wang Y., Tang Q., Pu L., Zhang H., Li X. (2022) CRISPR-Cas technology opens a new era for the creation of novel maize germplasms. *Front. Plant Sci.*, vol. 13, pp. 1049803. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1049803>.
29. Wang Z., Shea Z., Li Q., Wang K., Mills K., Zhang B., Zhao B. (2023) Evaluate the guide RNA effectiveness via Agrobacterium-mediated transient assays in *Nicotiana benthamiana*. *Front. Plant Sci.*, vol. 14, pp. 1111683. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1111683>.
30. Website of Addgene. Available online: <https://www.addgene.org/>. (accessed on 10 September 2023).
31. Wilson F.M., Harrison K., Armitage A.D., Simkin A.J., Harrison R.J. (2019) CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of phytoene desaturase in diploid and octoploid strawberry. *Plant Methods*, vol. 15, pp. 45. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0428-6>.
32. Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T. (2012) Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*, vol. 13, no 134, pp. 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>.
33. Yoshida T., Ishikawa M., Toki S., Ishibashi K. (2024) Heritable tissue-culture-free gene editing in *Nicotiana benthamiana* through viral delivery of SpCas9 and sgRNA. *Plant and Cell Physiology*, vol. 65, no 11, pp. 1743-1750. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcae100>.
34. Zhang K., Raboanatahiry N., Zhu B., Li M. (2017) Progress in genome editing technology and its application in plants. *Frontiers in Plant Science*, vol. 8, no 177. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00177>.

Авторлар туралы мәлімет

Сапахова, Загипа Бейсеновна – PhD, қауымдастырылған профессор, Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының селекция және биотехнология зертханасының жетекші ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан; e-mail: z.sapakhova@ipbb.kz)

Стамғалиева Зухра – PhD докторанты, Хромосома биологиясы зертханасы (проф. Брайан Люк, PhD), Даму және нейробиология институты (IDN), Биорталық I – Йоханнес Гутенберг Университеті (Hanns-Dieter-Hüsch-Weg 15, Майнц, Германия. Z.stamgaliyeva@imb-mainz.de)

Қанат, Рахим – Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының селекция және биотехнология зертханасының лаборанты (Алматы, Қазақстан; e-mail: r.kanat@ipbb.kz)

Дауров, Диас Ламзарович – Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының селекция және биотехнология зертханасының аға ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан; e-mail: d.daurov@ipbb.kz)

Даурова, Айнаш Кененбайқызы – Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының селекция және биотехнология зертханасының аға ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан; e-mail: a.daurova@ipbb.kz)

Жамбакин, Қабыл Жанарович – биология ғылымдарының докторы, профессор, ҚҰ ҰҒА академигі, Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының селекция және биотехнология зертханасының бас ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан; e-mail: k.zhambakin@ipbb.kz)

Шамекова, Малика Хабидулаевна – PhD, Профессор, Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының селекция және биотехнология зертханасының меңгерушісі (Алматы, Қазақстан; e-mail: m.shamekova@ipbb.kz)

Information about authors

Sapakhova, Zagipa – PhD, Associate Professor, Lead Researcher of Breeding and Biotechnology Laboratory, Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan; e-mail: z.sapakhova@ipbb.kz)

Stamgaliyeva Zuhra – PhD student, Chromosome Biology Lab (Prof. Brian Luke, PhD), Institute for Developmental and Neurobiology (IDN), Biocenter I – Johannes-Gutenberg-University (Hanns-Dieter-Hüsch-Weg 15, Mainz, Germany. Z.stamgaliyeva@imb-mainz.de)

Kanat, Rakhim – Laboratory Assistant of Breeding and Biotechnology Laboratory, Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan; e-mail: r.kanat@ipbb.kz)

Daurov, Dias – Senior Researcher of Breeding and Biotechnology Laboratory, Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan; e-mail: d.daurov@ipbb.kz)

Daurova, Ainash – Senior Researcher of Breeding and Biotechnology Laboratory, Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan; e-mail: a.daurova@ipbb.kz)

Zhambakin, Kabyl – Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of NAS of the RK, Chief Researcher of Breeding and Biotechnology Laboratory, Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan; e-mail: k.zhambakin@ipbb.kz)

Shamekova, Malika – PhD, Professor, Head of Breeding and Biotechnology Laboratory, Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan; e-mail: m.shamekova@ipbb.kz)

Келін түсті 24 ақпан 2025 жыл
Қабылданды 20 мамыр 2025 жыл

МРНТИ 34.15.27

<https://doi.org/10.26577/bb202510327>

Б.С. Усербаев* , **К.Т. Султанкулова** , **Б. Н. Жұмаділ** ,
О.В. Червякова , **Г.О. Шыныбекова** , **Н.С. Кожаберженов** 

ТОО Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности,

АО «Национальный холдинг «QazBioPharm», Гвардейский, Казахстан

*e-mail: b.usserbayev@biosafety.kz

РАЗРАБОТКА ПРАЙМЕРОВ, ЗОНДА И ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ COVID-19

Пандемия COVID-19, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2, подчеркнула необходимость быстрой и точной диагностики наличия вируса для эффективного контроля распространения заболевания. ОТ-ПЦР в реальном времени является одним из наиболее чувствительных и специфичных методов выявления РНК вируса. Однако качество и эффективность ОТ-ПЦР напрямую связаны с правильным выбором праймеров и зондов, а высокая точность и надежность связаны с использованием соответствующих контролей. Целью данной работы является разработка праймеров и зондов для диагностики COVID-19, а также создание положительного контрольного образца для тест-системы.

В данной работе применены современные подходы к выбору мишеней для амплификации, которые включают анализ консервативных участков вирусного генома. Также использовали биоинформатические инструменты для подбора праймеров и зондов для выявления вируса SARS-CoV-2. Для создания контрольного образца использовалась синтетическая конструкция, содержащая целевой участок генома вируса, который был успешно клонирован в плазмидный вектор.

В рамках исследования были разработаны праймеры и флуоресцентный зонд, специфичные к консервативным регионам генома вируса SARS-CoV-2, с учетом генетических вариаций вируса. Полученный положительный контроль успешно протестирован в анализе, подтвердив свою эффективность и воспроизводимость.

Разработанные праймеры и зонд для диагностики COVID-19 могут быть использованы для эпидемиологического мониторинга и контроля распространения SARS-CoV-2 с клиническими и диагностическими целями. Разработанный контрольный образец может быть использован для стандартизации диагностики COVID-19, повышая точности и надежности анализов в клинической практике.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, ОТ-ПЦР, праймеры, зонд, положительный контроль.

B.S. Usserbayev*, K.T. Sultankulova, B.N. Zhumadil,
O.V. Chervyakova, G.O. Shynybekova, N.S. Kozhabergenov
Research Institute of Biological Safety Problems LLP, «National Holding QazBioPharm»,
Gvardeisky, Kazakhstan
*e-mail: b.usserbayev@biosafety.kz

Development of primers, probes and positive controls for COVID-19 diagnostics

The COVID-19 pandemic caused by SARS-CoV-2 coronavirus has emphasised the need for rapid and accurate diagnosis to effectively control the spread of the disease. RT-PCR of RT is one of the most sensitive and specific methods for detection of virus RNA. However, the quality and efficiency of RT-PCR are directly related to the proper choice of primers and probes, and high accuracy and reliability are related to the use of controls. The aim of this work is to develop primers and probes for the diagnosis of COVID-19 and to create a positive control sample for the test system.

This work applies modern approaches to the selection of targets for amplification, which include the analysis of conserved regions of the viral genome. Bioinformatics tools were also used to select primers and probes for detection of SARS-CoV-2 virus. A synthetic construct containing target regions of the virus genome was used to create a control sample, which was successfully cloned into a plasmid vector.

As part of the study, primers and a fluorescent probe specific to conserved regions of the SARS-CoV-2 virus genome were designed, taking into account genetic variations in the virus. The resulting positive control was successfully tested in the assay, confirming its efficacy and reproducibility.

The developed primers and probes for SOVID-19 diagnosis can be used for epidemiological monitoring and control of SARS-CoV-2 spread with clinical and diagnostic purposes. The developed control sample can be used to standardise the diagnosis of COVID-19, improving the accuracy and reliability of the assay in clinical practice.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, OT-PCR, primers, probe, positive control.

Б.С. Усербаев*, К.Т. Султанкулова, Б. Н. Жұмаділ,
О.В. Червякова, Г.О. Шыныбекова, Н.С. Кожабергенов

Биологиялық қауіпсіздік мәселелері ғылыми-зерттеу институты
ЖШС «QazBioPharm Ұлттық холдингі», Гвардейский, Қазақстан
*e-mail: b.usserbayev@biosafety.kz

COVID-19 диагностикасы үшін праймерлерді, зондты және оң бақылауды әзірлеу

SARS-CoV-2 коронавирусы тудырған COVID-19 пандемиясы аурудың таралуын тиімді бақылау үшін жылдам және дәл диагноз қою қажеттілігін көрсетті. КТ-ПТР НҰР вирустық РНҚ анықтаудың ең сезімтал және спецификалық әдістерінің бірі болып табылады. Дегенмен, ОТ-ПТР сапасы мен тиімділігі праймерлер мен зондтарды дұрыс таңдауға тікелей байланысты болса, ал жоғары дәлдік пен сенімділік оң бақылауларды пайдаланумен байланысты болады. Осылайша, бұл жұмыстың мақсаты – COVID-19 диагностикасы үшін праймерлер мен зондтарды жобалау, сондай-ақ дәлдік пен сенімділікті қамтамасыз ету үшін оң бақылау үлгісін жасау.

Бұл жұмыста вирустық геномның тұрақы аймақтарын талдауды қамтитын күшейту мақсаттарын таңдаудың заманауи тәсілдерін қолдандық. Сонымен қатар SARS-CoV-2 анықтауға арналған праймерлер мен зондтарды таңдау үшін биоинформатикалық құралдарды қолдандық. Бақылау үлгісін жасау үшін вирус геномының мақсатты аймақтарын қамтитын синтетикалық құрылым қолданылды, ол плазмидтік векторға сәтті клондалды.

Зерттеудің шеңберінде вирустың генетикалық өзгерістерін ескере отырып, SARS-CoV-2 геномының тұрақты аймақтарына тән праймерлер мен флуоресцентті зонд әзірленді. Алынған оң бақылау тиімділігі мен қайталану мүмкіндігін растай отырып, талдауда сәтті сынақтан өтті.

COVID-19 диагностикасы үшін әзірленген праймерлер мен зондтарды клиникалық және диагностикалық мақсаттарда SARS-CoV-2 таралуын эпидемиологиялық бақылау және бақылау үшін пайдалануға болады. Әзірленген бақылау үлгісі клиникалық тәжірибеде сынақтардың дәлдігі мен сенімділігін арттыра отырып, COVID-19 диагнозын стандарттау үшін пайдаланылуы мүмкін.

Түйін сөздер: COVID-19, SARS-CoV-2, КТ-ПЦР, праймер, зонд.

Введение

Острые респираторные заболевания (ОРЗ) представляют собой обширную группу острых инфекционных болезней, вызываемых различными патогенными агентами, такими как вирусы, бактерии, хламидии и микоплазмы [1]. ОРЗ представляет серьезную угрозу человечеству, включая прямое влияние на повседневную жизнь миллионов людей и негативное воздействие на мировую экономику [2, 3]. В настоящее время респираторные инфекции составляют до 90% всех инфекционных заболеваний [4]. Каждый год в мире фиксируется свыше 1 миллиарда случаев острых респираторных заболеваний, что значительно превышает количество пациентов с такими серьезными заболеваниями, как рак, ВИЧ, ишемическая болезнь сердца или малярия [1].

В последнее время возникновение и быстрое распространение нового вида коронавируса

(SARS-CoV-2), который стал значимым представителем ОРЗ, вызвало серьезные опасения в области глобального здравоохранения [5]. Ввиду таких особенностей в марте 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила COVID-19 глобальной пандемией [6, 7]. По данным ВОЗ на 16 февраля 2025 года, SARS-CoV-2 стремительно охватил более 230 стран, где зарегистрировано более 777 млн. подтвержденных случаев заражения, что привело к летальным исходам 7, 089,979 человек [8].

В связи с этим во время COVID-19 оценка распространения вируса среди населения подчеркивает острую необходимость в точном и быстром диагностическом тестировании для клинической практики и общественного здравоохранения [9]. Своевременная и точная диагностика позволяет диагностировать заболевание, следить за распространением вируса, изолировать заболевших и принимать эффективные меры против него, а также играет решающую

роль в борьбе с инфекцией. В основе большинства методов диагностики COVID-19 лежит метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР РВ) [10, 11]. Анализ на основе ОТ-ПЦР для диагностики COVID-19 был впервые разработан в Институте вирусологии Charite в Германии и рекомендован ВОЗ в качестве тест-системы для выявления вируса [7].

Для эффективного проведения ОТ-ПЦР необходимо правильно конструировать праймеры и зонды, которые должны обладать высокой специфичностью и чувствительностью [12]. В последние годы было опубликовано множество исследований [9, 13-18], посвященных к разработкам и оптимизациям ОТ-ПЦР, однако подбор и разработка наиболее эффективных и специфических праймеров и зондов остается актуальной задачей.

Также параллельно с разработками праймеров и зондов ключевое внимание уделяется контрольным образцам, которые необходимы для подтверждения достоверности и воспроизводимости получаемых результатов. Yu B. и соавт. сообщают, что в большинстве исследований на основе ОТ-ПЦР либо отсутствуют контрольные образцы, либо используется ДНК в качестве внутреннего контроля, что не позволяет минимизировать ошибки ОТ-ПЦР, возникающие на этапе обратной транскрипции [19]. Таким образом, разработка праймеров и зондов тесно связано с использованием контрольных образцов, что способствует высокой точности и достоверности диагностики вирусных инфекций.

Целью данной работы является конструирование праймеров и зонда для диагностики COVID-19, а также разработка положительного контрольного образца для тест-системы.

Материалы и методы исследования

Биоматериал

В данной работе в качестве исследуемого объекта был выбран штамм SARS-CoV-2/KZ_Almaty04.2020, который хранится в республиканском депозитарии коллекции микроорганизмов ТОО Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, АО «Национальный холдинг «КазБиоФарм»» [20].

Выделение РНК вирусов

РНК вирусов экстрагировали из материала в условиях лаборатории BSL-3 набором QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany)

в соответствии с инструкцией производителя. Качество и концентрацию полученных РНК вирусов проверяли на флуориметре Qubit 2.0 (Life Technologies, Carlsbad, California, USA) в соответствии с протоколом производителя.

Синтез комплементарной ДНК (кДНК)

Обратную транскрипцию (ОТ) проводили с помощью набора SuperScript VILO cDNA Synthesis Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, USA) в термоциклере Mastercycler X50s при следующих температурных режимах: 25°C в течение 10 мин; 42°C в течение 60 мин; 85°C в течение 5 мин. Реакционный состав и температурно – временные режимы проводили согласно инструкции производителя.

Постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Аmplification проводили на термоциклере Mastercycler X50s (Eppendorf, UK) с использованием набора Platinum SuperFi PCR Master Mix (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, USA) в соответствии с инструкцией производителя. Постановку ПЦР проводили в общем объеме 25 мкл, включая 12,5 мкл 2X Platinum SuperFi Green PCR Master Mix, по 1,25 мкл каждого из 10 мкМ прямого и обратного праймеров, 3 мкл кДНК-матрицы, 5 мкл 5X SuperFi GC Enhancer и воды для ПЦР, чтобы восполнить объем на 25 мкл. Амплификация ПЦР продуктов проведена по следующему температурному режиму: начальная денатурация 95°C-0,5 мин; с последующими 35 циклами амплификации при денатурации 95°C-0,1 мин, отжиге 57°C-0,5 мин, элонгация 72°C-0,5 мин; финальная элонгация 72°C-5 мин.

Конструирование рекомбинантной ДНК плазмиды

Для получения положительного контроля для тест-системы продукты амплификации вируса SARS-CoV-2 клонировали в плазмиду pGEM-T Easy Vector с использованием ферментов рестрикции NcoI и SpeI и T4 ДНК лигазы. Размер плазмидной ДНК без вставки составляет 2988 пар оснований. Полученные лигазные смеси использовали для последующей химической трансформации компетентных клеток Escherichia coli. Отбор колоний, содержащих целевой фрагмент, проведен методом сине-белой селекции. Отобранные клоны перенесены в жидкую среду LB с ампициллином (100 мкг/мл) и инкубированы при 37°C в течение 16 часов. Из полученных культур выделены плазмиды с при-

менением метода щелочного лизиса. Конструкцию контрольного образца (ПКО) проверяли на наличие гена методом ПЦР с применением специфических праймеров, использованных при клонировании. Результаты амплификации ПЦР выявляли с помощью метода гель-электрофореза и гель документирующей системы iBright CL1500 Imaging System (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, USA). Электрофорез проводили при силе тока 400 мА в 2% агарозном геле в буфере TAE (40 мМ трисгидроксиметиламинаметан, 20 мМ ледяная уксусная кислота, 1 мМ ЭДТА), с добавлением SYBR Safe DNA gel stain, Invitrogen. Для оценки молекулярного веса фрагментов использовали маркеры молекулярного веса ДНК на 100 bp «DNA Ladder» фирмы Invitrogen.

Выравнивание последовательностей нуклеотидов

Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей вирусных геномов было выполнено с использованием программного обеспечения Mega 11 по алгоритму ClustalW.

Подбор и анализ специфичности олигонуклеотидных праймеров и зондов

Поиск нуклеотидных последовательностей для подбора специфических праймеров, осуществляли в международной базе данных GenBank NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank>). Проверку специфичности подобранных олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентных зондов, а также их вторичные структуры оценивались с помощью программы BLAST и CLC Genomics Workbench v.12 (QIAGEN).

Синтез праймеров и зондов

Синтез олигонуклеотидных праймеров проводили на автоматическом синтезаторе фирмы K&A Laborgeraete, модели DNA/RNA Synthesizer H-16 (производство Германии), амидофосфитным методом согласно инструкции производителя. В качестве флуорофоров для зондов применен Карбоксифлуоресцеин (FAM) в сочетании с гасителем флуоресценции BHQ1. Синтез зондов производился под заказ в фирме Синтол, Россия.

Постановка ОТ-ПЦР и ОТ-ПЦР в реальном времени

ОТ-ПЦР в режиме реального времени (PB) проводили на амплификаторе QuantStudio 5 Real-Time PCR System, Applied Biosystems,

Thermo Fisher Scientific, USA. Результаты ОТ-ПЦР PB выявляли и анализировали в программном обеспечении QuantStudio Design and Analysis Software v1.5.2.

Результаты амплификации ОТ-ПЦР PB выявляли с помощью метода гель-электрофореза и гель документирующей системы iBright CL1500 Imaging System (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, USA). Электрофорез проводили при силе тока 400 мА в 2% агарозном геле в буфере TAE (40 мМ трисгидроксиметиламинаметан, 20 мМ ледяная уксусная кислота, 1 мМ ЭДТА), с добавлением SYBR Safe DNA gel stain (Invitrogen Thermo Fisher Scientific, USA). Для оценки молекулярного веса фрагментов использовали маркеры молекулярного веса ДНК на 50 bp «DNA Ladder» фирмы Invitrogen.

Результаты исследования и их обсуждение

Подбор праймеров и зонда для диагностики COVID-19

Разработка высокочувствительных и специфичных праймеров и зондов для диагностики COVID-19 требует тщательного изучения структуры SARS-CoV-2 с учетом мутации и генетической изменчивости вируса [9, 21]. В связи с указанными особенностями, при разработке тест-системы важно применять глобальные базы данных (CovidShiny [22], GISAID [23], Pango Linage [24] и Nextrain [25]) касающиеся вируса SARS-CoV-2, а также биоинформатические инструменты (Primer-BLAST [26], Primer3 [27, 28] и CoVrimer [29]) для конструкции праймеров и зондов. Кроме того при разработке праймеров и зондов следует учитывать возможность перекрестной реактивности с другими коронавирусами, такими как SARS-CoV, MERS-CoV, чтобы не получать ложноотрицательные результаты [30, 31].

Для диагностики COVID-19 целевые последовательности для амплификации часто выбирают в консервативных областях генома SARS-CoV-2, таких как гены N (белок нуклеокапсида), E (белок оболочки), RdRp (РНК-зависимая РНК-полимераза) и S (спайковый белок) [7]. Эти гены были выбраны по причине наличия в их последовательностях уникальных фрагментов, что позволяет разработать специфические пары праймеров и зондов для диагностики COVID-19 [9, 32]. Кроме того, Китайский центр по контролю и профилактике заболеваний, Университет Гонконга и Центры по контролю и профилактике

заболеваний США разработали дополнительные протоколы для исследований генов RdRp, E и N. Эти исследования направлены на усовершенствование процесса разработки ОТ-ПЦР РВ, что позволяет повысить точность и надежность диагностики COVID-19 [7]. Среди этих анализов наивысшую аналитическую чувствительность показал RdRp, который обеспечивал обнаружение с вероятностью 95% при наличии 3,8 копий РНК на реакцию [9]. Благодаря своей высокой аналитической чувствительности, ВОЗ рекомендует использовать RdRp в качестве подтверждающего гена для диагностики COVID-19 [33].

Поиск нуклеотидных последовательностей исследованного гена проводили в международной базе данных GenBank NCBI. Для анализа нуклеотидных последовательностей было отобрано 93 изолята коронавируса SARS-CoV-2, SARS-CoV и Bat coronavirus из генетической базы данных GenBank, которые были обнаружены в разных регионах планеты. Эти три вируса демонстрируют высокую степень сходства в своих нуклеотидных последовательностях, превышающую 80%. Номера регистрации изолятов, включённых в данное исследование, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Номера регистрации в базе данных GenBank изолятов коронавируса

Наименование вируса	Идентификационные номера изолятов в базе данных GenBank
SARS-CoV-2	MT192765.1, MT159721.2, MT159714.2, MT159713.2, MT159710.2, MT039873.1, MN996528.1, MN988668.1, MT192772.1, MT184912.1, MT159709.2, MT159707.2, MT118835.1, MT019533.1, MT159722.1, MT159718.1, MT121215.1, MT123290.1, MT066175.1, MN996530.1, MT066156.1, MT093631.2, LC529905.1, MT159720.1, MT027062.1, MN996529.1, MT123291.2, MT135041.1, MN996531.1, MT184908.1, LC528232.1, LR757996.1, MT039887.1, MT123293.2, LR757995.1, MN988713.1, MT163719.1, MT019530.1, MT192759.1, MT106054.1, MT072688.1, MT184911.1, LR757998.1, MT050493.1, MT012098.1, MN996527.1, MN938384.1, MT188340.1, MT188339.1, MT044258.1.
SARS-CoV	AY395003.1, AY394996.1, AY304488.1, AY304486.1, AY394985.1, EU371559.1, AY394994.1, JX163927.1, JX163923.1, JQ316196.1, AY559096.1, AY274119.3, AY394999.1, AY394987.1, AY282752.2, JX163925.1, JX163924.1, EU371560.1, AY395002.1, AY357076.1, GU553365.1, AY338175.1, FJ429166.1, AY461660.1, AY568539.1, HQ890541.1, AY772062.1, FJ882953.1, FJ882962.1.
Bat coronavirus	MN996532.1, MG772933.1, MG772934.1, KF367457.1, MK211378.1, MK211375.1, KY417151.1, JX993988.1, KJ473813.1, KJ473811.1, MK211376.1, KY417146.1, KY417145.1, KY417152.1.

Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программы Mega версии 11. На основе результатов множественного выравнивания, были выявлены участки генов, характерные исключительно для вируса SARS-CoV-2 (Рисунок 1).

Праймеры подбирались таким образом, чтобы они были полностью комплементарны к сайту-мишени, имели температуру плавления в диапазоне 55-60°C, не имели внутренней гомологии более 3 нуклеотидных пар, содержали GC в пределах 45-55% и не образовывали вторичных структур с температурой плавления, равной или превышающей температуру плавления самого праймера [34].

Дизайн разработки праймеров и зондов осуществлялся в соответствии с учетом указанных выше условий. Для проверки использовался модуль CLC Genomic Workbench версии 12. Сконструированные праймеры и зонды были протестированы на специфичность с применением программы BLAST на сайте <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>. На основании проведенных анализов были сконструированы праймеры и зонды для проведения ОТ-ПЦР РВ (Рисунок 2), параметры которых приведены в таблице 2. В качестве флуоресцентных красителей использовали FAM и гасители BHQ-1.



Рисунок 1 – Фрагмент множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей генома Human coronavirus (SARS-CoV-2 и SARS-CoV) и Bat coronavirus

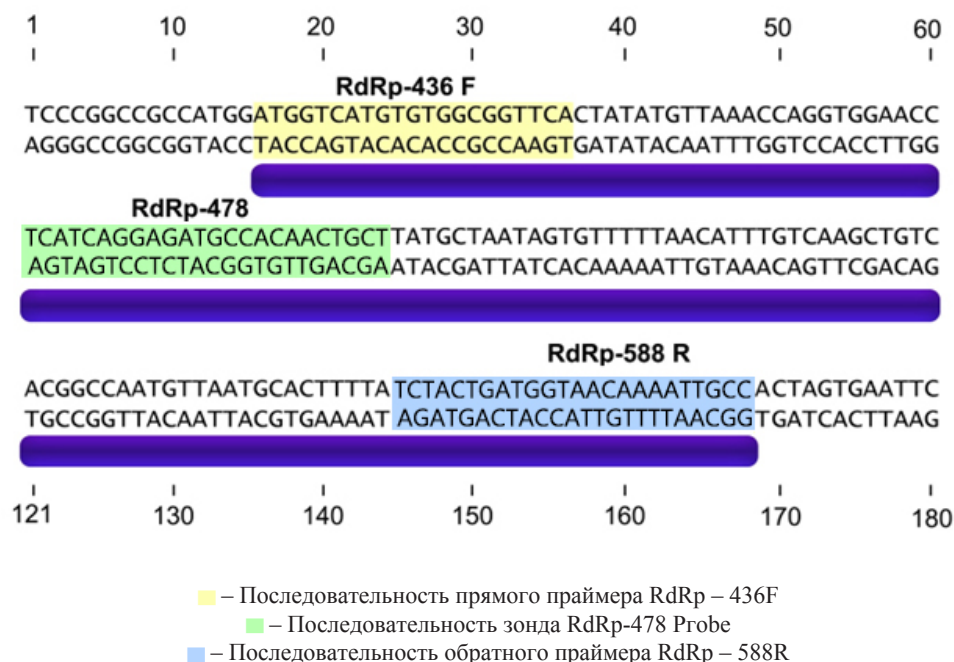


Рисунок 2 – Конструирование праймеров и зонда для диагностики COVID-19

Таблица 2 – Параметры праймеров и зондов

Наименование праймера и зонда	Последовательность 5' – 3'	Tm	GC, %	Размер продукта
RdRp-436 F	ATGGTCATGTGTGGCGGTTC	60	55	152 п.о.
RdRp-478 Probe	FAM-ACCTCATCAGGAGATGCCACAACCTGCT-BHQ-1	70	52	
RdRp-588 R	GGCAATTTTGTACCATCAGTAGA	60	40	

Таким образом, с применением инструмента для дизайна праймеров и зондов были разработаны специфические праймеры и зонд, нацеленные на ген RdRp SARS-CoV-2 (Таблица 2 и Рисунок 2), для амплификации 152 пар оснований (п.о) мишени на консервативный участок гена RdRp.

Получение рекомбинантной плазмиды, содержащий участок гена RdRp вируса SARS-CoV-2.

Система тестирования для массового применения должна соответствовать стандартам безопасности, поэтому применяли положительный контроль, а именно рекомбинантную плазмиду pGEM-T/SARS-CoV-2 tRdRp. Участок гена RdRp SARS-CoV-2 амплифицировали методом ПЦР с применением праймеров содержащих последовательности сайтов рестрикции NcoI и SpeI (Рисунок 3 и Таблица 3), используя кДНК гена полученного из РНК вирусов штаммов SARS-CoV-2/KZ Almaty/04.2020.

Полученные фрагменты ампликонов клонировали в плазмиду pGEM-T Easy Vector с использованием сайтов рестрикции NcoI и SpeI. Полученные лигазные смеси использовали для последующей химической трансформации компетентных клеток *Escherichia coli*. Отбор колоний, содержащий фрагмент RdRp гена вируса SARS-CoV-2, проводили методом сине-белой селекции. Для каждого клона готовили ночную культуру, из которой выделяли плазмидную ДНК методом щелочного лизиса. В результате получили клоны, содержащие участок гена RdRp SARS-CoV-2. Наличие специфического участка ДНК в рекомбинантной плазмиде было проверено с помощью секвенирования по методу Сэнгера. Размер плазмидной ДНК со специфической вставкой составил 3147 пар оснований для положительного контроля вируса SARS-CoV-2. Карта плазмид положительного контроля показаны на рисунке 4. Для отрицательного контроля использовали деионизированную воду.

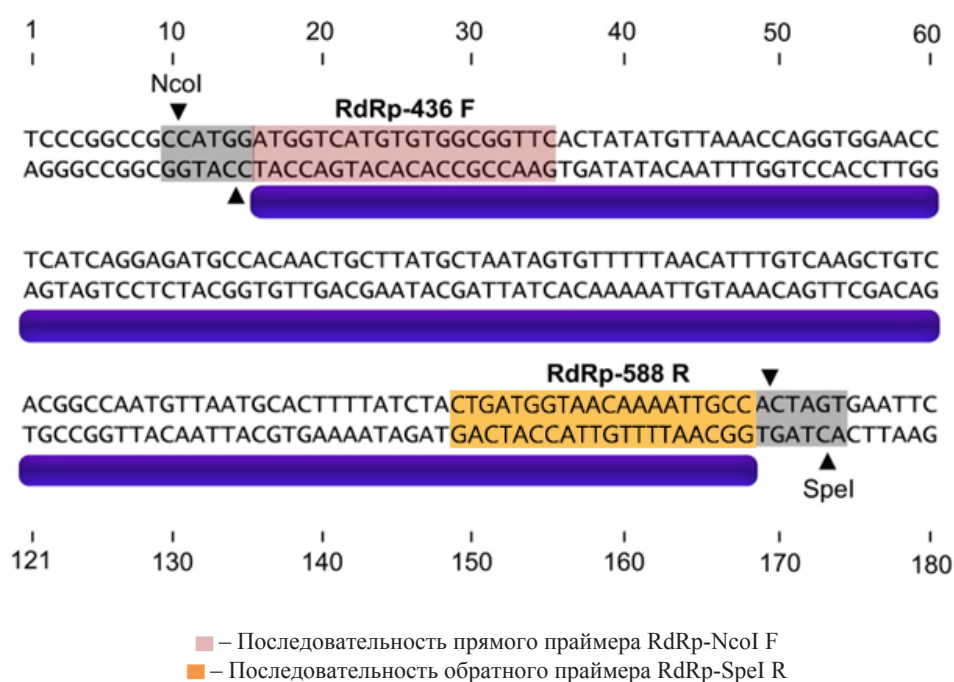
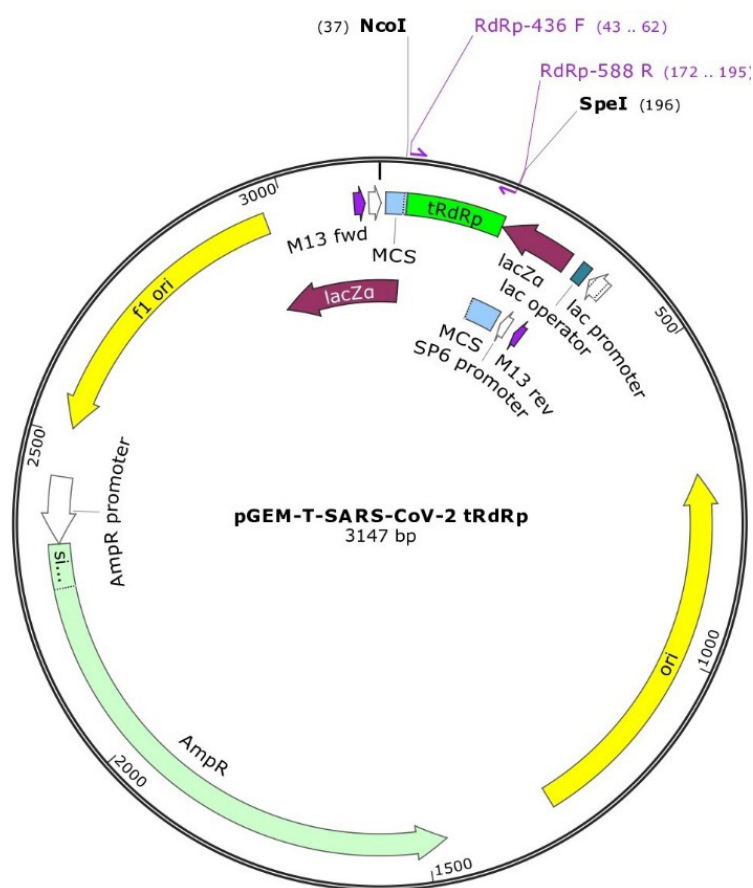


Рисунок 3 – Конструирование праймеров содержащих последовательности сайтов рестрикции NcoI и SpeI для амплификации нуклеотидной последовательности

Таблица 3 – Параметры праймеров содержащих последовательности сайтов рестрикции NcoI и SpeI

Наименование праймера	Последовательность 5' – 3'	Tm	GC, %	Размер продукта	Литература
RdRp-NcoI F	ATTTA CCATGG ATGGTCATGTGTGGCGGT	60	48	176 п.о.	Разработано в этом исследовании
RdRp-SpeI R	GCCGC ACTAGT GGCAATTTTGTTACCATCAG	53	48		

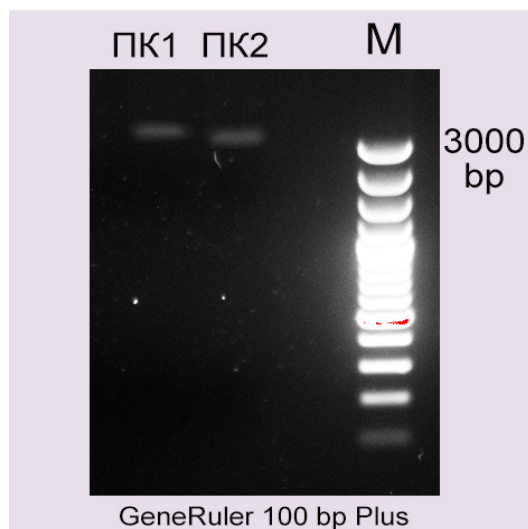


ori- сайт начала репликации, AmpR – ген устойчивости к ампициллину, lacZa-ген репрессора лактозного оперона, SP6 promoter – промотор, SARS-CoV-2 tRdRp – встроенный фрагмент генома SARS-CoV-2

Рисунок 4 – Карта плазмиды pGEM-T/SARS-CoV-2 tRdRp

Полученные конструкции исследовали в 1,5 % агарозном геле в TAE буфере с добавлением SYBR Safe DNA gel stain после линейаризации вектора по NcoI сайту рестрикции. Результаты

электрофоретического анализа показали, что разработанный положительный контроль для SARS-CoV-2 на основе плазмидных ДНК, соответствует своему размеру со вставкой (Рисунок 5)



М – ДНК маркер GeneRuler 100 bp Plus
 ПК1 – Плазменная ДНК со вставкой фрагмента вируса SARS-CoV-2;
 ПК2 – Плазменная ДНК со вставкой фрагмента вируса SARS-CoV-2;
Рисунок 5 – Электрофореграмма сконструированных плазмидных ДНК со специфическими вставками

Проверка работоспособности разработанных праймеров, зонда и положительного контрольного образца

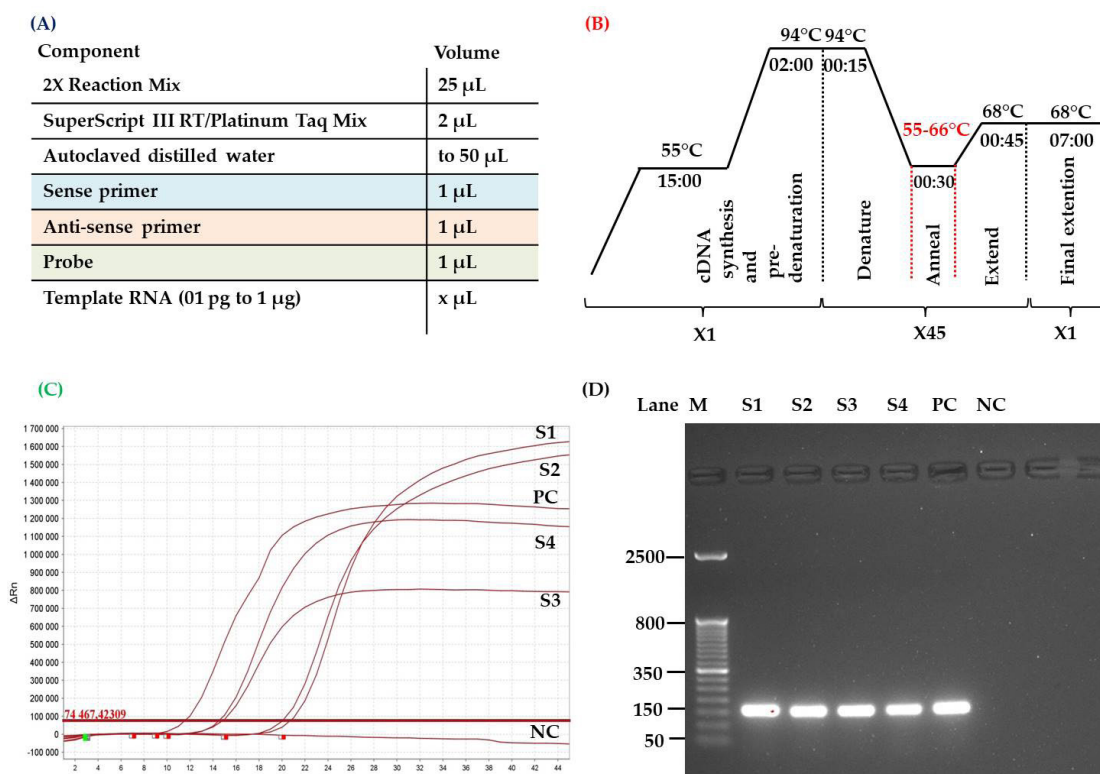
После этого был проведен анализ работоспособности разработанных праймеров, зонда и ПКО для проведения ОТ-ПЦР РВ с целью диагностики COVID-19. Для этого анализа были использованы следующие образцы: SARS-CoV-2/human/KAZ/AST-S396/2023, SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-399/2023, SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-401/2023, SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-406/2023, а также положительный контроль.

В нашей работе были использованы коммерческие наборы для проведения одношагового ОТ-ПЦР SuperScript III One-Step RT-PCR System with Platinum Taq DNA Polymerase (Invitrogen, США). Но согласно протоколу, общее число циклов составляет 40. Однако с целью повышения чувствительности и достоверности анализа в нашей исследовательской работе количество циклов было увеличено до 45. Это позволяет обнаружить вирус в низких концентрациях. При правильной настройке дополнительных циклов к указанному протоколу результаты могут быть более точными и достоверными, что особенно

важно при диагностических и научных исследованиях [35]. ОТ-ПЦР РВ выполнена в соответствии с протоколом производителя, который представлен на рисунке 6.

На основании результатов ОТ-ПЦР РВ, показанных на рисунке 6 (С), можно сделать вывод, что разработанные праймеры (RdRp-436F и RdRp-588R) и зонд (RdRp-478 Probe) демонстрируют высокую точность и надежность, а также готовы к использованию при создании тест-системы для диагностики COVID-19. Результаты ОТ-ПЦР РВ показали, что набор праймеров и флуоресцентный зонд успешно сработали для положительного контроля, при этом значение C_t (11.582) было самым низким по сравнению с другими исследованными образцами. Этот результат показал, что ПКО может быть использован для дальнейших исследований и создания тест-систем.

Рисунок 6 (D) демонстрирует, что в результате ОТ-ПЦР с использованием праймеров RdRp-436F и RdRp-588R были получены ПЦР продукты с ожидаемым размером 152 пар оснований. Полученные результаты показывают высокую точность и эффективность разработанных олигонуклеотидных праймеров для диагностики COVID-19.



А) Реакционный состав ОТ-ПЦР РВ; В) Температурно – временные режимы ОТ-ПЦР РВ; С) Определение работоспособности праймеров и зонда; D) – Электрофоретический анализ ПЦР амплификации с использованием праймеров RdRp-436F и RdRp-588R; № S1 – образец РНК вируса SARS-CoV-2/human/KAZ/AST-S396/2023; №2 – образец РНК вируса SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-399/2023; №3 – образец РНК вируса SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-401/2023; №4 – образец РНК вируса SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-406/2023; PC – положительный контроль; NC – отрицательный контроль

Рисунок 6 – Протокол реакционный состав и температурно – временные режимы ОТ-ПЦР РВ, а также определения работоспособности праймеров и зонда для диагностики COVID-19

Заключение

Глобальная пандемия COVID-19 потребовала разработки надежных и чувствительных методов диагностики и тест-систем для оценки и выявления распространения вируса. При этом надежность и чувствительность предлагаемых тест-систем и анализов напрямую связаны с качеством разработанных праймеров и контрольных образцов. Если полученные праймеры не соответствуют общепринятым требованиям, а низкая чувствительность и специфичность могут привести к ложноотрицательным или ложноположительным результатам, отсутствие разработанного положительного контроля затрудняет сравнение различных анализов. Поэтому при разработке клинко-диагностических тест-систем высокое качество разрабатываемых праймеров и наличие положительного контроля

являются одними из основных требований и задач, предъявляемых к тест-системам.

По указанным выше причинам по результатам исследования были сделаны следующие выводы:

1. В ходе исследования с учетом генетических вариаций вируса были разработаны праймеры (RdRp-436F и RdRp-588R) и флуоресцентный зонд (зонд RdRp-478), специфичные к консервативным участкам гена RdRp вируса SARS-CoV-2.

2. Для стандартизации тест-систем был создан синтетический положительный контроль на основе плазмидных конструкций, содержащих участки целевых генов SARS-CoV-2. ПКО позволяет не только повысить точность и подтвердить диагностики, но и стандартизировать процесс тестирования на всех этапах: от выделения РНК до амплификации.

Конфликт интересов

Все авторы прочитали и ознакомлены с содержанием статьи и не имеют конфликта интересов.

Источник финансирования

Исследование было проведено в рамках реализации инициативного проекта ТОО НИИПБ АО «Национальный холдинг «QazBioPharm», государственный регистрационный номер 0120РКИ0089.

Литература

1. Припутневич Т.В., Гордеев А.Б., Гончарук О.Д., Чубаров В.В., Трофимов Д.Ю., Быстрицкий А.А., Донников А.Е. “Опыт разработки и использования новой тест-системы для скрининга и диагностики инфекций, вызывающих острые респираторные заболевания.” *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика* 21, №3 (2022): 72-79. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-3-72-79>
2. Rudan I, O'Brien KL, Nair H, Liu L, Theodoratou E, Qazi S, Lukšić I, Fischer Walker CL, Black RE, Campbell H; “Child Health Epidemiology Reference Group (CHERG). Epidemiology and etiology of childhood pneumonia in 2010: estimates of incidence, severe morbidity, mortality, underlying risk factors and causative pathogens for 192 countries.” *J Glob Health* 3, no. 1 (2013): doi: 10.7189/jogh.03.010401.
3. Припутневич Т.В., Ачкасова Е.Н., Чубаров В.В., Гордеев А.Б. “Острые респираторные заболевания и грипп в современном акушерстве: эпидемиологические особенности и проблемы диагностики: обзор литературы.” *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика* 18, №3 (2019): 89-97. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-3-89-97>
4. Орлова НВ, Суранова ТГ. “Острые респираторные заболевания: особенности течения, медикаментозная терапия.” *Медицинский Совет* 15, (2018): 82-88. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-15-82-88>
6. Ayittey F.K., Ayittey M.K., Chiwero N.B., Kamasah J.S., Dzuovor C. “Economic impacts of Wuhan 2019-nCoV on China and the world.” *J Med Virol.* (2020). <https://doi.org/10.1002/jmv.25706>
7. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 16 March 2020. <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---16-march-2020>
8. Chung YS, Lee NJ, Woo SH, Kim JM, Kim HM, Jo HJ, Park YE, Han MG. “Validation of real-time RT-PCR for detection of SARS-CoV-2 in the early stages of the COVID-19 outbreak in the Republic of Korea.” *Sci Rep* 11, no 1 (2021): 14817. doi: 10.1038/s41598-021-94196-3
9. COVID-19 Cases, World. WHO COVID-19 dashboard. <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?m49=001&n=o>
10. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, Bleicker T, Brünink S, Schneider J, Schmidt ML, Mulders DG, Haagmans BL, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, Goderski G, Romette JL, Ellis J, Zambon M, Peiris M, Goossens H, Reusken C, Koopmans MP, Drosten C. “Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR.” *Euro Surveill* 25, no 3 (2020): 2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
11. Vogels CBF, Brito AF, Wyllie AL, Fauver JR, Ott IM, Kalinich CC, Petrone ME, Casanovas-Massana A, Catherine Muenker M, Moore AJ, Klein J, Lu P, Lu-Culligan A, Jiang X, Kim DJ, Kudo E, Mao T, Moriyama M, Oh JE, Park A, Silva J, Song E, Takahashi T, Taura M, Tokuyama M, Venkataraman A, Weizman OE, Wong P, Yang Y, Cheemarla NR, White EB, Lapidus S, Earnest R, Geng B, Vijayakumar P, Odio C, Fournier J, Bermejo S, Farhadian S, Dela Cruz CS, Iwasaki A, Ko AI, Landry ML, Foxman EF, Grubaugh ND. “Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT-qPCR primer-probe sets”. *Nat Microbiol* 5, no 10 (2020): 1299-1305. doi: 10.1038/s41564-020-0761-6.
12. Corman VM, Rasche A, Baronti C, Aldabbagh S, Cadar D, Reusken CB, Pas SD, Goorhuis A, Schinkel J, Molenkamp R, Kümmerer BM, Bleicker T, Brünink S, Eschbach-Bludau M, Eis-Hübinger AM, Koopmans MP, Schmidt-Chanasit J, Grobusch MP, de Lamballerie X, Drosten C, Drexler JF. “Assay optimization for molecular detection of Zika virus.” *Bull World Health Organ* 94, no 12 (2016): 880-892. doi: 10.2471/BLT.16.175950.
13. Anahtar MN, Shaw B, Slater D, Byrne E, Botti-Lodovico Y, Adams G, Schaffner S, Eversley J, McGrath G, Gogakos T, Lennerz J, Desai Marble H, Ritterhouse LL, Batten J, Georgantas NZ, Pellerin R, Signorelli S, Thierauf J, Kemball M, Happi C, Grant DS, Ndiaye D, Siddle KJ, Mehta SB, Harris J, Ryan ET, Pierce V, LaRocque R, Lemieux JE, Sabeti P, Rosenberg E, Branda J, Turbett SE. “Development of a qualitative real-time RT-PCR assay for the detection of SARS-CoV-2: A guide and case study in setting up an emergency-use, laboratory-developed molecular assay. medRxiv [Preprint]. 2020 Sep 1:2020.08.26.20157297. doi: 10.1101/2020.08.26.20157297. Update in.” *Clin Pathol.* 74, no 8 (2021): 496-503. doi: 10.1136/jclinpath-2020-207128
14. Dorlass EG, Monteiro CO, Viana AO, Soares CP, Machado RRG, Thomazelli LM, Araujo DB, Leal FB, Candido ED, Telezynski BL, Valério CA, Chalup VN, Mello R, Almeida FJ, Aguiar AS, Barrientos ACM, Sucupira C, De Paulis M, Sáfiadi MAP, Silva DGBP, Sodré JJM, Soledade MP, Matos SF, Ferreira SR, Pinez CMN, Buonafina CP, Pieroni LNF, Malta FM, Santana RAF, Souza EC, Fock RA, Pinho JRR, Ferreira LCS, Botosso VF, Durigon EL, Oliveira DBL. “Lower cost alternatives for molecular diagnosis of COVID-19: conventional RT-PCR and SYBR Green-based RT-qPCR.” *Braz J Microbiol* 51, no.3 (2020): 1117-1123. doi: 10.1007/s42770-020-00347-5.
15. Bhadra S, Riedel TE, Lakhota S, Tran ND, Ellington AD. “High-Surety Isothermal Amplification and Detection of SARS-CoV-2.” *mSphere* 6, no.3 (2021): e00911-20. doi: 10.1128/mSphere.00911-20
16. Lamb LE, Bartolone SN, Ward E, Chancellor MB. “Rapid detection of novel coronavirus/Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification.” *PLoS One* 15, no.6 (2020): e0234682. doi: 10.1371/journal.pone.0234682
17. Jiang M, Pan W, Arasthfer A, Fang W, Ling L, Fang H, Daneshnia F, Yu J, Liao W, Pei H, Li X, Lass-Flörl C. “Development and Validation of a Rapid, Single-Step Reverse Transcriptase Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) System

Potentially to Be Used for Reliable and High-Throughput Screening of COVID-19." *Front Cell Infect Microbiol* 10, (2020): 331. doi: 10.3389/fcimb.2020.00331

18. Xue G, Li S, Zhang W, Du B, Cui J, Yan C, Huang L, Chen L, Zhao L, Sun Y, Li N, Zhao H, Feng Y, Wang Z, Liu S, Zhang Q, Xie X, Liu D, Yao H, Yuan J. "Reverse-Transcription Recombinase-Aided Amplification Assay for Rapid Detection of the 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2)." *Anal Chem* 92, no.14 (2020): 9699-9705. doi: 10.1021/acs.analchem.0c01032

19. Wu T, Ge Y, Zhao K, Zhu X, Chen Y, Wu B, Zhu F, Zhu B, Cui L. "A reverse-transcription recombinase-aided amplification assay for the rapid detection of N gene of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2(SARS-CoV-2)." *Virology* 549, (2020): 1-4. doi: 10.1016/j.virol.2020.07.006

20. Yu B, Xu C, Huang S, Ni J, Zhou J, Zhang y, Wu M, Zhang J, Fang L. "Development of a universal real-time RT-PCR assay for detection of pan-SARS-coronaviruses with an RNA-based internal control." *Front Microbiol* 14.1181097, (2023). doi: 10.3389/fmicb.2023.1181097

21. Kutumbetov L., Orynbaev M., Zakarya K., Kerimbayev A., Zhugunissov K., Sultankulova K., et al. (2020). The strain "SARS-CoV-2/KZ_Altay/04.2020" of the coronavirus infection COVID-19, used for the preparation of specific prophylaxis, laboratory diagnostics and evaluation of the effectiveness of biological protection of vaccines against coronavirus infection COVID-19. Patent 2020:34762

22. Wang R, Hozumi Y, Yin C, Wei GW. "Mutations on COVID-19 diagnostic targets." *Genomics* 112, no. 6 (2020): 5204-5213. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.09.028.

23. Ma S, Xiao G, Deng X, Tong M, Huang J, Li Q, Zhang Y. "CovidShiny: An Integrated Web Tool for SARS-CoV-2 Mutation Profiling and Molecular Diagnosis Assay Evaluation In Silico." *Viruses* 15, no.10 (2023). doi: 10.3390/v15102017

24. Khare S, Gurry C, Freitas L, Schultz MB, Bach G, Diallo A, Akite N, Ho J, Lee RT, Yeo W, Curation Team GC, Maurer-Stroh S. "GISAID's Role in Pandemic Response." *China CDC Wkly* 3, no.49 (2021): 1049-1051. doi: 10.46234/ccdcw2021.255.

25. O'Toole Á, Pybus OG, Abram ME, Kelly EJ, Rambaut A. "Pango lineage designation and assignment using SARS-CoV-2 spike gene nucleotide sequences." *BMC Genomics* 23, no.1 (2022): 121. doi: 10.1186/s12864-022-08358-2

26. Hadfield J, Megill C, Bell SM, Huddleston J, Potter B, Callender C, Sagulenko P, Bedford T, Neher RA. "Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution." *Bioinformatics* 34, no. 23 (2018): 4121-4123. doi: 10.1093/bioinformatics/bty407

27. Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden TL. "Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction." *BMC Bioinformatics* 13, (2012):134. doi: 10.1186/1471-2105-13-134.

28. Untergasser A, Nijveen H, Rao X, Bisseling T, Geurts R, Leunissen JA. "Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3." *Nucleic Acids Res* 35, (2007): W71-4. doi: 10.1093/nar/gkm306.

29. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, Rozen SG. "Primer3--new capabilities and interfaces." *Nucleic Acids Res* 40, no.15 (2012): e115. doi: 10.1093/nar/gks596.

30. Vural-Ozdeniz M, Akturk A, Demirdizen M, Leka R, Acar R, Konu O. "CoVrimer: A tool for aligning SARS-CoV-2 primer sequences and selection of conserved/degenerate primers." *Genomics* 113, no.5 (2021): 3174-3184. doi: 10.1016/j.ygeno.2021.07.020.

31. Nascimento Junior JAC, Santos AM, Oliveira AMS, Guimarães AG, Quintans-Júnior LJ, Coutinho HDM, Martins N, Borges LP, Serafini MR. "Trends in MERS-CoV, SARS-CoV, and SARS-CoV-2 (COVID-19) Diagnosis Strategies: A Patent Review." *Front Public Health* 8, (2020): 563095. doi: 10.3389/fpubh.2020

32. Chan JF, Yip CC, To KK, Tang TH, Wong SC, Leung KH, Fung AY, Ng AC, Zou Z, Tsoi HW, Choi GK, Tam AR, Cheng VC, Chan KH, Tsang OT, Yuen KY. "Improved Molecular Diagnosis of COVID-19 by the Novel, Highly Sensitive and Specific COVID-19-RdRp/HeL Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay Validated In Vitro and with Clinical Specimens." *J Clin Microbiol* 58, no.5 (2020): e00310-20. doi: 10.1128/JCM.00310-20

33. Zhou Y, Zhang L, Xie YH, Wu J. "Advancements in detection of SARS-CoV-2 infection for confronting COVID-19 pandemics." *Lab Invest* 102, no.1 (2022): P. 4-13. doi: 10.1038/s41374-021-00663-w

34. Victor Corman, Tobias Bleicker, Sebastian Brünink, Christian Drosten, Olfert Landt, Marion Koopmans, Maria Zambon. Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf> (дата обращения: 12.03.2025)

35. Н.С. Кожабегенов, А.И. Тагайев, М.Р. Абаева, К.Т. Султанкулова, Е.О. Абдураимов, А.К. Наханов, К.Д. Закарья. "Разработка тест-системы для диагностики вируса нодулярного дерматита КРС на основе метода ПЦР в режиме реального времени." *БИОКАУПСІЗДІК ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ* 8, (2021): 31 – 40.

36. Чемерис А.В., Чемерис Д.А., Магданов Э.Г., Гарафутдинов Р.Р., Нагаев Н.Р., Вахитов В.А. "Причины ложно-негативной пцр и недопущение некоторых из них." *Биомика* 4, №1 (2012): 31-47

References

1. Pripitnevich T.V., Gordeev A.B., Goncharuk O.D., Chubarov V.V., Trofimov D.Yu., Bystritsky A.A., Donnikov A.E. "Experience in developing a new test system for screening and diagnosis of infections that cause acute respiratory diseases, and its use." *Epidemiology and Vaccinal Prevention* 21, no.3. (2022): 72-79. (In Russ.) <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-3-72-79>

2. Rudan I, O'Brien KL, Nair H, Liu L, Theodoratou E, Qazi S, Lukšić I, Fischer Walker CL, Black RE, Campbell H; "Child Health Epidemiology Reference Group (CHERG). Epidemiology and etiology of childhood pneumonia in 2010: estimates of incidence, severe morbidity, mortality, underlying risk factors and causative pathogens for 192 countries." *J Glob Health* 3, no. 1 (2013): doi: 10.7189/jogh.03.010401.

3. Pripitnevich T.V., Achkasova E.N., Chubarov V.V., Gordeev A.B. "Acute Respiratory Diseases and Influenza in Modern Obstetrics: Epidemiological Features and Diagnostic Problems: Literature Review." *Epidemiology and Vaccinal Prevention* 18, no.3 (2019): 89-97. (In Russ.) <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-3-89-97>

4. Orlova NV, Suranova TG. "Acute respiratory diseases: progression features, pharmaceutical therapy." *Meditsinskiy sovet = Medical Council* 15, (2018): 82-88. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-15-82-88>

6. Ayittey F.K., Ayittey M.K., Chiwero N.B., Kamasah J.S., Dzuovor C. "Economic impacts of Wuhan 2019-nCoV on China and the world." *J Med Virol.* (2020). <https://doi.org/10.1002/jmv.25706>
7. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 16 March 2020. <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---16-march-2020>
8. Chung YS, Lee NJ, Woo SH, Kim JM, Kim HM, Jo HJ, Park YE, Han MG. "Validation of real-time RT-PCR for detection of SARS-CoV-2 in the early stages of the COVID-19 outbreak in the Republic of Korea." *Sci Rep* 11, no 1 (2021): 14817. doi: 10.1038/s41598-021-94196-3
9. COVID-19 Cases, World. WHO COVID-19 dashboard. <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?m49=001&n=o>
10. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, Bleicker T, Brünink S, Schneider J, Schmidt ML, Mulders DG, Haagmans BL, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, Goderski G, Romette JL, Ellis J, Zambon M, Peiris M, Goossens H, Reusken C, Koopmans MP, Drosten C. "Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR." *Euro Surveill* 25, no 3 (2020): 2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
11. Vogels CBF, Brito AF, Wyllie AL, Fauver JR, Ott IM, Kalinich CC, Petrone ME, Casanovas-Massana A, Catherine Muenker M, Moore AJ, Klein J, Lu P, Lu-Culligan A, Jiang X, Kim DJ, Kudo E, Mao T, Moriyama M, Oh JE, Park A, Silva J, Song E, Takahashi T, Taura M, Tokuyama M, Venkataraman A, Weizman OE, Wong P, Yang Y, Cheemarla NR, White EB, Lapidus S, Earnest R, Geng B, Vijayakumar P, Odio C, Fournier J, Bermejo S, Farhadian S, Dela Cruz CS, Iwasaki A, Ko AI, Landry ML, Foxman EF, Grubaugh ND. "Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT-qPCR primer-probe sets". *Nat Microbiol* 5, no 10 (2020): 1299-1305. doi: 10.1038/s41564-020-0761-6.
12. Corman VM, Rasche A, Baronti C, Aldabbagh S, Cadar D, Reusken CB, Pas SD, Goorhuis A, Schinkel J, Molenkamp R, Kümmerer BM, Bleicker T, Brünink S, Eschbach-Bludau M, Eis-Hübingen AM, Koopmans MP, Schmidt-Chanasit J, Grobusch MP, de Lamballerie X, Drosten C, Drexler JF. "Assay optimization for molecular detection of Zika virus." *Bull World Health Organ* 94, no 12 (2016): 880-892. doi: 10.2471/BLT.16.175950.
13. Anahtar MN, Shaw B, Slater D, Byrne E, Botti-Lodovico Y, Adams G, Schaffner S, Eversley J, McGrath G, Gogakos T, Lennerz J, Desai Marble H, Ritterhouse LL, Batten J, Georgantas NZ, Pellerin R, Signorelli S, Thierauf J, Kembal M, Happi C, Grant DS, Ndiaye D, Siddle KJ, Mehta SB, Harris J, Ryan ET, Pierce V, LaRocque R, Lemieux JE, Sabeti P, Rosenberg E, Branda J, Turbett SE. "Development of a qualitative real-time RT-PCR assay for the detection of SARS-CoV-2: A guide and case study in setting up an emergency-use, laboratory-developed molecular assay. medRxiv [Preprint]. 2020 Sep 1:2020.08.26.20157297. doi: 10.1101/2020.08.26.20157297. Update in." *Clin Pathol.* 74, no 8 (2021): 496-503. doi: 10.1136/jclinpath-2020-207128
14. Dorlass EG, Monteiro CO, Viana AO, Soares CP, Machado RRG, Thomazelli LM, Araujo DB, Leal FB, Candido ED, Telezynski BL, Valério CA, Chalup VN, Mello R, Almeida FJ, Aguiar AS, Barrientos ACM, Sucupira C, De Paulis M, Sáfiadi MAP, Silva DGBP, Sodré JJM, Soledade MP, Matos SF, Ferreira SR, Pinez CMN, Buonavina CP, Pieroni LNF, Malta FM, Santana RAF, Souza EC, Fock RA, Pinho JRR, Ferreira LCS, Botosso VF, Durigon EL, Oliveira DBL. "Lower cost alternatives for molecular diagnosis of COVID-19: conventional RT-PCR and SYBR Green-based RT-qPCR." *Braz J Microbiol* 51, no.3 (2020): 1117-1123. doi: 10.1007/s42770-020-00347-5.
15. Bhadra S, Riedel TE, Lakhota S, Tran ND, Ellington AD. "High-Surety Isothermal Amplification and Detection of SARS-CoV-2." *mSphere* 6, no.3 (2021): e00911-20. doi: 10.1128/mSphere.00911-20
16. Lamb LE, Bartolone SN, Ward E, Chancellor MB. "Rapid detection of novel coronavirus/Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification." *PLoS One* 15, no.6 (2020): e0234682. doi: 10.1371/journal.pone.0234682
17. Jiang M, Pan W, Arasthfer A, Fang W, Ling L, Fang H, Daneshnia F, Yu J, Liao W, Pei H, Li X, Lass-Flörl C. "Development and Validation of a Rapid, Single-Step Reverse Transcriptase Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) System Potentially to Be Used for Reliable and High-Throughput Screening of COVID-19." *Front Cell Infect Microbiol* 10, (2020): 331. doi: 10.3389/fcimb.2020.00331
18. Xue G, Li S, Zhang W, Du B, Cui J, Yan C, Huang L, Chen L, Zhao L, Sun Y, Li N, Zhao H, Feng Y, Wang Z, Liu S, Zhang Q, Xie X, Liu D, Yao H, Yuan J. "Reverse-Transcription Recombinase-Aided Amplification Assay for Rapid Detection of the 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2)." *Anal Chem* 92, no.14 (2020): 9699-9705. doi: 10.1021/acs.analchem.0c01032
19. Wu T, Ge Y, Zhao K, Zhu X, Chen Y, Wu B, Zhu F, Zhu B, Cui L. "A reverse-transcription recombinase-aided amplification assay for the rapid detection of N gene of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2(SARS-CoV-2)." *Virology* 549, (2020): 1-4. doi: 10.1016/j.virol.2020.07.006
20. Yu B, Xu C, Huang S, Ni J, Zhou J, Zhang y, Wu M, Zhang J, Fang L. "Development of a universal real-time RT-PCR assay for detection of pan-SARS-coronaviruses with an RNA-based internal control." *Front Microbiol* 14.1181097, (2023). doi: 10.3389/fmicb.2023.1181097
21. Kutumbetov L., Orynbaev M., Zakarya K., Kerimbayev A., Zhugunissov K., Sultankulova K., et al. (2020). The strain "SARS-CoV-2/KZ_Almalyk/04.2020" of the coronavirus infection COVID-19, used for the preparation of specific prophylaxis, laboratory diagnostics and evaluation of the effectiveness of biological protection of vaccines against coronavirus infection COVID-19. Patent 2020:34762
22. Wang R, Hozumi Y, Yin C, Wei GW. "Mutations on COVID-19 diagnostic targets." *Genomics* 112, no. 6 (2020): 5204-5213. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.09.028.
23. Ma S, Xiao G, Deng X, Tong M, Huang J, Li Q, Zhang Y. "CovidShiny: An Integrated Web Tool for SARS-CoV-2 Mutation Profiling and Molecular Diagnosis Assay Evaluation In Silico." *Viruses* 15, no.10 (2023). doi: 10.3390/v15102017
24. Khare S, Gurry C, Freitas L, Schultz MB, Bach G, Diallo A, Akite N, Ho J, Lee RT, Yeo W, Curation Team GC, Maurer-Stroh S. "GISAID's Role in Pandemic Response." *China CDC Wkly* 3, no.49 (2021): 1049-1051. doi: 10.46234/ccdcw2021.255.
25. O'Toole A, Pybus OG, Abram ME, Kelly EJ, Rambaut A. "Pango lineage designation and assignment using SARS-CoV-2 spike gene nucleotide sequences." *BMC Genomics* 23, no.1 (2022): 121. doi: 10.1186/s12864-022-08358-2
26. Hadfield J, Megill C, Bell SM, Huddleston J, Potter B, Callender C, Sagulenko P, Bedford T, Neher RA. "Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution." *Bioinformatics* 34, no. 23 (2018): 4121-4123. doi: 10.1093/bioinformatics/bty407

27. Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden TL. "Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction." *BMC Bioinformatics* 13, (2012):134. doi: 10.1186/1471-2105-13-134.
28. Untergasser A, Nijveen H, Rao X, Bisseling T, Geurts R, Leunissen JA. "Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3." *Nucleic Acids Res* 35, (2007): W71-4. doi: 10.1093/nar/gkm306.
29. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, Rozen SG. "Primer3--new capabilities and interfaces." *Nucleic Acids Res* 40, no.15 (2012): e115. doi: 10.1093/nar/gks596.
30. Vural-Ozdeniz M, Akturk A, Demirdizen M, Leka R, Acar R, Konu O. "CoVrimer: A tool for aligning SARS-CoV-2 primer sequences and selection of conserved/degenerate primers." *Genomics* 113, no.5 (2021): 3174-3184. doi: 10.1016/j.ygeno.2021.07.020.
31. Nascimento Junior JAC, Santos AM, Oliveira AMS, Guimarães AG, Quintans-Júnior LJ, Coutinho HDM, Martins N, Borges LP, Serafini MR. "Trends in MERS-CoV, SARS-CoV, and SARS-CoV-2 (COVID-19) Diagnosis Strategies: A Patent Review." *Front Public Health* 8, (2020): 563095. doi: 10.3389/fpubh.2020
32. Chan JF, Yip CC, To KK, Tang TH, Wong SC, Leung KH, Fung AY, Ng AC, Zou Z, Tsoi HW, Choi GK, Tam AR, Cheng VC, Chan KH, Tsang OT, Yuen KY. "Improved Molecular Diagnosis of COVID-19 by the Novel, Highly Sensitive and Specific COVID-19-RdRp/Hel Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay Validated In Vitro and with Clinical Specimens." *J Clin Microbiol* 58, no.5 (2020): e00310-20. doi: 10.1128/JCM.00310-20
33. Zhou Y, Zhang L, Xie YH, Wu J. "Advancements in detection of SARS-CoV-2 infection for confronting COVID-19 pandemics." *Lab Invest* 102, no.1 (2022): P. 4-13. doi: 10.1038/s41374-021-00663-w
34. Victor Corman, Tobias Bleicker, Sebastian Brünink, Christian Drosten, Olfert Landt, Marion Koopmans, Maria Zambon. Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf> (date of access: 12.03.2025)
35. N.S. Kozhabergenov, A.I. Tagayev, M.R. Abayeva, K.T. Sultankulova, E.O. Abduraimov, A.K. Nakhanov, K.D. Zakarya. "Development of a test system for diagnosis of cattle nodular dermatitis virus based on real-time PCR method." *BIOKAUIPSIZDIK ZHANE BIOTECHNOLOGY* 8, (2021): 31 – 40. (In Russ.)
36. Chemeris A.V., Chemeris D.A., Magdanov E.G., Garafutdinov R.R., Nagaev N.R., Vakhitov V.A. "Causes of false-negative pcr and avoidance of some of them." *Biomics* 4, no. 1 (2012): 31-47. (In Russ.)

Информация об авторах:

Усербаев Бекболат Сабитулы (корреспондентный автор) – научный сотрудник лаборатории коллективного пользования ТОО НИИПББ, АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» (пгм. Гвардейский, Казахстан, b.userbayev@biosafety.kz).

Султанкулова Куляйсан Турлыбаевна – кандидат биологических наук, профессор, заведующая лабораторией молекулярной биологии и генной инженерии ТОО НИИПББ, АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» (пгм. Гвардейский, Казахстан, k.sultankulova@biosafety.kz).

Жұмаділ Балнур Нурболқызы – старший лаборант лаборатории коллективного пользования ТОО НИИПББ, АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» (пгм. Гвардейский, Казахстан, b.zhumadil@biosafety.kz).

Червякова Ольга Викторовна – заместитель генерального директора по науке и коммерциализации, кандидат биологических наук, профессор, ТОО НИИПББ, АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» (пгм. Гвардейский, Казахстан, o.chervyakova@biosafety.kz).

Шыныбекова Гаухар Орынбековна – старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и генной инженерии ТОО НИИПББ, АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» (пгм. Гвардейский, Казахстан, g.shynybekova@biosafety.kz).

Кожабергенов Нурлан Сиязбекович – заведующий лабораторией коллективного пользования ТОО НИИПББ, АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» (пгм. Гвардейский, Казахстан, n.kozhabergenov@biosafety.kz).

Information about authors:

Userbayev Bekbolat Sabituly (corresponding author) – researcher at the Laboratory of Collective Use of RIBSP LLP, JSC «National Holding QazBioPharm» (Gvardeysky uts, Kazakhstan, b.userbayev@biosafety.kz).

Sultankulova Kulyaysan Turlybaevna – Candidate of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Molecular Biology and Genetic Engineering of the RIBSP LLP, JSC «National Holding QazBioPharm» (Gvardeysky uts, Kazakhstan, k.sultankulova@biosafety.kz).

Zhumadil Balnur, Nurbolgyzy – senior laboratory assistant at the Laboratory of Collective Use of the RIBSP LLP, JSC «National Holding QazBioPharm» (Gvardeysky uts, Kazakhstan, b.zhumadil@biosafety.kz).

Chervyakova Olga Viktorovna – Deputy General Director for Science and Commercialization, Candidate of Biological Sciences, Professor, RIBSP LLP, JSC «National Holding QazBioPharm» (Gvardeyskiy uts, Kazakhstan, o.chervyakova@biosafety.kz).

Shynybekova Gauhar Orynbekovna – Senior Researcher at the Laboratory of Molecular Biology and Genetic Engineering of the RIBSP LLP, JSC «National Holding QazBioPharm» (Gvardeysky uts, Kazakhstan, g.shynybekova@biosafety.kz).

Kozhabergenov Nurlan Siyazbekovich – Head of the Laboratory of Collective Use of the RIBSP LLP, JSC «National Holding QazBioPharm» (Gvardeysky uts, Kazakhstan, n.kozhabergenov@biosafety.kz).

Поступило 11 декабря 2024 года
Повторно загружено 1 апреля 2025 года
Принято 20 мая 2025 года

4-бөлім
ЗООЛОГИЯ

Section 4
ZOOLOGY

Раздел 4
ЗООЛОГИЯ

B.T. Berdikulov^{1,2*}, **Y.V. Akentyeva^{1,2}**,
A.E. Tashimova¹, **A.E. Gavrillov¹**

¹Republican state enterprise with the right of economic management “Institute of Zoology”
of the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan,
Almaty, Kazakhstan

²Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: bekzhan.berdikulov@zool.kz

POST-FLEDGING BEHAVIOUR OF A JUVENILE EASTERN IMPERIAL EAGLE (*AQUILA HELIACA*) TRACKED BY GPS IN THE TAUKUM DESERT, SOUTHERN BALKHASH REGION IN KAZAKHSTAN

The post-fledging period is a critical stage in raptor development, influencing survival, dispersal, and recruitment into the breeding population. However, knowledge of juvenile Eastern Imperial Eagle (*Aquila heliaca*) movement ecology remains limited, particularly in Central Asia. This study presents the first GPS tracking-based analysis of a juvenile Eastern Imperial Eagle from the Taukum Desert, Balkhash-Alakol Basin, Kazakhstan, providing insights into post-fledging dispersal, movement behavior, and habitat selection. The study aimed to document the timing of dispersal, territorial expansion of the range and habitat use of post-fledging Eastern Imperial Eagles during the first months (*Aquila heliaca*). A 65-day-old nestling was fitted with a GPS-transmitter and monitored from mid-July to late September 2024. Movement patterns were analyzed using GPS telemetry and Kernel Density Estimation (KDE) to assess habitat preferences.

The eagle was tracked for 77 days, producing 1,859 GPS locations and covering 713 km. It remained within 2 km of the nest for six weeks before gradually expanding its range. True dispersal began at 112 days old, marked by a 6–8 km westward flight. The maximum recorded distance was 18.6 km (September 11, 2024), while the longest single-day movement reached 49.6 km. Flight altitude averaged 453.5 m, peaking at 1,498 m, with a maximum flight speed of 85.9 km/h. Habitat analysis showed a strong preference for semi-desert steppe and riparian habitats, with over 95% of locations in natural landscapes. The eagle avoided human settlements. KDE identified core home ranges within 10 km of the nest, extending up to 290 km².

The study highlights the importance of preserving natal habitats and implementing powerline hazard mitigation measures to prevent mortality of young raptors. Future studies should track multiple individuals to assess dispersal and survival trends in Central Asia. Future research should track multiple individuals to assess dispersal trends and survival in Central Asia.

Keywords: Eastern Imperial Eagle, GPS telemetry, Taukum, post-fledging dispersal, habitat selection, juvenile raptor behavior, conservation.

Б.Т. Бердіқұлов^{1,2*}, **Е.В. Акентьева^{1,2}**,
А.Е. Ташимова¹, **А.Э. Гаврилов¹**

¹Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігі Ғылым комитетінің “Зоология институты”
шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорны, Алматы, Қазақстан

²Әл-Фараби атындағы қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

*e-mail: bekzhan.berdikulov@zool.kz

Балқаштың оң жағындағы Тауқұмда GPS орнатылған жас қарақұстың (*Aquila heliaca*) ұядан ұшқаннан кейінгі мінез-құлқы

Ұядан ұшқаннан кейінгі кезең жыртқыш құстардың дамуы үшін аса маңызды, өйткені бұл олардың тіршілік ету қабілетіне, таралуына және ұрпақ өрбітуіне тікелей әсер етеді. Алайда, Орта Азиядағы жас қарақұстың (*Aquila heliaca*) таралу экологиясы туралы мәліметтер жеткілікті емес. Бұл жұмыста қарақұс балапанының Балқаш-Алакөл ойпатындағы Тауқұмда, ұядан ұшқаннан кейінгі қозғалысын алғаш рет GPS-трекер арқылы бақыланғаны талданады. Атап айтқанда, ұядан ұшқаннан кейінгі таралуы, ұшу ерекшеліктері мен мекендеу ортасын таңдауы зерттеледі. Зерттеудің мақсаты – қарақұстың ұядан ұшқандағы алғашқы айларындағы таралу кезеңін, аумақтық кеңеюін және тіршілік ету ортасын пайдалануын анықтау. 65 күндік балапанға

GPS-трекер 2024 жылғы шілденің ортасынан қыркүйектің соңына дейін сигнал беріп тұрды. Ұшу ерекшеліктері GPS-телеметрия арқылы, ал мекендеу ортасына деген бейімділігі Тығыздықты ядролық бағалау (KDE) әдісі арқылы есептелді. Қарақұсқа орнатылған GPS трекингінен 77 күн ішінде 1859 сигнал түсті. Осы уақыт ішінде ол 713 км қашықтықты ұшып өткен. Ол алғашында 6 апта бойы ұядан 2 км дейінгі радиуста ұшса, кейін біртіндеп қозғалыс ауқымын кеңейтті. Қарақұстың балапаны 112 күнге толғанда алғаш рет 6–8 км қашықтыққа батысқа қарай ұшқан сәті – ұя маңынан нақты түрде қоныс аудару кезеңінің басталғанын көрсетті. Ең алыс қашықтық 2024 ж. 11 қыркүйегінде тіркеліп, 18,6 км көрсетсе, ең ұзақ бір күндік ұшу 49,6 км құрады. Орташа ұшу биіктігі теңіз деңгейінен 453,5 м, ең жоғарғы ұшу биіктігі 1498 м, ал ең жоғары жылдамдық 85,9 км/сағ жетті. Мекендеу ортасын зерттеу қарақұстың жартылай шөлейтті дала және өзен аңғары экожүйелеріне айқын бейімделгенін көрсетті: тіркелген сигналдың 95%-дан астамы табиғи ландшафттарда орналасқан. Қарақұс адам қоныстарынан аулақ болған. KDE талдауы бойынша негізгі тіршілік аймағы ұядан 10 км радиуста, ал аумақты пайдалануы ауқымы 290 км² құрады.

Бұл зерттеу жас жыртқыш құстардың өлімінің алдын алу үшін ұялау ортасын сақтаудың және электр желілерінің қаупін азайту шараларын енгізудің маңыздылығын көрсетеді. Болашақ зерттеулерде GPS-бақылау жүргізуді кеңейтіп, бірнеше құсқа орнату арқылы Орта Азиядағы қырандардың таралуы мен тіршілік ету мүмкіндіктерін толық зерттеу ұсынылады.

Түйін сөздер: қарақұс, GPS телеметрия, Тауқұм, ұядан ұшқаннан кейінгі таралу, тіршілік ортасын таңдау, жас жыртқыш құстардың мінез-құлқы, түрлерді қорғау.

Б.Т. Бердикулов^{1,2*}, Е.В. Аментьева^{1,2},
А.Е. Ташимова¹, А.Э. Гаврилов¹

¹Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения Институт зоологии Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан, Алматы, Казахстан

²Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

*e-mail: bekzhan.berdikulov@zool.kz

Послегнездовое поведение молодого могильника (*Aquila heliaca*) по данным GPS-трекера в пустыне Таукумы, южное Прибалхашье

Период после вылета из гнезда является критическим этапом в развитии хищных птиц, влияющим на их выживание, расселение и дальнейшее вступление в гнездовую популяцию. Однако знания об экологии перемещений молодых особей восточного могильника (*Aquila heliaca*) остаются ограниченными, особенно в Центральной Азии. В этом исследовании впервые представлены данные GPS-трекинга и анализ перемещения ювенильного восточного могильника из пустыни Таукум, Балхаш-Алакольский бассейн, Казахстан. Эти сведения дают понимание о расселении после вылета из гнезда, поведении при передвижении и выборе местообитаний. Цель исследования – документирование сроков расселения, территориального расширения ареала и использования местообитаний восточного могильника (*Aquila heliaca*) в течение первых месяцев после вылета из гнезда. 65-дневный птенец был снабжен GPS-передатчиком и наблюдался с середины июля по конец сентября 2024 года. Модели перемещения анализировались с использованием GPS-телеметрии и оценки плотности ядра (KDE) для оценки предпочтений в отношении местообитаний.

Орла отслеживали в течение 77 дней, что дало 1859 сигналов GPS и охватило 713 км. Он оставался в пределах 2 км от гнезда в течение шести недель, прежде чем постепенно расширить свой ареал. Расселение началось в возрасте 112 дней, отмеченное полетом на 6–8 км на запад. Максимальное зарегистрированное расстояние составило 18,6 км (11 сентября 2024 г.), в то время как самое длинное однодневное перемещение достигло 49,6 км. Высота полета в среднем составила 453,5 м, достигнув пика в 1498 м, с максимальной скоростью полета 85,9 км/ч. Анализ среды обитания показал предпочтение полупустынным степям и прибрежным местообитаниям, причем более 95% местоположений находились в естественных ландшафтах. Орел избегал человеческих поселений. KDE определил основные участки обитания в пределах 10 км от гнезда, простирающиеся до 290 км².

Исследование подчеркивает важность сохранения нательных местообитаний и внедрению мер по снижению опасности линий электропередач для предотвращения смертности молодняка хищных птиц. Будущие исследования должны отслеживать несколько особей для оценки тенденций расселения и выживания в Центральной Азии.

Ключевые слова: могильник, GPS-телеметрия, Таукум, послегнездовое расселение, выбор местообитаний, поведение ювенильных хищных птиц, сохранение биоразнообразия.

1. Introduction

The Eastern Imperial Eagle is a large raptor inhabiting steppe and forest-steppe ecosystems across Eurasia. Due to habitat loss, mortality from electrocution on power lines, collisions with vehicles, hunting, and declining prey availability, the species is classified as Vulnerable on the IUCN Red List [1]. In Kazakhstan, the species is listed as Category I (“disappearing”) in the national Red Data Book [2], emphasizing its threatened status and the necessity for strict conservation measures. Despite its imperiled status, Kazakhstan harbors one of the most significant breeding populations of Eastern Imperial Eagles, estimated at 3,400–4,200 pairs [3]. The species nests widely across the country, from the Edil-Zhaiyq (Volga-Ural) interfluvium in the northwest to the Ustyurt Plateau and Mangystau in the southwest, spanning diverse habitats including steppe, semi-desert, and desert regions such as Betpak-Dala, the Karakum and Kyzylkum deserts, and the Shu Valley. In the foothills of the Altai, Tarbagatai, and Zhetysay Alatau, the species is present but avoids high mountainous regions [4–7]. During migration, Eastern Imperial Eagles are encountered across Kazakhstan, while wintering birds are recorded mainly in the south and southeast of the country [8].

Despite this broad distribution, relatively little research has been conducted on the dispersal of juvenile Eastern Imperial Eagles from Kazakhstan. Most ecological studies on the species have been conducted in Europe (e.g., Central and Eastern Europe) [9–14], where populations are smaller but more intensively monitored. Consequently, a significant knowledge gap remains regarding the post-fledging dispersal behavior of juveniles from Central Asian populations, which may differ due to the region’s vast semi-desert landscapes and continental climate.

The post-fledging period, defined as the phase between fledging and independence, is critical for juvenile raptor survival and recruitment into the breeding population [13]. During this time, juveniles gradually develop flight and hunting skills, disperse from their natal areas, and navigate environments fraught with threats such as food scarcity, predation, and human-related hazards [9]. Research on Eastern Imperial Eagles in Bulgaria found that juvenile mortality rates were highest during the first year, with electrocution and poisoning being major causes of death [11]. These findings emphasize the need for region-specific research to assess survival rates and threats in Central Asia, where land-use patterns and environmental pressures differ significantly.

Dispersal strategies among large eagle species exhibit substantial geographic and ecological variation. For instance, studies on Golden Eagles (*Aquila chrysaetos*) have revealed that juvenile dispersal distances differ by population. In resident populations, juveniles often remain near their natal areas [12], whereas migratory populations undertake longer dispersal movements, influenced by habitat availability and climate [10]. Similarly, Bonelli’s Eagles (*Aquila fasciata*) are known for their long-distance dispersal, with juveniles moving 1 to 1,020 km from natal sites, though most (57%) remain within 100 km [9]. In contrast, Steppe Eagles (*Aquila nipalensis*), known for long-range transcontinental migration, have been tracked traveling ~4,200 km during their first autumn migration [15, 16], often wintering as far as India and southern Africa [17]. Meanwhile, White-tailed Eagles (*Haliaeetus albicilla*), which are less migratory, exhibit moderate dispersal distances, with females dispersing farther than males [18]. These studies highlight that juvenile dispersal varies widely across raptor species, reinforcing the necessity of species- and region-specific research on Eastern Imperial Eagles in Kazakhstan.

Historically, banding and wing-tagging provided limited insights into juvenile eagle movements due to low resighting rates and difficulty in tracking non-territorial juveniles [13, 19]. In Kazakhstan, 206 Eastern Imperial Eagles have been ringed, primarily juveniles, with 146 individuals marked in the Naurzum Nature Reserve and others across western, northern, southern, southeastern, and eastern regions. However, these methods provide only sporadic data points. The advent of GPS satellite and GSM telemetry has revolutionized tracking capabilities, allowing continuous, high-resolution monitoring of individual movements. Katzner et al. (2006) noted that the historical challenge of monitoring non-territorial eagles during the dispersal period is now being addressed through these modern technologies [20].

By integrating GPS data with GIS analysis, including Kernel Density Estimation (KDE) and remote sensing, researchers can delineate home range expansion, identify important stopover sites, and assess habitat preferences with unprecedented detail [21]. Such methods have been successfully applied in raptor studies worldwide, including Golden Eagles in Scotland [22] and Eastern Imperial Eagles in the Czech Republic [14]. However, few studies have focused on juvenile Eastern Imperial Eagles in Central Asia [23], where the species’ dispersal patterns and survival strategies remain poorly understood.

To address this knowledge gap, we conducted a GPS-tracking study of a juvenile Eastern Imperial Eagle from a nest in the Taukum Desert, south-eastern Kazakhstan. The objectives of our study were: (1) to document the timing and extent of the juvenile's post-fledging movements, (2) to identify stopover sites and temporary settlement areas used during dispersal, (3) to characterize the habitats selected by the juvenile, (4) to discuss the implications of these findings for eagle conservation in the region.

We formulated the following research question: how does a juvenile Eastern Imperial Eagle behave post-fledging in terms of movement patterns and habitat selection during its first months of life? Based on dispersal patterns observed in other large eagles and the partially migratory nature of Eastern Imperial Eagles, we hypothesized that the juvenile would exhibit a prolonged period of localized movement near the natal site (the post-fledging dependency period) before engaging in more extensive exploratory movements later in the season. We expected that initial forays would remain close to the nest, gradually increasing in distance as the bird's flight capabilities and independence developed. Additionally, we anticipated that open steppe and semi-desert habitats would be preferentially used, while areas with intensive human activity would be avoided.

2. Materials and methods

Study Area

This study was conducted in the Taukum Desert (~1 million ha) in southeastern Kazakhstan, a semi-arid region with hot, dry summers and cold winters [24]. The Taukum Desert extends 200 km along the left bank of the Ili River, from the Kurtu River to Alakol Bay near Lake Balkhash. Together with the Zhusandala clay plain and Topar inter-dune lakes, it forms a distinct desert-steppe ecosystem [25]. This ancient alluvial-eolian plain is composed of fine-grained sands, with semi-fixed dunes and sparse vegetation, dominated by sagebrush (*Artemisia spp.*), astragalus, sand acacia, tamarisk, ephedra, and black saxaul (*Haloxylon ammodendron*) [24]. The Sarytauikum region, the highest part, features large sand ridges, while Moyynkum in the north consists of stabilized dunes (10-30 m high), resembling mountainous terrain [26].

Water resources are limited to artesian wells and seasonal streams, with groundwater at 10-25 m depths, supporting livestock farming in the 1970s-80s. However, overgrazing led to land degradation, shifting dunes, and vegetation loss [26].

The climate is extremely continental, with an annual mean temperature of +9°C, ranging from -8.7°C in January to +25.5°C in July. Maximum summer temperatures exceed +42°C, and winter lows drop to -44.8°C. The growing season lasts ~210 days (March-October), with low annual precipitation (<150 mm) and high evaporation [27, 28].

The flora of the area includes about 200 species of flowering plants, 5% of which are considered endemic to Kazakhstan. The region features unique landscapes of inter-marsh lakes with plant associations including turanga (desert poplar), saxaul, Russian olive trees, and others [29].

The ornithofauna of the Taukum Desert includes up to 120 species of birds, among which are several listed in the Red Data Book. In addition to the Eastern Imperial Eagle, these include the Golden Eagle, Steppe Eagle, Booted Eagle, Short-toed Snake Eagle, as well as MacQueen's Bustard, and the Black-bellied and Pin-tailed Sandgrouse [26]. Eastern Imperial Eagles in this region prey on small mammals (such as *Spermophilus*, gerbils, and hares) and reptiles [25]. They nest in tugai woodlands, on isolated trees, or in open areas – on the ground or low bushes.

Research Question and Hypothesis

We aimed to answer: how does a juvenile Eastern Imperial Eagle behave post-fledging in terms of movement and habitat selection? Specifically, we examined departure timing, movement distances and directions, stopover sites, and habitat preferences. We hypothesized that the juvenile would remain near the natal site for an extended post-fledging dependence period, relying on parental support before gradually expanding its range. In terms of habitat selection, we anticipated a preference for open steppe and semi-desert habitats while avoiding human-altered areas like agricultural fields and settlements. GPS tracking and spatial analysis were used to test these expectations.

Data Collection

On 12 July 2024, we equipped a 65-day-old Eastern Imperial Eagle nestling with a 23 g solar-powered GPS-transmitter (model HQ G3621L, Hunan Global Messenger Technology Co., Ltd.) using a safe backpack harness. The device weighed less than 3% of the bird's body mass, minimizing behavioral impact [30]. We set the device to log the eagle's location, altitude, speed, temperature, activity, and heading every hour [31, 32]. Each GPS fix included coordinates (latitude/longitude in WGS84 decimal degrees) with estimated horizontal accuracy (HDOP) values, as well as ancillary data like

flight speed (in km/h) and altitude (in meters above sea level) as measured by the GPS. The raw tracking data were stored on Global Messenger's online server (GM-Tracking) [33], accessible through the manufacturer's platform. We periodically downloaded the data as CSV files for analysis. During the tracking period (July 12 to September 28, 2024), the juvenile fledged from the nest. We monitored its movements remotely via the GPS data. No interventions were made after tagging; the bird was left to behave naturally. By the end of September, the transmitter had recorded over 1,850 GPS fixes, providing a detailed trajectory of the juvenile's movements through its first 2.5 months out of the nest.

GIS Analysis and Kernel Density Estimation

We analyzed GPS data using QGIS 3.22 and R 4.2.2, mapping the eagle's movement from the natal site. To quantify movement patterns, we calculated daily travel distance, straight-line distances (haversine formula), and displacement from the nest over time. Key metrics included dispersal onset (first movement >5 km from the nest without return), maximum distance reached, daily displacement, and flight speed statistics (mean and max speeds).

To identify core habitat selection, we applied Kernel Density Estimation (KDE), using a bivariate normal kernel to estimate the eagle's utilization distribution. We derived 50% and 95% KDE contours, representing core use areas and home range, respectively. A Minimum Convex Polygon (MCP) was also computed for comparison.

We analyzed daily activity patterns by summing distances moved per hour and tracking altitude changes over time to assess flight development. All statistical analyses were carried out using standard packages in R. Summary statistics are reported as mean $\pm$ standard deviation. Given that our study tracks a single individual ($n=1$), we emphasize descriptive and comparative interpretations rather than formal inferential statistics. We compare our findings with similar studies, acknowledging that one bird's data may not capture all behaviors but still offers valuable insights.

3. Results and discussion

On July 12, 2024, a nest of the Eastern Imperial Eagle was located in the floodplain of the Kurty River, 8.5 km from Aktogay village, Ili District. The nest, situated at N44°13' E76°37', was positioned 3.5 – 4 meters above the ground on a large branch of a Russian olive tree (*Elaeagnus angustifolia*) (Figure 1).



Figure 1 – The nest of Eastern Imperial Eagle on the tree

It was substantial in size and appeared well-established, constructed from branches and lined with dry grass, leaves, and bark, suggesting repeated use by the same breeding pair over multiple seasons. At the time of discovery, the nest contained two fledglings. Upon approach, both juveniles attempted to fly; one managed a significant flight distance, while the second, likely on its first flight, landed 15 meters from the nest, where it was safely captured for examination. This individual was fitted with a GPS tracker for monitoring. Tracking began when the eagle was approximately 65 days old, after which it was carefully returned to the nest to resume normal development. The juvenile Eastern Imperial Eagle was tracked for a total of 77 days, from mid-July to late September 2024, resulting in 1,859 recorded GPS locations. Over this period, the eagle traveled a cumulative distance of 713 km, with an average daily movement of 9.02 km/day. The longest recorded distance traveled in a single day was 49.6 km, while the longest continuous flight spanned 40.43 km. The bird's maximum flight speed was 85.9 km/h. The altitude data revealed an average flight altitude of 453.5 meters, with the highest recorded altitude reaching 1,498 meters.

Table 1 – GPS tracking summary of Eastern Imperial Eagle

GPS data	Value
Total tracking duration	77 days
Total GPS signal records	1859 signals
Total distance traveled	713 km
Longest distance in one day	49.6 km
Average speed	1.35 km/h
Maximum speed	85.9 km/h
Mean daily distance traveled	9.02 km
Average altitude	453.5 m
Maximum altitude	1498.0 m
Number of stopovers resting events	44.0
Longest continuous flight	40.43 km

Movement Patterns

The GPS tracking map (Figure 2) shows a dense cluster of points around the natal nest site, indicating a period of continued dependency on parental care. In the early days of tracking, the bird primarily stayed within a 3-5 km radius of the nest, returning regularly to roost in familiar locations.

During the early tracking period, the juvenile eagle stayed close to its nest, gradually expanding its movements. The first significant flight beyond 1 km occurred when the bird was 81 days old. Over the following weeks, the eagle continued exploring its surroundings, reaching 2 km from the nest by the time it was 104 days old. This phase was marked by short-distance flights, with the juvenile testing its flight abilities while still relying on the nest area for rest and food. As the eagle grew more confident, its range increased. By 112 days of age, it had ventured 5 km from the nest, signaling the beginning of broader dispersal behaviors. The juvenile started exploring new habitats, perching in different locations, and likely developing independent foraging skills. Returning to the nest became less frequent, indicating a gradual transition toward independence.

A clear behavioral shift occurred when the eagle was approximately 83 days old, marking the start of dispersal. On this date (August 28, 2024), the eagle flew 6-8 km west for the first time, departing from the immediate natal area. This movement can be considered the initial emigration event, indicating the transition from post-fledging dependence to independent dispersal.

After this initial departure, the juvenile's movements became more extensive. Over the next two weeks (late August – mid-September 2024), the ea-

gle took increasingly longer flights and sometimes remained away from the natal area for more than a day. It primarily explored regions to the north and west of the nest.

The maximum recorded distance from the nest was 18.6 km, reached on September 11, 2024, at 11:00 local time. At this point, the eagle flew west-northwest, marking its farthest excursion during the tracking period. However, rather than continuing in a linear dispersal pattern, the bird returned to the general natal area later in September, suggesting a pattern of exploratory looping movements rather than immediate long-distance migration. By late September 2024, the eagle had settled within ~3 km of the natal nest, suggesting a temporary settlement phase before further dispersal. This behavior aligns with a local disperser strategy, where some juveniles remain in their natal regions rather than immediately migrating. Similar patterns have been observed in Eastern Imperial Eagles in Europe, where many juveniles stay near their natal sites for winter, while only a few migrate long distances. The eagle's daily movement distances increased as it gained independence and flight proficiency. In July, it remained largely sedentary, traveling an average of 1.6 km per day. By August, as exploratory movements began, the mean daily distance increased to 7.3 km/day. During September, at the peak of dispersal, the juvenile covered an average of 16.3 km/day. The most active day occurred on September 11, 2024, when the eagle traveled 49.5 km, the longest single-day movement recorded.

This pattern supports the hypothesis that juveniles initially remain near the nest before expanding their range. The increasing distances reflect the development of sustained flight ability and growing exploratory tendencies. Similar patterns have been documented in Bonelli's Eagles, where juveniles initially make short-range movements (cover up to 20 km/day in their early dispersal phase) before transitioning to long-distance dispersal [34].

Movement Direction. In terms of directionality, our eagle did not show a consistent directional migration during the study period. Instead, its movements were exploratory, with no clear long-distance dispersal. While it traveled in various directions around the natal area, there was a noticeable tendency to move westward and northwestward rather than eastward. This directional bias may be influenced by habitat differences – Lake Balkhash and open desert areas lie to the east, whereas the west and north offer more diverse landscapes, slightly higher elevations, and potentially richer foraging opportunities in steppe habitats. The farthest recorded point, located

west-northwest (WNW) of the nest, had an elevation of approximately 1100 m, compared to ~430 m at the nest. This suggests that the bird had reached the foothills of a low mountain or plateau. However,

its return from this excursion indicates that the area was not immediately suitable for settlement, and the juvenile was likely assessing different habitats for foraging potential in its first independent months.

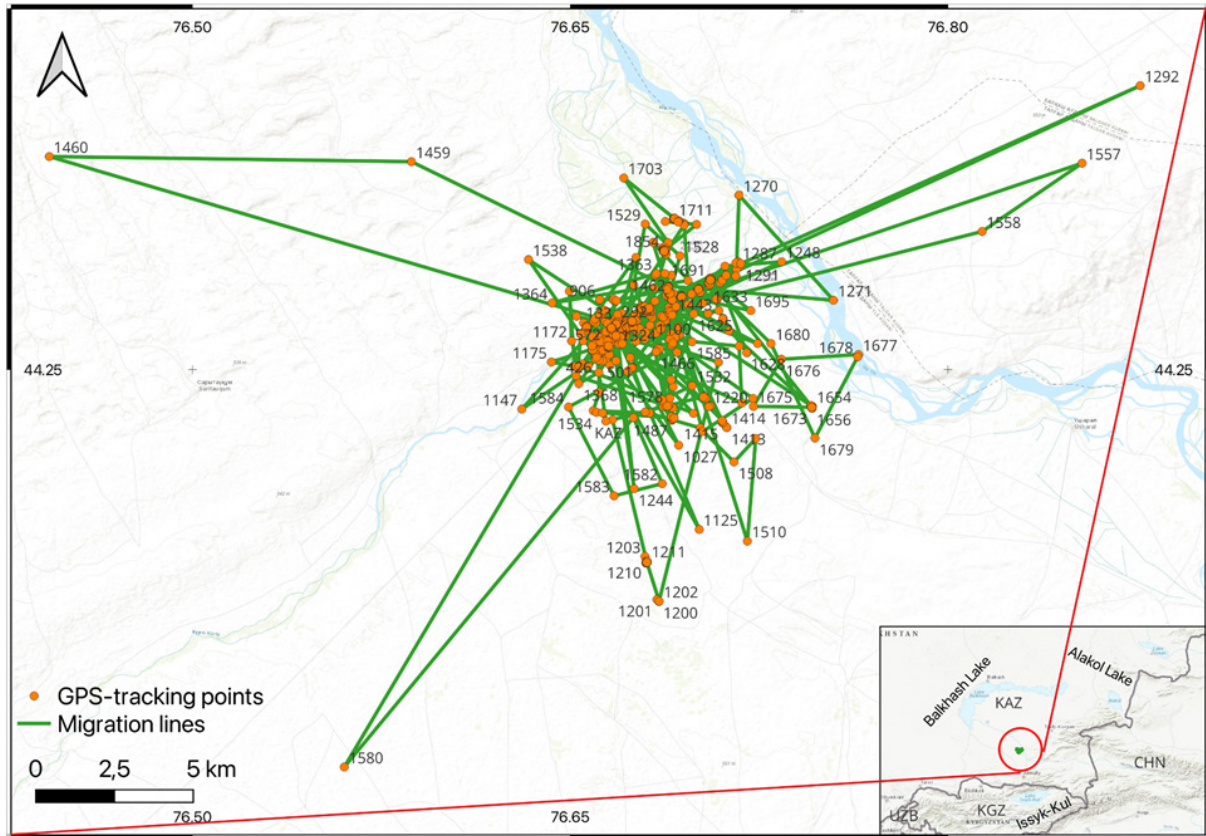


Figure 2 – Post-fledging movement patterns of a juvenile Eastern Imperial Eagle in the Taukum Desert, Southern Kazakhstan

Analysis of movement frequency further supports this dispersal trend (Figure 3). The most common movement direction was north-northwest (330°), with 671 recorded movements in the 0°-45° and 315°-360° sectors. In contrast, movement to the east (398 movements), south (349 movements), and west (441 movements) was less frequent. This pattern suggests that the juvenile favored northward dispersal, potentially avoiding less favorable environments in the east and south.

Flight Altitude. Another dimension of movement is the altitude of the eagle's flights. The GPS altitude readings (relative to sea level) ranged from approximately 330 m to over 1100 m during the tracking period (Figure 4). Given that the ground elevation around the nest is ~430 m, early flights likely remained close to the surface. Indeed, some

negative deviations in altitude readings in the first week suggest that the juvenile was on the ground or perched below nest height, consistent with short test flights or resting phases. As flight capacity improved, it regularly reached 500-600 m asl (70-170 m above ground level) by late August. On September 2-3 and September 11, the eagle hit its highest recorded altitudes (~1050-1100 m asl), coinciding with its longest exploratory trips. The altitude jumps to ~1094 m on September 11 suggests it was soaring over higher terrain (~700-800 m), maintaining 300-400 m above ground level. Higher flights correlated with longer travel distances, aiding navigation and gliding efficiency. After returning to the natal area, altitudes dropped back to 450-500 m, consistent with more localized movements.

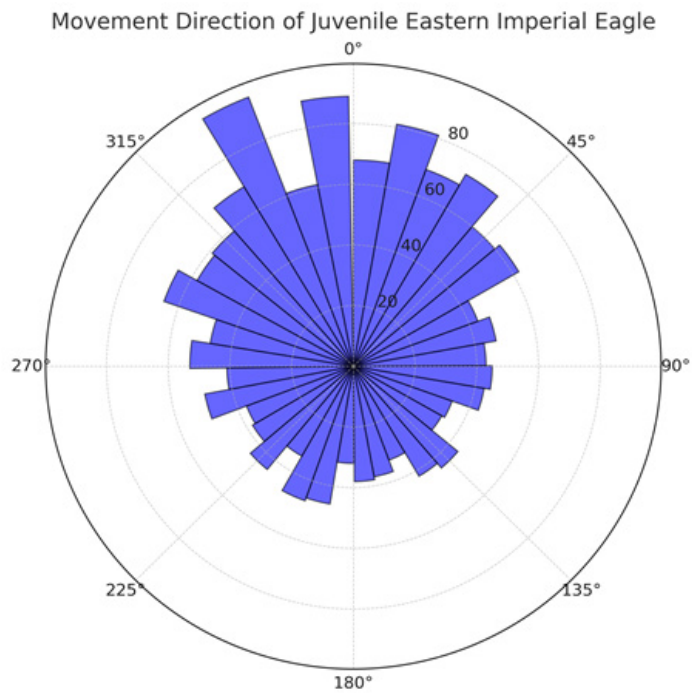


Figure 3 – Movement direction of the Eastern Imperial Eagle.
(The circular histogram represents movement frequency in different compass directions, 0° (North).
Radial grid values indicate the number of movements in each direction.
Taller bars reflect more frequent movements, revealing dominant dispersal patterns

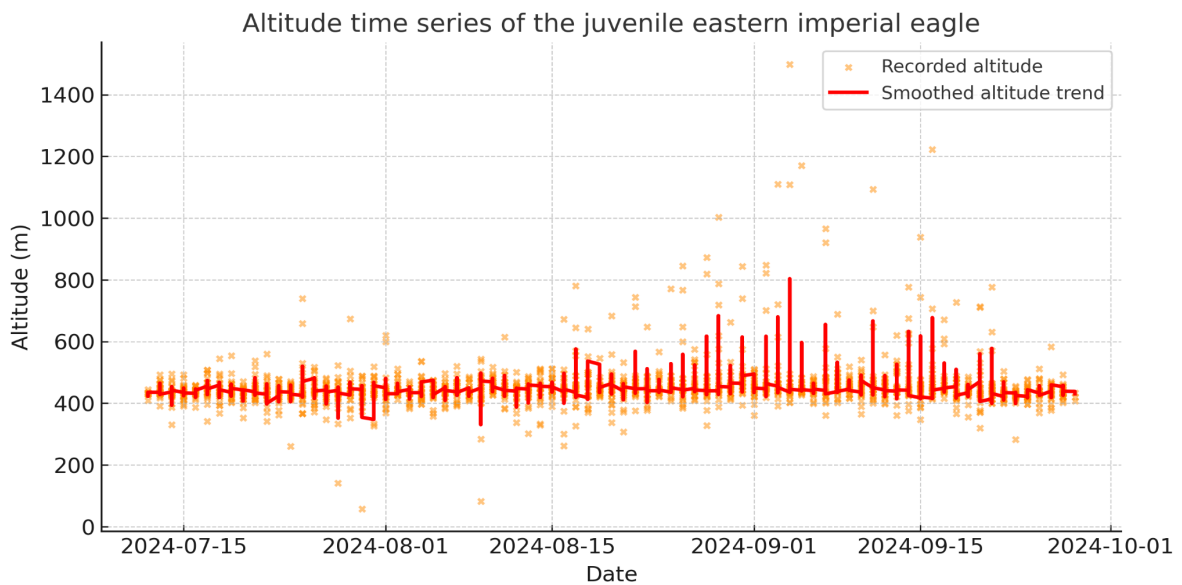


Figure 4 – Altitude time series of the juvenile Eastern Imperial Eagle

Flight Speed. The eagle's flight speed data reflect its changing movement behavior (Figure 5). In July, speeds were mostly near 0 km/h, indicating it was largely stationary, with occasional short

flights (10-30 km/h) likely linked to flight practice or food-chasing behavior. By mid-August, sustained flights became more common, with speeds of 30-50 km/h, suggesting purposeful movement. Notably,

peak speeds reached 85.9 km/h during long-distance flights on 30 August. This peak coincided with the period of greatest geographic range expansion, aligning with increased dispersal activity. After ear-

ly September, high-speed movements tapered off, and by late September, the eagle was spending more time near the natal area, possibly due to sufficient foraging opportunities or awaiting migratory cues.

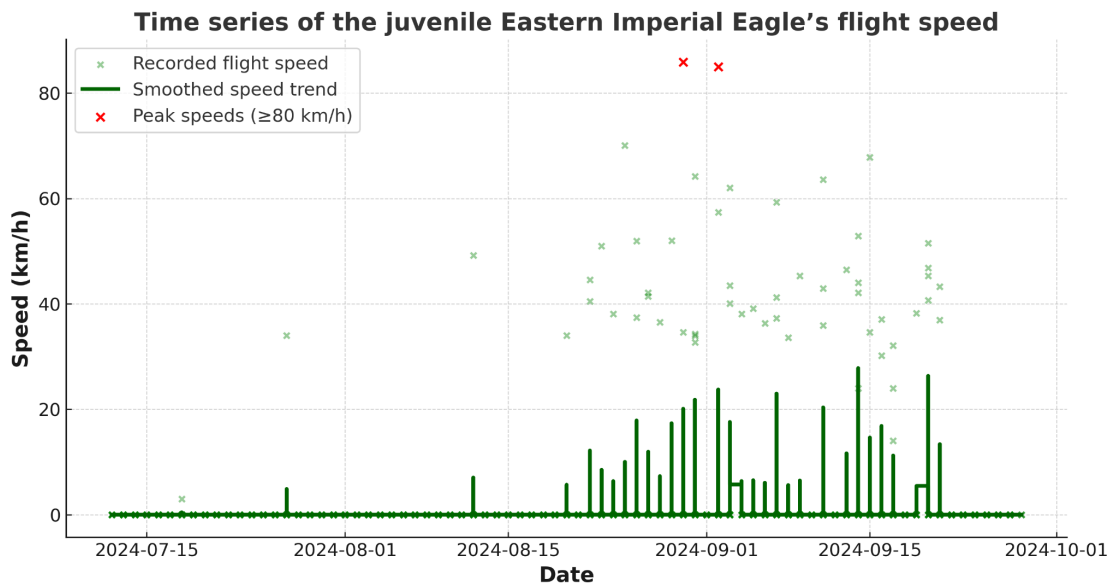


Figure 5 – Flight speed over the post-fledging period. Each green point represents the eagle's recorded GPS flight speed at a given time; The graph illustrates the near-zero speeds (perching/roosting) dominating early weeks, followed by increasingly frequent high-speed flight bouts in late August and early September as the eagle's dispersal activity intensified

Daily Activity and Stopover Behavior

Daily Activity. Analysis of the timing of movements revealed that the juvenile eagle was strictly diurnal in its activity, as expected for an eagle of this species (Figure 6). The bird roosted each night, either at the nest tree or later at other tall perches, and did not travel during nighttime hours. GPS fixes from roughly 21:00 to 05:00 local time showed essentially no movement (speeds ~0, positions static). The eagle's day typically started at dawn (around 05:00) with short flights near the roost, increasing in the morning (05:00-10:00) as temperatures rose and thermal currents formed. The eagle was most active between 11:00 and 17:00, when it undertook longest flights and exploratory movements.

During early morning (06:00-10:00) and late afternoon (16:00-19:00), both distance traveled and flight speed were highest, suggesting periods of active dispersal or foraging-related movements. In contrast, a significant reduction in activity occurred between 11:00 and 15:00, coinciding with the warmest hours of the day. This decline in movement and speed indicates perching or resting behavior, likely to minimize energy expenditure during intense solar

radiation. Such midday inactivity is consistent with thermoregulatory behavior observed in other large raptors. The strong correlation between movement distance and flight speed supports the hypothesis that the eagle engages in longer, faster flights during peak activity periods, while shorter, slower movements dominate the midday resting phase.

Figure 7 illustrates the eagle's daily movement patterns as a heatmap of distance traveled by hour. Nighttime hours (midnight-04:00) show little to no movement, confirming the bird was roosting. Activity began around 05:00, with movement gradually increasing. The most intense activity (red blocks) occurred between 10:00 and 14:00, aligning with peak thermal uplift, which eagles use for efficient soaring. On days with long excursions (e.g., August 28, September 11), the heatmap shows sustained movement from late morning through late afternoon, indicating extended flight periods. In contrast, July's heatmap shows only faint activity, reflecting short flights and perch-bound behavior. By late September, movement intensity declined, suggesting the eagle had settled into a smaller area, consistent with location data showing it near the natal zone.

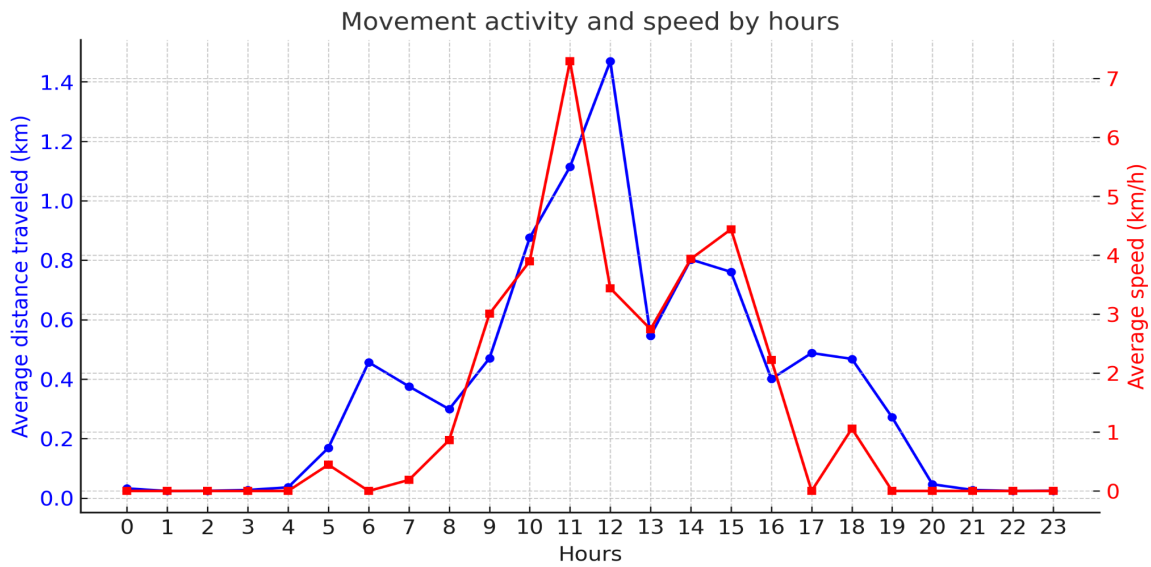


Figure 6 – Post-fledging daily movement activity of the Juvenile Imperial Eagle during the day

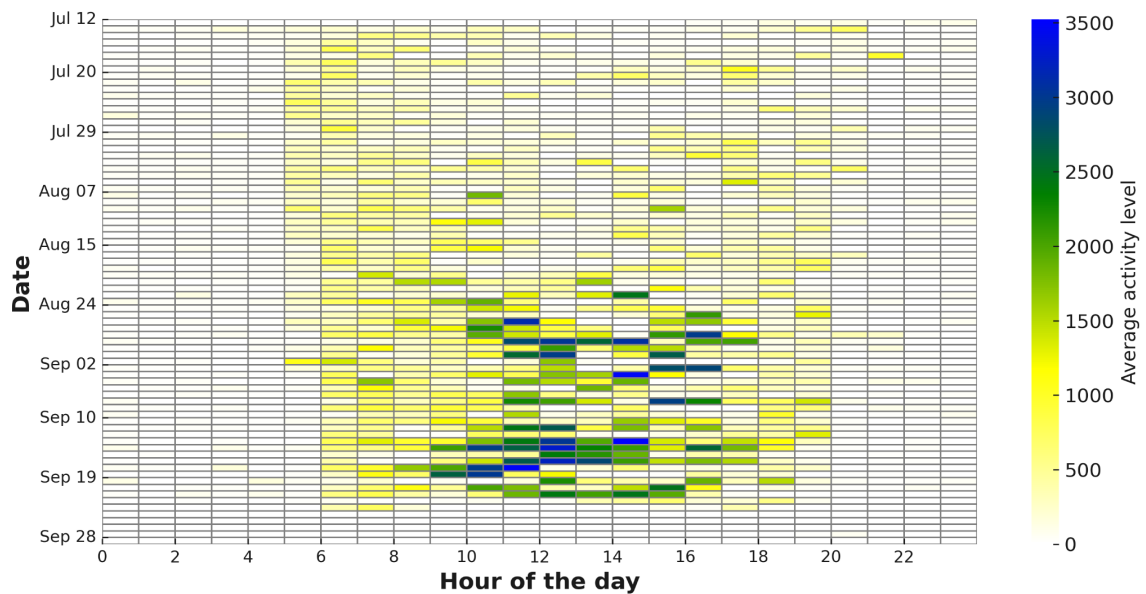


Figure 7 – Heatmap of the juvenile eagle's hourly movement. Warmer colors indicate greater distances traveled per hour. The eagle was inactive at night (21:00-04:00), became active at dawn (~05:00), and peaked in movement midday (12:00-15:00). Activity intensified in late August-early September, reflecting increased dispersal

Stopover Sites. The concept of “stopover sites” in the context of juvenile dispersal often refers to temporary focal areas where a bird may linger and forage for days or weeks before moving on. Since our eagle did not migrate directionally during the study, a more accurate term is “temporary settlement areas” or core use areas rather than distinct stopovers.

The primary settlement area was the natal site, heavily used throughout July and early August, and revisited later. A secondary area was near the farthest recorded point (~18 km WNW), but the eagle did not stay long – there is no evidence it roosted overnight. Instead, its movements resembled ranging behavior within an expanding home range rather than point-to-point migration.

By late September, the eagle was still within ~3 km of its natal site, suggesting it had not yet relocated to a distant range. While it may move farther in the following months, our findings highlight the importance of natal areas for juvenile survival. This aligns with studies in the Czech Republic, where most tracked juveniles wintered near their birthplaces [14], reinforcing the need to protect natural habitats for both breeding and early dispersal phases.

Habitat Preferences

Throughout the study, the juvenile strongly favored natural habitats, with >95% of GPS locations in steppe and semi-desert areas. It primarily

used arid grasslands and shrublands, particularly near a dry riverbed close to the nest, which provided taller vegetation, potential prey, and scattered perches. As its range expanded, the eagle explored foothills ~18 km WNW, likely assessing foraging potential, but ultimately returned to flatter plains, suggesting it did not find the new terrain significantly better.

Notably, the eagle avoided human-modified landscapes. It did not enter agricultural lands or settlements, with its closest approach to a village being ~10 km away. Similar avoidance has been documented in other large raptors, such as White-tailed Eagles and Eastern Imperial Eagles in Hungary [34].

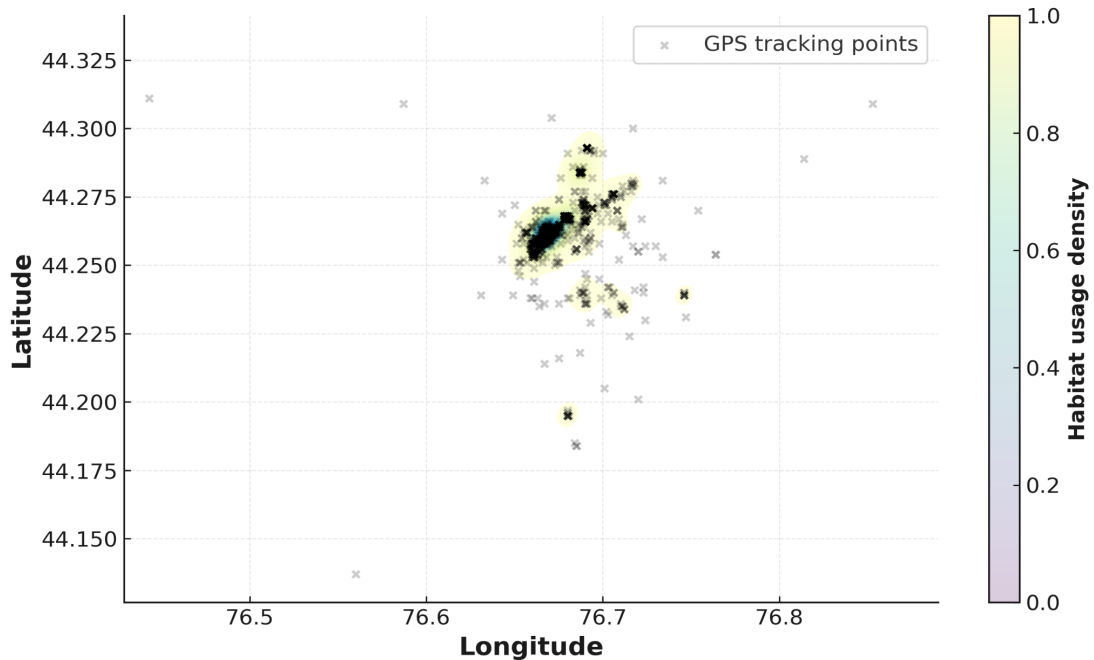


Figure 8 – Kernel Density Estimation (KDE) of habitat use by the juvenile Eastern Imperial Eagle. The heatmap represents the spatial distribution of GPS locations, with higher density areas (dark blue) indicating core habitats where the eagle spent the most time. The total 95% KDE home range is ~290 km². GPS tracking points (gray) are overlaid to illustrate individual recorded locations

Kernel Density Estimation (KDE) identified a primary core area (~10 km²) around the natal nest and a secondary high-use zone 5-8 km west, indicating early exploratory movements. The total 95% KDE home range spanned ~290 km² but was strongly influenced by a single long-distance excursion. Unlike fully nomadic juveniles that disperse over vast areas, this individual remained within a restricted range.

The eagle's movements were selective, preferring steppe with some structural diversity

(bushes, low hills) and riparian zones, while avoiding open sand deserts, highways (>15 km away), and densely forested areas. Its occasional use of elevated perches, including electric poles, highlights its opportunism in open landscapes. This behavior proved fatal, as the juvenile probably died from electrocution. Thus, on November 11, 2024, the remains of a bird, feathers were found under a bird-hazardous power line pole (Figure 9).



Figure 9 – Location of the last received GPS signal. Feathers of the bird are visible under the power line pole

However, most of the carcass, and along with it the transmitter, were not found, presumably carried off by predators. This case underscores the conservation risks posed by unsafe power infrastructure and highlights the urgent need for mitigation measures to prevent raptor electrocution in steppe ecosystems.

Conclusion

This study provides novel insights into the post-fledging dispersal behavior of a juvenile Eastern Imperial Eagle in southeastern Kazakhstan, a region where movement ecology remains poorly understood. By utilizing GPS telemetry, we monitored the eagle for 77 days, tracking its gradual expansion from localized movements near the nest to broader dispersal at 112 days old. The findings confirm that juvenile Eastern Imperial Eagles initially exhibit

strong natal site fidelity, with movements increasing progressively as flight capabilities develop. The maximum recorded distance of 18.6 km, coupled with a return to the natal area, suggests a local dispersal strategy rather than immediate long-distance migration.

Key findings include dispersal onset, a ten-fold increase in daily movement distances from July to September, and a peak single-day flight of ~50 km. The study highlights the strong preference for semi-desert and steppe habitats and avoidance of human-modified landscapes, reinforcing the need to preserve undisturbed foraging and roosting areas for juvenile survival. However, the electrocution-related mortality of this individual underscores a major conservation threat – unsafe power lines. This finding emphasizes the urgent need for mitigation measures, including insulating power infrastructure and identifying high-risk areas for future interventions. Given the limitations of a single-bird study, future research should track multiple juveniles across different regions to examine variations in dispersal patterns, migratory tendencies, and survival rates. Long-term monitoring would also provide valuable insights into settlement patterns, breeding recruitment, and potential climate-driven shifts in dispersal ecology.

This study demonstrates the power of GPS telemetry in understanding raptor dispersal, offering actionable data to inform conservation strategies. By safeguarding both nesting areas and dispersal landscapes, we can improve juvenile survival and contribute to the stability of Eastern Imperial Eagle populations in Kazakhstan and beyond.

Acknowledgments

This research has been funded by the Committee of Science of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No. BR21882199 – *Cadastral of wild animals of arid territories of the Balkhash-Alakol Basin with an assessment of threats to their conservation and sustainable use*). We also express our gratitude to the staff of the Sunkar Falconry Reserve for their assistance.

Literature

1. BirdLife International. 2019. *Aquila heliaca* (amended version of 2017 assessment). *The IUCN Red List of Threatened Species* 2019: e.T22696048A155464885. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T22696048A155464885.en>. Accessed on 20 March 2025.
2. Red Data Book of the Republic of Kazakhstan. Volume 1. Animals. / Ed. by Dr. R.V. Yashenko. 5th edition, revised and updated. – Almaty: Institute of Zoology, Committee of Science, Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan, 2024. – 532 p.

3. Карякин, И.В. (2020). Популяционная структура гнездового ареала орла-могильника. Пернатые хищники и их охрана, (41), 64-332.
4. Березовиков Н.Н., Губин Б.М., Гуль И.Р., Ерохов С.Н., Карпов Ф.Ф., Коваленко А.В. Птицы пустыни Таукумы (юго-восточный Казахстан). Киев-Львов, 1999. – 117 стр.
5. Gavrilov, E. I., & Gavrilov, A. E. (2005). *The birds of Kazakhstan* (Vol. 2). Tethys.
6. Карякин, И.В. (2016). Орлы России и Казахстана: места обитания и зоны электросетевой опасности. Новосибирск: Сибэкоцентр.
7. Каптёнкина А.Г., Пуликова Г.И., Сагалиев Н.А., Карякин И.В. (2023). Орёл-могильник на юго-востоке Казахстана в 2022-2023 годах: распространение, численность, угрозы. *Пернатые хищники и их охрана*, (2), 329-334.
8. Коваленко, А. В. (2018). О зимовках могильника *Aquila heliaca* в Юго-Восточном и Южном Казахстане. *Русский орнитологический журнал*, 27(1623), 2785-2786.
9. Real, J., & Manosa, S. (2001). Dispersal of juvenile and immature Bonelli's Eagles in northeastern Spain. *Journal of Raptor Research*, 35(1), 2.
10. Weston, E. D., Whitfield, D. P., Travis, J. M., & Lambin, X. (2013). When do young birds disperse? Tests from studies of golden eagles in Scotland. *BMC ecology*, 13, 1-13.
11. Stoychev, S., Demerdzhiev, D., Spasov, S., Dobrev, D., & Meyburg, B. U. (2014). Survival rate and mortality of juvenile and immature eastern imperial eagles (*Aquila heliaca*) from Bulgaria studied by satellite telemetry. *Slovak Raptor Journal*, 8(2014), 53-60.
12. Nygård, T., Jacobsen, K. O., Johnsen, T. V., & Systad, G. H. (2016). Dispersal and survival of juvenile golden eagles (*Aquila chrysaetos*) from Finnmark, Northern Norway. *Journal of Raptor Research*, 50(2), 144-160.
13. McIntyre, C. L., & Lewis, S. B. (2018). Statewide movements of non-territorial Golden Eagles in Alaska during the breeding season: Information for developing effective conservation plans. *Alaska Park Science*, 17, 65-73.
14. Rymešová, D., Horal, D., Matušík, H., Raab, R., Spakovszky, P., & Literák, I. (2023). Dispersal of eastern imperial eagles from the Czech Republic. *Journal of Vertebrate Biology*, 72(23009), 23009-1
15. Weiss, N., Haviv, E., Alon, D., Perlman, Y., & Schäckermann, J. (2019). How Fast Does the Steppe Eagle Population Decline? Survey Results from Eilat, Israel. *Raptors Conservation*, 38.
16. Keijmel, M., Babbington, J., Roberts, P., McGrady, M., & Meyburg, B. U. (2020). *The world's largest gathering of Steppe Eagles Aquila nipalensis discovered in central Saudi Arabia*. Sandgrouse, 42: 59-68.
17. Karyakin, I. V., Nikolenko, E. G., Shnayder, E. P., Zinevich, L. S., Pulikova, G. I., Bartoszuk, K., Horváth, M., Juhász, T., Aghababayan, K. & Andreyenkova, N. G. (2019). *Results of the GPS/GSM-Tracking of Juvenile Steppe Eagles from Russia and Kazakhstan*. *Raptors Conservation*, (39).
18. Nemesházi, E., Szabó, K., Horváth, Z., & Kövér, S. (2018). Genetic structure confirms female-biased natal dispersal in the White-tailed Eagle population of the Carpathian Basin. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 64(3), 243-257.
19. Al-Sheikhly, O. F., Al-Barazangi, A. N., Haba, M. K., Fazaa, N. A., Abdulzahra, H. K., Turab, M. K. A., & Al-Azawi, A. J. (2017). Ring Recoveries from Steppe Eagles and Eastern Imperial Eagles from the Russian and Kazakhstan Breeding Populations and a Review of Major Threats to Eagles in Iraq. *Raptors Conservation*, 35.
20. Katzner, T. E., Bragin, E. A., & Milner-Gulland, E. J. (2006). Modelling populations of long-lived birds of prey for conservation: a study of imperial eagles (*Aquila heliaca*) in Kazakhstan. *Biological Conservation*, 132(3), 322-335.
21. Murgatroyd, M., Underhill, L. G., Rodrigues, L., & Amar, A. (2016). The influence of agricultural transformation on the breeding performance of a top predator: Verreaux's Eagles in contrasting land use areas. *The Condor: Ornithological Applications*, 118(2), 238-252.
22. Hixson, K. M., Slater, S. J., Knight, R. N., & Lonsinger, R. C. (2022). Seasonal variation in resource selection by subadult golden eagles in the Great Basin Desert. *Wildlife Biology*, 2022(1), e01002.
23. Katzner, T. E., Jackson, D. S., Ivy, J., Bragin, E. A., & DeWoody, A. (2014). Variation in offspring sex ratio of a long-lived sexually dimorphic raptor, the Eastern Imperial Eagle *Aquila heliaca*. *Ibis*, 156(2), 395-403.
24. Issanova, G., Kaldybayev, A., Ge, Y., Abuduwaili, J., & Ma, L. (2023). Spatial and temporal characteristics of dust storms and aeolian processes in the Southern Balkash deserts in Kazakhstan, central asia. *Land*, 12(3), 668.
25. Курочкина Л.Я. Пустыни Казахстана и степень их освоённости // Редкие животные пустынь Алма-Ата, 1990. С. 7-23.
26. Романова СМ., Казангапова Н.Б. Озеро Балхаш – уникальная гидроэкологическая система. – Алматы, 2003. – 175 с
27. Ivanovich, B. A. & Nikolaevich, B. N. (2013). *On the Nesting of the Steppe Eagle Aquila nipalensis on the northeast coast of Lake Balkhash*. *Russian Ornithological Journal*, 862: 813-817.
28. Османова Л.Т., Байгозова Г.А., Карибаева К.Б. 1988. Таукумский стационар Института ботаники АН КазССР// Пустынные стационары Казахстана и Средней Азии. Алма-Ата: 11-23.
29. Ilina, V. O., Berdikulov, B. T., Lei, F., Filimonov, A. N., Akentyeva, Y. E., Song, G., Tashimova, A. & Gavrilov, A. E. (2025). Migration patterns and spatial connectivity of Pallas's Gulls (*Ichthyetaetus ichthyetaetus*) from Alakol Lake, Kazakhstan using ring recovery and tracking data. *Avian Research*, 100253.
30. Berdikulov, B. T., Gavrilov, A. E., Ilina, V. O., Song, G., & Lei, F. M. (2024). Autumn Migration of the Rare Yellow-Eyed Pigeon *Columba eversmanni* from Western Tian Shan (Tanyrtau), Kazakhstan. *Ardea*, 112(1), 21-30.
31. Berdikulov, B. T., Gavrilov, A. E., Gang, S., & Akentyeva, E. V. (2024). Analysis of environment use and behavior of *Bubo Bubo* in the Western Tien Shan, Shapak Pass using GPS/GSM telemetry. *Eurasian Journal of Ecology*, 78(1).
32. Global Messenger. (n.d.). *GM-Tracking: GPS tracking platform*. Retrieved March 21, 2025, from <https://www.gm-tracking.com/>

33. Cadahía, L., Urios, V., & Negro, J. J. (2007). Bonelli's Eagle *Hieraetus fasciatus* juvenile dispersal: hourly and daily movements tracked by GPS. *Bird Study*, 54(2), 271-274.
34. Carver, S., Mayhew, M., Blatchford, K., Carver, B., & Carver, E. (2022). Pre-feasibility Study: White-Tailed Eagle (WTE) Reintroduction in Cumbria Funded by Natural England.

References

1. Al-Sheikhly, O. F., Al-Barazangi, A. N., Haba, M. K., Fazaa, N. A., Abdulzahra, H. K., Turab, M. K. A., & Al-Azawi, A. J. (2017). Ring Recoveries from Steppe Eagles and Eastern Imperial Eagles from the Russian and Kazakhstan Breeding Populations and a Review of Major Threats to Eagles in Iraq. *Raptors Conservation*, 35.
2. BirdLife International. (2019). *Aquila heliaca* (amended version of 2017 assessment). *The IUCN Red List of Threatened Species 2019*: e.T22696048A155464885. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T22696048A155464885.en>. Accessed on 20 March 2025.
3. Berdikulov, B. T., Gavrilov, A. E., Ilina, V. O., Song, G., & Lei, F. M. (2024). Autumn Migration of the Rare Yellow-Eyed Pigeon *Columba eversmanni* from Western Tian Shan (Tanyrtau), Kazakhstan. *Ardea*, 112(1), 21-30.
4. Berdikulov, B. T., Gavrilov, A. E., Gang, S., & Akentyeva, E. V. (2024). Analysis of environment use and behavior of *Bubo Bubo* in the Western Tien Shan, Shapak Pass using GPS/GSM telemetry. *Eurasian Journal of Ecology*, 78(1).
5. Berezovikov N.N., Gubin B.M., Gul I.R., Erokhov S.N., Karpov F.F., Kovalenko A.V. Ptitsy pustyni Taukumy (yugo-vostochnyy Kazakhstan) [Birds of the Taukum Desert (Southeastern Kazakhstan)]. Kyiv-Lviv, 1999. – 117 p.
6. Cadahía, L., Urios, V., & Negro, J. J. (2007). Bonelli's Eagle *Hieraetus fasciatus* juvenile dispersal: hourly and daily movements tracked by GPS. *Bird Study*, 54(2), 271-274.
7. Carver, S., Mayhew, M., Blatchford, K., Carver, B., & Carver, E. (2022). Pre-feasibility Study: White-Tailed Eagle (WTE) Reintroduction in Cumbria Funded by Natural England.
8. Gavrilov, E. I., & Gavrilov, A. E. (2005). *The birds of Kazakhstan* (Vol. 2). *Tethys*.
9. Global Messenger. (n.d.). *GM-Tracking: GPS tracking platform*. Retrieved March 21, 2025, from <https://www.gm-tracking.com/>
10. Hixson, K. M., Slater, S. J., Knight, R. N., & Lonsinger, R. C. (2022). Seasonal variation in resource selection by subadult golden eagles in the Great Basin Desert. *Wildlife Biology*, 2022(1), e01002.
11. Ilina, V. O., Berdikulov, B. T., Lei, F., Filimonov, A. N., Akentyeva, Y. E., Song, G., Tashimova, A. & Gavrilov, A. E. (2025). Migration patterns and spatial connectivity of Pallas's Gulls (*Ichthyaeetus ichthyaeetus*) from Alakol Lake, Kazakhstan using ring recovery and tracking data. *Avian Research*, 100253.
12. Issanova, G., Kaldybayev, A., Ge, Y., Abuduwaili, J., & Ma, L. (2023). Spatial and temporal characteristics of dust storms and aeolian processes in the southern Balkhash deserts in Kazakhstan, Central Asia. *Land*, 12(3), 668.
13. Ivanovich, B. A. & Nikolaevich, B. N. (2013). On the Nesting of the Steppe Eagle *Aquila nipalensis* on the northeast coast of Lake Balkhash. *Russian Ornithological Journal*, 862: 813-817.
14. Karyakin, I. V. (2016). Orly Rossii i Kazakhstana: mesta obitaniya i zony elektrosetevoy opasnosti [Eagles of Russia and Kazakhstan: Habitats and Power Line Hazard Zones]. Novosibirsk: *SibekoCenter*
15. Karyakin, I. V., Nikolenko, E. G., Shnayder, E. P., Zinevich, L. S., Pulikova, G. I., Bartoszek, K., Horváth, M., Juhász, T., Aghababyan, K. & Andreyenkova, N. G. (2019). Results of the GPS/GSM-Tracking of Juvenile Steppe Eagles from Russia and Kazakhstan. *Raptors Conservation*, (39).
16. Karyakin, I. V. (2020). Populyatsionnaya struktura gnezdovogo areala orla-mogil'nika [Population structure of the breeding range of the Eastern Imperial Eagle]. *Birds of Prey and Their Conservation*, (41), 64-332
17. Kaptyonkina, A. G., Pulikova, G. I., Sagaliyev, N. A., & Karyakin, I. V. (2023). Orel-mogil'nik na yugo-vostoke Kazakhstana v 2022-2023 godakh: rasprostraneniye, chislennost', ugrozy [The Eastern Imperial Eagle in southeastern Kazakhstan in 2022-2023: Distribution, abundance, and threats]. *Birds of Prey and Their Conservation*, (2), 329-334.
18. Katzner, T. E., Bragin, E. A., & Milner-Gulland, E. J. (2006). Modelling populations of long-lived birds of prey for conservation: a study of imperial eagles (*Aquila heliaca*) in Kazakhstan. *Biological Conservation*, 132(3), 322-335.
19. Katzner, T. E., Jackson, D. S., Ivy, J., Bragin, E. A., & DeWoody, A. (2014). Variation in offspring sex ratio of a long-lived sexually dimorphic raptor, the Eastern Imperial Eagle *Aquila heliaca*. *Ibis*, 156(2), 395-403.
20. Kovalenko, A. V. (2018). O zimovkakh mogil'nika (*Aquila heliaca*) v Yugo-Vostochnom i Yuzhnom Kazakhstane [On the wintering of the Eastern Imperial Eagle (*Aquila heliaca*) in Southeastern and Southern Kazakhstan]. *Russian Ornithological Journal*, 27(1623), 2785-2786.
21. Keijmel, M., Babbington, J., Roberts, P., McGrady, M. & Meyburg, B. U. (2020). The world's largest gathering of Steppe Eagles *Aquila nipalensis* discovered in central Saudi Arabia. *Sandgrouse*, 42: 59-68.
22. Kurochkina, L. Ya. (1990). Pustyni Kazakhstana i stepen' ikh osvoennosti. In Redkie zhivotnye pustyn' [Deserts of Kazakhstan and Their Level of Development. In Rare Animals of the Deserts] Almaty, 7-23.
23. McIntyre, C. L., & Lewis, S. B. (2018). Statewide movements of non-territorial Golden Eagles in Alaska during the breeding season: Information for developing effective conservation plans. *Alaska Park Science*, 17, 65-73.
24. Murgatroyd, M., Underhill, L. G., Rodrigues, L., & Amar, A. (2016). The influence of agricultural transformation on the breeding performance of a top predator: Verreaux's Eagles in contrasting land use areas. *The Condor: Ornithological Applications*, 118(2), 238-252.
25. Nemesházi, E., Szabó, K., Horváth, Z., & Kövér, S. (2018). Genetic structure confirms female-biased natal dispersal in the White-tailed Eagle population of the Carpathian Basin. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 64(3), 243-257.

26. Nygård, T., Jacobsen, K. O., Johnsen, T. V., & Systad, G. H. (2016). Dispersal and survival of juvenile golden eagles (*Aquila chrysaetos*) from Finnmark, Northern Norway. *Journal of Raptor Research*, 50(2), 144-160.
27. Osmanova, L. T., Baigozova, G. A., & Karibaeva, K. B. (1988). *Taukumskiy stantsionar Instituta botaniki AN KazSSR. Pustynnye stantsionary Kazakhstana i Sredney Azii [Taukum Station of the Institute of Botany, Academy of Sciences of the Kazakh SSR. Desert Stations of Kazakhstan and Central Asia]*. Almaty. 11-23.
28. Real, J., & Manosa, S. (2001). Dispersal of juvenile and immature Bonelli's Eagles in northeastern Spain. *Journal of Raptor Research*, 35(1), 2.
29. Red Data Book of the Republic of Kazakhstan. Volume 1. Animals. / Ed. by Dr. R.V. Yashenko. 5th edition, revised and updated. – Almaty: Institute of Zoology, Committee of Science, Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan, 2024. – 532 p.
30. Romanova, S. M., & Kazangapova, N. B. (2003). Ozero Balkhash – unikal'naya gidroekologicheskaya sistema [Lake Balkhash – A Unique Hydroecological System]. Almaty. – 175 p.
31. Rymešová, D., Horal, D., Matušík, H., Raab, R., Spakovszky, P., & Literák, I. (2023). Dispersal of Eastern Imperial Eagles from the Czech Republic. *Journal of Vertebrate Biology*, 72(23009), -1.
32. Stoychev, S., Demerdzhiev, D., Spasov, S., Dobrev, D., & Meyburg, B. U. (2014). Survival rate and mortality of juvenile and immature Eastern Imperial Eagles (*Aquila heliaca*) from Bulgaria studied by satellite telemetry. *Slovak Raptor Journal*, 8(2014), 53-60.
33. Weiss, N., Haviv, E., Alon, D., Perlman, Y., & Schäckermann, J. (2019). How Fast Does the Steppe Eagle Population Decline? Survey Results from Eilat, Israel. *Raptors Conservation*, 38.
34. Weston, E. D., Whitfield, D. P., Travis, J. M., & Lambin, X. (2013). When do young birds disperse? Tests from studies of golden eagles in Scotland. *BMC Ecology*, 13, 1-13.

Information about authors:

Bekzhan Berdikulov (corresponding author) – Acting Head of the Department of Ornithology and Herpetology at the Institute of Zoology; Graduated from the PhD program at Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan; email: bekzhan.berdikulov@zool.kz).

Yekaterina Akentyeva – Junior Researcher at the Institute of Zoology; PhD student at Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan; email: yekaterina.akentyeva@zool.kz).

Aizhan Tashimova – Junior Researcher at the Institute of Zoology; Master of Environmental Science (Almaty, Kazakhstan; email: aizhan.tashimova@zool.kz).

Andrey Gavrilov – Candidate of Biological Sciences; Director of the Bird Ringing Center at the Institute of Zoology (Almaty, Kazakhstan; email: andrei.gavrilov@zool.kz).

Авторлар туралы мәлімет:

Бекжан Бердіқұлов (корреспондент-автор) – Зоология институтының орнитология және герпетология лабораториясының меңгерушісінің міндетін атқарушы; әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университетінің PhD оқу-бағдарламасын аяқтаған (Алматы, Қазақстан; электрондық пошта: bekzhan.berdikulov@zool.kz).

Екатерина Акентьева – Зоология институтының кіші ғылыми қызметкері; әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университетінің PhD-докторанты (Алматы, Қазақстан; электрондық пошта: yekaterina.akentyeva@zool.kz).

Айжан Ташимова – Зоология институтының кіші ғылыми қызметкері; жаратылыстану ғылымдарының магистрі (Алматы, Қазақстан; электрондық пошта: aizhan.tashimova@zool.kz).

Андрей Гаврилов – Биология ғылымдарының кандидаты; Зоология институтының құстарды сақиналау зерттеу орталығының меңгерушісі (Алматы, Қазақстан; электрондық пошта: andrei.gavrilov@zool.kz).

Н.А. Бижанова^{1,2,3*}, А.Ю. Олейников^{1,4},

С.С. Кантарбаев¹, А.А. Грачев^{1,2}

¹Институт зоологии КН МНВО РК, Алматы, Казахстан

²ОФ Wildlife Without Borders, Алматы, Казахстан

³Группа специалистов по кошачьим, Комиссия по выживанию видов МСОП, Гланд, Швейцария

⁴Группа специалистов по выдрам, Комиссия по выживанию видов МСОП, Гланд, Швейцария

*e-mail: nazerke.bizhanova@zool.kz

МЛЕКОПИТАЮЩИЕ КАЗАХСТАНСКОЙ ЧАСТИ ПРИИРТЫШСКОГО РЕГИОНА: ЭКОСИСТЕМНЫЕ УСЛУГИ, ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ И АНТРОПОГЕННАЯ НАРУШЕННОСТЬ

В данной статье рассмотрены экосистемные услуги и экономическое значение млекопитающих в экосистеме поймы реки Иртыш, а также оценена степень антропогенных нарушений региона. Полевые работы с февраля по октябрь 2023 года включали отслеживание активности млекопитающих и оценку биоразнообразия по 7 профилям двух участков, – Черного Иртыша (ЧИ) и Павлодарского Прииртышья (ПП) на севере и северо-востоке Казахстана. Определено, что 88 видов млекопитающих, обитающих в долине реки Иртыш, предоставляют 246 экосистемных услуг. Наибольшая доля в предоставлении экосистемных услуг приходится на Грызунов (65,4%), как на отряд с наибольшим количеством видов, встречающихся в регионе. Контроль численности вредителей и здоровье популяций животных и человека обеспечиваются по большей части представителями отрядов Хищные и Насекомоядные (37% и 31,5%, соответственно), а плодородие почвы в значительной степени (33%) регулируется Китопарнокопытными. Среди последних в Прииртышском регионе образовалась новая многочисленная популяция сайгака (*Saiga tatarica*). Многие экосистемные услуги предоставляются редкими и охотничьими видами млекопитающих. На основе выполненных расчетов их экономической ценности, определено, что ущерб при потере в единичном количестве охотничьих и редких видов млекопитающих на двух исследуемых участках составила 43 392 445 тенге. Учитывая хозяйственный и туристический потенциал данных видов, вся протяженность поймы р. Иртыш в Казахстане имеет высокую экономическую значимость. В результате проведенного анализа главных компонент (Principal Component Analysis, PCA) и расчета индекса антропогенной нарушенности (Anthropogenic Disturbance Index, ADI), обнаружено, что индекс ADI для профилей ЧИ значительно ниже (1.15 ± 0.1), чем для ПП (1.84 ± 0.17). Профиль 3 в ЧИ имеет наименьшую нарушенность, его можно считать наиболее значимым для сохранения биоразнообразия в регионе. В целом, млекопитающие в пойме реки Иртыш выполняют важные экосистемные услуги и имеют высокое экономическое и экосистемное значение. Наличие антропогенной нарушенности в регионе указывает на необходимость создания стратегий сохранения и рационального использования млекопитающих поймы реки Иртыш, в том числе, для смягчения последствий деградации окружающей среды и деятельности человека.

Ключевые слова: Иртыш, млекопитающие, экосистемные услуги, экономическая ценность, антропогенная нарушенность, сохранение биоразнообразия.

N. Bizhanova^{1,2,3*}, A. Oleynikov^{1,4}, S. Kantarbayev¹, A. Grachev^{1,2}

¹Institute of Zoology of the Republic of Kazakhstan, Almaty, Kazakhstan

²Wildlife Without Borders Public Fund, Almaty, Kazakhstan

³IUCN Species Survival Commission, Cat Specialist Group, Gland, Switzerland

⁴IUCN Species Survival Commission, Otter Specialist Group, Gland, Switzerland

*e-mail: nazerke.bizhanova@zool.kz

Mammals of the kazakh part of Irtysh river region: ecosystem services, economic importance and anthropogenic disturbance

This article examines ecosystem services and economic importance of mammals in the Irtysh River floodplain ecosystem and assesses the degree of anthropogenic disturbances in the region. We conducted field observations from February to October 2023 which included tracking mammal activity and

assessing biodiversity across seven sectors within two areas, the Black Irtysh and the Pavlodar Irtysh in the north and northeast of Kazakhstan. We found that 88 mammalian species inhabiting the Irtysh River valley provide 246 ecosystem services. The greatest contribution to the ecosystem services provided is presented by Rodents (65.4%), as the order with the largest number of species found in the region. Services such as Pest control and The animal and human populations' health are ensured, for the most part, by Carnivores and Insectivores (37% and 31.5%, respectively), while Soil fertility is largely regulated by Cetartiodactyls (33%). Among the latter, a substantial new population of saiga antelope (*Saiga tatarica*) has formed in the Irtysh region. Many ecosystem services are provided by rare and game mammal species. Based on calculations of their economic value, we determined that the damage from the loss of each number of game and rare species of mammals in the two study areas amounted to 43,392,445 tenge. Considering the economic and touristic potential of these species, the entire length of the Irtysh floodplain in Kazakhstan has high economic importance. As a result of the principal component analysis (PCA) and calculation of the anthropogenic disturbance index (ADI), we found that the ADI index for the Black Irtysh sectors is significantly lower (1.15 ± 0.1) than for the Pavlodar Irtysh (1.84 ± 0.17). Sector 3 in Black Irtysh has the least human disturbance and can be considered the most significant for the conservation of biodiversity in the region. In general, mammals in the Irtysh River floodplain provide important ecosystem services and are of high economic and ecosystem importance. The presence of anthropogenic disturbance in the region indicates the need to create strategies for the conservation and rational use of mammals of the Irtysh River floodplain, including mitigating the consequences of environmental degradation and human activities.

Keywords: Irtysh River, mammals, ecosystem services, economic valuation, anthropogenic disturbance, biodiversity conservation.

Н.Ә. Бижанова^{1,2,3*}, А.Ю. Олейников^{1,4}, С.С. Кантарбаев¹, А.А. Грачев^{1,2}

¹ҚР ҒЖБМ ҒК Зоология институты, Алматы, Қазақстан

²Wildlife Without Borders ҚК, Алматы, Қазақстан

³Cat Specialist Group, ХТҚО Түрлердің тірі қалу комиссиясы, Гланд, Швейцария

⁴Otter Specialist Group, ХТҚО Түрлердің тірі қалу комиссиясы, Гланд, Швейцария

*e-mail: nazerke.bizhanova@zool.kz

Қазақстандағы Ертіс өзені өңірінің сүтқоректілері: экожүйелік қызметтер, экономикалық маңызы және антропогендік бұзылуы

Бұл мақалада Ертіс өзені жайылмасының экожүйесіндегі сүтқоректілердің экожүйелік қызметтері және шаруашылық маңызы қарастырылды, сонымен қатар, аймақтағы антропогендік бұзылулардың дәрежесі бағаланды. 2023 жылдың ақпан-қазан айлары аралығындағы дала жұмыстары сүтқоректілердің белсенділігін бақылауды және Қазақстанның солтүстігі мен солтүстік-шығысындағы екі учаскенің – Қара Ертіс және Ақ Ертіс аймағының 7 аймағы бойынша биоәртүрлілікті бағалауды қамтыды. Зерттеу нәтижесінде Ертіс өзенінің аңғарында мекендейтін сүтқоректілердің 88 түрі 246 экожүйелік қызмет атқаратыны анықталды. Экожүйелік қызметтерді атқаруда ең көп үлесті Кеміргіштер (65,4%) қосады, бұл аймақта кездесетін түрлердің ең көп санына байланысты болуы керек. Зиянкестердің санын бақылауды және жануарлар мен адам популяциясының денсаулығын қадағалау бойынша негізгі үлесті Жыртқыштар мен Жәндікқоректілер қамтамасыз етеді (тиісінше 37% және 31,5%), ал топырақ құнарлығы көп мөлшерде Китжүптіяқтылармен (33%) реттеледі. Соңғыларының ішінде Ертіс өңірінде ақбөкеннің (*Saiga tatarica*) жаңа, үлкен популяциясы қалыптасты. Көптеген экожүйе қызметтерін сирек және ауланатын сүтқоректілер атқарады. Олардың экономикалық құндылығын есептеу негізінде екі зерттелетін аумақта ауланатын және сирек кездесетін сүтқоректілердің жекелеп санының жойылуынан келтірілген шығын 43 392 445 теңгені құрайтыны анықталды. Бұл түрлердің жоғары экономикалық әлеуетін ескере отырып, Қазақстандағы Ертіс өзені жайылмасының экономикалық маңызы жоғары екенін дәлелдейді. Негізгі компоненттардың талдауы (Principal Component Analysis, PCA) және антропогендік бұзылулар индексі (Anthropogenic Disturbance Index, ADI) есептеу нәтижесінде Қара Ертіс аймақтары үшін ADI индексі Ақ Ертіске қарағанда айтарлықтай төмен (тиісінше $1,15 \pm 0,1$ vs $1,84 \pm 0,17$) екені анықталды. Қара Ертісегі үшінші аймақ ең аз бұзылуға ие және зерртеу аумағындағы биоәртүрлілікті сақтау үшін ең маңызды деп санауға болады. Жалпы, Ертіс өзенінің жайылмасындағы сүтқоректілер маңызды экожүйе қызметтерін атқарады және олардың экономикалық және экожүйелік маңызы жоғары. Аймақта антропогендік бұзылыстың болуы Ертіс өзенінің жайылмасының сүтқоректілерін сақтау және ұтымды пайдалану, оның ішінде қоршаған ортаның деградациясының және адамның шаруашылық әрекетінің салдарын жеңілдету бойынша стратегияларды құру қажеттілігін көрсетеді.

Түйін сөздер: Ертіс, сүтқоректілер, экожүйелік қызметтер, экономикалық құндылық, антропогендік бұзылуы, биоалуантүрлілікті сақтау.

1. Введение

Видовое разнообразие и высокий уровень межвидового взаимодействия в значительной степени влияют на адаптивность и устойчивость компонентов экосистемы к негативным изменениям окружающей среды (например, антропогенное воздействие на местообитания, изменение климата) [1]. Считается, что чем выше биоразнообразие и чем более сложны трофические связи в экосистеме, тем выше ее устойчивость, возможность поглощать нарушения и восстанавливаться после них, сохраняя экологический баланс и стабильность [2, 3]. Экосистемы с более высоким видовым богатством демонстрируют большую устойчивость к инвазивным видам и трансформации окружающей среды, что способствует сохранению и восстановлению аборигенных популяций.

Млекопитающие (Mammalia) играют значительную роль в поддержании и функционировании экосистем, однако, на сегодняшний день, страдают от сокращения площади местообитаний, инвазивных видов [4], а также изменения климата [5]. Снижение численности видов млекопитающих негативно влияет как на общее состояние экосистемы, так и на экосистемные услуги, которые они оказывают. Экосистемные услуги подразумевают разнообразные функции и продукты, обеспечиваемые экосистемами, жизненно важные или полезные для благополучия человека [6]. В социально-экономическом аспекте эти услуги играют существенную роль, поскольку они прямо или косвенно повышают наше социальное благосостояние и качество жизни. Согласно Lacher et al. [7], с экологической точки зрения и в контексте ключевых компонентов здорового функционирования экосистемы, млекопитающие выполняют ряд значимых экосистемных функций. К таким услугам относятся регуляция численности вредителей, дисперсия и запасание семян различных растений, участие в круговороте энергии и питательных веществ, опыление, выполнение роли экосистемных инженеров, а также реализация трофических взаимодействий через хищничество и травоядность.

Многие виды млекопитающих являются ключевыми для экосистем, формируя и изменяя их в зависимости от своих экологических функций [7]. Например, хищные и травоядные млекопитающие влияют на структуру и функционирование экосистемы посредством потребления добычи [8, 9]. Крупные растительноядные млекопитающие (например, сайгак (*Saiga tatarica*

Linnaeus, 1766), лось (*Alces alces* Linnaeus, 1758), кабан (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758), сибирская козуля (*Capreolus pygargus* Pallas, 1771)) и хищные (например, волк (*Canis lupus* Linnaeus, 1758), лисица (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758), выдра (*Lutra lutra* Linnaeus, 1758)) могут оказывать значительное влияние на первичных продуцентов в наземных и водных биотопах посредством круговорота питательных веществ, потоков энергии и воздействия на процессы «снизу вверх» и «сверху вниз». Мелкие млекопитающие, такие как летучие мыши, являются разносчиками плодов и потребителями членистоногих, а другие, особенно грызуны, являются важными распространителями семян.

Другие виды выполняют роль эдификаторов (например, бобры (*Castor fiber* Linnaeus, 1758)), создавая или преобразуя среду обитания, и тем самым изменяя структуру и функции экосистемы, повышая ее гетерогенность и биоразнообразие. Несомненно, что воздействие млекопитающих на экосистемы играет важную биоценотическую роль и оказывает экосистемные услуги, полезные в хозяйственной жизнедеятельности человека, такие как опыление сосудистых растений, зоохория, регуляция численности больных животных, поедание падали и др.

Разнообразие функциональных ролей многочисленных видов млекопитающих вносит значительный вклад в формирование и поддержание структуры и процессов экосистем Казахстана, включая экосистемы долины реки Иртыш. Здесь отмечается уникальное видовое разнообразие млекопитающих, тем не менее, нынешнее состояние их популяций ухудшается в нескольких участках поймы реки. Так, при сравнении с видовым разнообразием и ключевыми местами обитания млекопитающих из разных регионов мира, пойма реки Иртыш имеет высокий уровень деградации местообитаний и сравнительно низкое разнообразие хищных млекопитающих [10], – всего 15 видов (17,2%), большинство из которых в регионе встречается редко [11]. Для сохранения и рационального использования млекопитающих долины реки Иртыш назрела необходимость проанализировать и классифицировать предоставляемые этими видами экосистемные услуги на региональном уровне.

Важным элементом оценки значения млекопитающих в жизнедеятельности человека является расчет их экономической значимости и возможного ущерба в случае их утраты. Такие оценки позволяют сравнивать экономическое

значение млекопитающих, населяющих разные территории в соответствии с принятыми законодательными нормативами, и могут быть полезны для комплексной оценки. И еще один значимый параметр, который мы выделили в нашей работе – поиск наиболее значимых факторов антропогенного воздействия на пойменные экосистемы и териофауну северо-восточного Казахстана. Этот момент позволит приблизиться к пониманию комплексной роли млекопитающих в экосистемах и современных трендов.

В качестве одного из первых шагов по сохранению и рациональному использованию млекопитающих поймы реки Иртыш, в данной работе перед нами поставлено несколько задач:

i) провести классификацию и анализ предостав-

ляемых млекопитающими экосистемных услуг в пойме реки Иртыш, их биоценотическую роль; ii) оценить экономическое значение и степень нарушенности местообитаний для охотничьих и редких видов млекопитающих бассейна реки Иртыш.

2. Материалы и методы исследований

Методы сбора

В феврале-мае и сентябре-октябре 2023 г. были проведены исследования на двух участках поймы реки Иртыш, расположенных в Восточно-Казахстанской, Павлодарской и Абайской областях – в пределах Черного Иртыша (ЧИ) и Павлодарского Прииртышья (ПП) (рисунок 1).

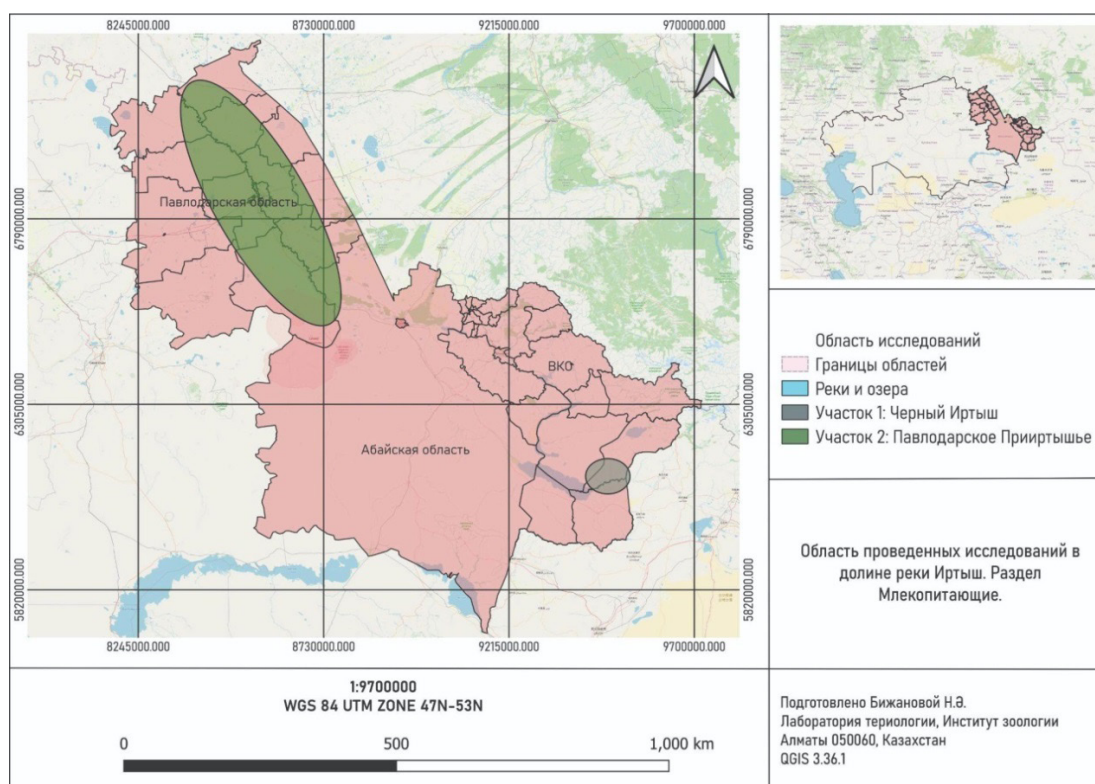


Рисунок 1 – Область исследования. Черный Иртыш (ЧИ) и Павлодарское Прииртышье (ПП) (Восточно-Казахстанская, Абайская и Павлодарские области)

Общая длина автомобильных и пеших маршрутов составила 854 км, в том числе около 220 км русла рек Черный Иртыш и Иртыш. Всего на этих участках был собран материал из 699 следов жизнедеятельности млекопитающих (экскременты, отпечатки лап, жилища, норы и т.д.).

Для оценки антропогенной нарушенности и биоразнообразия полевые стационарные иссле-

дования выполнены на семи профилях, равномерно расположенных в долине р. Иртыш (ЧИ – 3 профиля, ПП – 4 профиля):

ЧИ: профиль 1 N 47.9998, E85.35065;
профиль 2 N 48.0014, E 85.17249;
профиль 3 N 47.9103, E 84.93183.

ПП: профиль 4 N 50.92041, E 78.24296;
профиль 5 N 52.40234, E76.90971;

профиль 6 N 52.68825, E 76.70360;
профиль 7 N 53.54126, E 75.28732.

Исследования млекопитающих проведены стандартными и дистанционными методами с использованием дальномеров и биноклей [12, 13]. Для подготовки рисунков мы применяли CorelDRAW Graphic Suite 2017x64, Craiyon ver. 3 и CorelDRAW Graphic Suite 2017x64, для подготовки карты – QGIS 3.36.1.

Методы оценки/расчета экосистемных услуг

Мы рассмотрели экосистемные услуги, предоставляемые млекопитающими поймы р. Иртыш, на основе экологической концепции Lacher et al. [7], с некоторыми модификациями (таблица 1). В таблице 1 и нашем анализе экосистемных услуг, мы объединили две услуги, “распространение и запасание семян”, в одну – “распространение семян”, так как они имеют схожую конечную цель для экосистемы. Помимо этого, мы не стали включать такую услугу, как “цикл энергии и питательных веществ” в таблицу 1, так как все обитающие в пойме реки Иртыш виды выполняют эту услугу. Тем не менее, в последующем анализе мы описали такой важный аспект, как практическая ценность, которая могла включать понятия промысловой добычи и рационального использования видов.

На основе литературного анализа, мы классифицировали такие услуги, как травоядность и хищничество только в тех случаях, когда встречаемость растительного (зеленоядность, зерноядность) или животного корма (насекомоядность, плотоядность) была 20–30% и выше. Так, например, в случае, когда у типично растительных видов млекопитающих в пойме р. Иртыш корм животного происхождения составлял в году или по сезонам, в среднем, от 20–30% и выше, мы относили его к всеядным животным (травоядно–всеядным) [14], и добавляли знак “+” в пункт “Хищничество”.

Такое понятие, как “экосистемная инженерия” подразумевает организмы, которые прямо или косвенно обеспечивают доступ ресурсов для других видов, изменяя, поддерживая и создавая среду обитания [15]. Их исчезновение может привести к каскаду изменений – от сокращения численности отдельных видов до потери стабильности всего биотопа [16]. К экосистемным инженерам можно отнести такой вид–эдификатор, как европейский бобр (*Castor fiber*), другими ключевыми для экосистемы видами являются кабан (*Sus scrofa*) (благодаря своей активной

роющей деятельности) и норные виды мелких млекопитающих (некоторые виды Грызунов и Насекомоядных).

Расчет стоимости видов в долине реки Иртыш

Расчет стоимости охотничьих и редких видов млекопитающих для оценки экономического урона был произведен на 1000 га для Черного Иртыша и Павлодарского Прииртышья по формуле:

$$M = \sum_{i=1}^n \text{МРП}_i \cdot D_i,$$

где M – стоимости охотничьих и редких видов млекопитающих на 1000 га;

МРП_i – размер возмещения вреда для вида i (группы видов);

D_i – плотность населения вида i особей/1000 га.

В качестве размера возмещения вреда плотность населения охотничьих и редких видов для изучаемых территорий приведена по литературным и экспертным данным. Мы исключили виды, встречающиеся заходами (рысь, россомаха), и дополнительно включили виды, включенные в Красную Книгу Республики Казахстан.

Для оценки экономического ущерба были использованы Размеры возмещения вреда, причиненного нарушением законодательства РК в области охраны, воспроизводства и использования животного мира, в редакции приказа Министра экологии и природных ресурсов РК от 30.01.2024 №13. (<https://adilet.zan.kz/rus/docs/V2400033952#z6>)

Методы статистического анализа данных

Для оценки факторов антропогенной нагрузки и разнообразия териофауны исследования проведены на семи профилях, также использованы данные с сайта Бюро национальной статистики агентства по стратегическому планированию и реформам Республики Казахстан (<https://stat.gov.kz/>). Для расчета числового значения нарушенности территории V_i для каждого профиля мы использовали 12 показателей, характеризующих антропогенную нарушенность, использование территории и отражающих их биоразнообразие. Такой подход позволяет комплексно оценить значимость каждого участка на основе нескольких экологических параметров. Показатель отражает степень антропогенного воздействия и сохранность окружающей среды. Мы рассматривали следующие параметры:

b_i – количество следов жизнедеятельности всех видов млекопитающих на 1 км маршрута для каждого профиля;

n_i – количество видов млекопитающих, которые отмечены нами на маршрутах во время проведения исследований на профиле i ;

d_i – расстояние до ближайшего населенного пункта от профиля i ;

m_i – количество видов, находящихся под угрозой исчезновения и требующих особой защиты (внесенных в ККРК) в районе профиля i ;

k_i – показатель разнообразия (количества) и наличия природных экосистем для профиля i ;

l_i – экспертная оценка степени нарушенности территории на основе полевых наблюдений, включая наличие троп, дорог, мест отдыха людей, летних ферм и загонов для животных, бытового и промышленного мусора у профиля i (1–5 баллов) 1 – высокая нарушенность, 5 – низкая;

p_i – коэффициент природоохранного статуса территории для профиля i . Коэффициент 1,1 для охраняемой территории, 1,0 – для не охраняемой территории;

LS_i – коэффициент нарушенности экосистемы из-за пастбищного скотоводства, которое может приводить к деградации природных биотопов для профиля i . Оценивали по наблюдениям на маршрутах, давали экспертную оценку по профилям (10 – скот отсутствует, 0 – очень высокая нарушенность);

DLS_i – уровень плотности крупного рогатого скота (КРС/кв. км) для профиля i согласно данным Бюро национальной статистики агентства по стратегическому планированию и реформам Республики Казахстан <https://stat.gov.kz/>;

H_i – количество населения тыс. чел. в области диаметром 10 км вокруг каждого профиля i ;

h_i – плотность населения ч/кв. км в административном районе расположения профиля i , согласно данным Бюро национальной статистики агентства по стратегическому планированию и реформам Республики Казахстан <https://stat.gov.kz/>;

Анализы проводились с использованием R 4.4.1 [17], с использованием пакетов «factoextra» [18], «tidyverse» [19] и «ggplot2» [20]. Мы использовали анализ главных компонент (PCA) для переменных человеческого воздействия

[21]. Мы использовали первые два главных компонента (PC1, PC2) в качестве объясняющих переменных в обобщенных результатах.

Мы также использовали Индекс антропогенной нарушенности (Anthropogenic Disturbance Index, ADI) по отдельным профилям [22]:

$$ADI = 1 - \left(\frac{(a_i - a_{min})}{(a_{min} - a_{max})} \right),$$

где a_i – значение первой главной компоненты (PC1) для профиля, a_{min} – минимальное значение PC1 для всех профилей, a_{max} – максимальное значение PC1 для всех профилей.

ADI рассчитывался от 1 до 2, и чем ниже показатель нарушенности ADI, тем менее нарушенная и более потенциально ценная территория (1 – не нарушенная или слабо нарушенная, 2 – сильно нарушенная). Формула учитывает суммарный вклад каждого параметра и позволяет оценить текущее состояние территории с точки зрения ее экологической ценности и степени нарушенности.

3. Результаты исследования и их обсуждение

Согласно литературным источникам [23–25] и нашим собственным наблюдениям, в пределах казахстанского участка долины р. Иртыш и прилегающих территорий обитает 88 видов млекопитающих, относящихся к 6 отрядам и 20 семействам. Среди них отмечены 5 видов, включенных в Красную книгу Республики Казахстан, 6 инвазивных и 29 охотничье-промысловых видов. Из общего числа видов: 45 относятся к отряду Грызунов, 4 – к Зайцеобразным, 4 – к Китопарнокопытным, 15 – к Хищным, 9 – к Рукокрылым и 11 видов – к Насекомоядным (рисунок 2). В 2023 году на двух обследованных участках нами были зафиксированы 17 видов млекопитающих, принадлежащих к 4 отрядам, 9 семействам и 15 родам [11].

Ниже указаны виды и отряды, встречающиеся на Черном Иртыше и Павлодарском Прииртышье [11], а также их функциональная роль в экосистеме (таблица 1, рисунок 3).

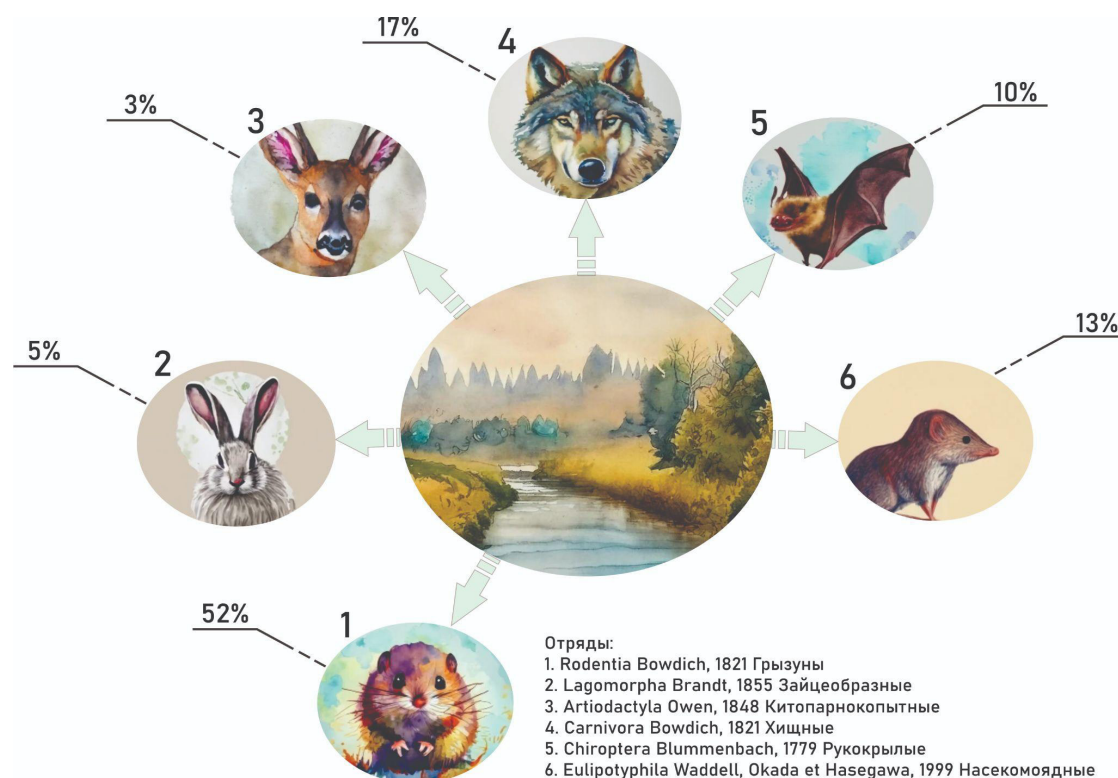


Рисунок 2 – Териофауна поймы реки Иртыш и видовое соотношение (%)

Таблица 1 – Экосистемные услуги, предоставляемые млекопитающими долины реки Иртыш (классификация по Lacher et al. [7]), согласно материалам многотомного труда «Млекопитающие Казахстана» [26-34]. Условные обозначения в таблице: область распространения: «ЧИ» – Черный Иртыш, «ПП» – Павлодарское Прииртышье; Категория встречаемости вида: «М» – многочисленный, «О» – обычный, «Р» – редкий, «З» – регулярно заходящий, «ККРК» – занесенный в Красную книгу РК

Название таксона		Предоставляемые экосистемные услуги и биоценоотические роли							Всего услуг	Категория вида и область распространения	
на латинском языке	на русском языке	Борьба с вредителями	Распространение семян	Плодородие почвы	Опыление	Экосистемная инженерия	Хищничество	Травоядность		ЧИ	ПП
отряд Rodentia Bowdich, 1821 – Грызуны											
Семейство Sciuridae Fischer, 1817 – Беличьи											
<i>Pteromys volans</i> Linnaeus, 1758	обыкновенная летяга		+	+	+			+	4	-	Р
<i>Sciurus vulgaris</i> Linnaeus, 1758	обыкновенная белка	+	+		+		+	+	5	-	О
<i>Spermophilus erythrogenys</i> Brandt, 1841	краснощёкий суслик		+			+		+	3	-	О
<i>Spermophilus brevicauda</i> Brandt, 1843	средний суслик	+	+			+		+	4	О	-
<i>Urocytellus undulatus</i> Pallas, 1778	длиннохвостый суслик		+			+		+	3	О	-
<i>Marmota bobak</i> Müller, 1776	степной сурик		+			+		+	3	-	О

Продолжение таблицы

Название таксона		Предоставляемые экосистемные услуги и биоценоотические роли								Всего услуг	Категория вида и область распространения	
на латинском языке	на русском языке	Борьба с вредителями	Распространение семян	Плодородие почвы	Опыление	Экосистемная инженерия	Хищничество	Травянистость	ЧИ		ПП	
Семейство Gliridae Thomas, 1897 (1819) – Соневые												
Dryomys nitedula Pallas, 1779	лесная соня		+					+	2	Р	-	
Семейство Castoridae Hemprich, 1820 – Бобровые												
Castor fiber Linnaeus, 1758	европейский бобр					+		+	2	-	О	
Семейство Sminthidae Brandt, 1855 – Мышовковые												
Sicista subtilis Pallas, 1773	степная мышовка	+	+				+	+	4	О	М	
Sicista betulina Pallas, 1779	лесная мышовка		+					+	2	-	Р	
Семейство Cardiocraniidae Vinogradov, 1925 – Карликовые тушканчики												
Cardiocranius paradoxus Satunin, 1903	пятипалый карликовый тушканчик		+					+	2	ККРК, Р	-	
Salpingotus crassicauda Vinogradov, 1924	жирнохвостый карликовый тушканчик		+			+	+	+	4	ККРК, Р	-	
Семейство Dipodidae Fischer, 1817 – Трехпалые тушканчики												
Dipus sagitta Pallas, 1773	мохноногий тушканчик		+			+		+	3	О	О	
Stylodipus telum Lichtenstein, 1823	обыкновенный емуранчик		+			+		+	3	О	-	
Семейство Allactagidae Vinogradov, 1925 – Пятипалые тушканчики												
Allactaga major Kerr, 1792	большой тушканчик		+			+	+	+	4	О	О	
Allactaga elater Lichtenstein, 1825	малый тушканчик		+			+		+	3	О	-	
Allactaga sibirica Forster, 1778	тушканчик-прыгун		+			+	+	+	4	Р	-	
Pygeretmus pumilio Kerr, 1792	тарбаганчик		+			+		+	3	Р	-	
Pygeretmus platyurus Lichtenstein, 1823	толстохвостый тушканчик		+			+		+	3	Р	-	
Семейство Cricetidae Fischer, 1817 – Хомяковые												
Phodopus roborovskii (Satunin, 1903)	хомячок Роборовского		+			+	+	+	4	ККРК, Р	-	
Phodopus sungorus Pallas, 1773	джунгарский хомячок	+	+				+	+	4	-	Р	
Cricetus cricetus Linnaeus, 1758	обыкновенный хомяк		+			+	+	+	4	Р	О	
Allocricetulus evermanni Brandt, 1859	хомячок Эверсмана	+	+		+	+	+	+	6	-	О	
Allocricetulus curtatus Allen, 1925	монгольский хомячок		+			+	+	+	4	О	-	
Cricetulus barabensis Pallas, 1773	барабинский хомячок		+			+	+	+	4	-	Р	
Cricetulus migratorius Pallas, 1773	серый хомячок		+			+	+	+	4	-	Р	

Продолжение таблицы

Название таксона		Предоставляемые экосистемные услуги и биоценоотические роли							Всего услуг	Категория вида и область распространения	
на латинском языке	на русском языке	Борьба с вредителями	Распространение семян	Плодородие почвы	Опыление	Экосистемная инженерия	Хищничество	Травянистость		ЧИ	ПП
<i>Ondatra zibethicus</i> Linnaeus, 1766	ондатра		+			+		+	3	О	О
<i>Myodes rutilus</i> Pallas, 1779	красная полёвка		+					+	2	-	О
<i>Alticola strelzowi</i> Kastschenko, 1899	плоскочерепная полёвка		+		+		+	+	4	-	Р
<i>Ellobius tancrei</i> Blasius, 1884	восточная слепушонка		+	+		+		+	4	-	О
<i>Lagurus lagurus</i> Pallas, 1773	степная пеструшка	+	+			+	+	+	5	Р	Р
<i>Eolagurus luteus</i> Eversmann, 1840	жёлтая пеструшка		+		+	+		+	4	ККРК, Р	-
<i>Arvicola amphibius</i> Linnaeus, 1758	водяная полёвка		+			+		+	3	О	О
<i>Microtus gregalis</i> Pallas, 1779	узкочерепная полёвка		+		+	+		+	4	Р	М
<i>Microtus oeconomus</i> Pallas, 1776	полёвка-экономка		+			+		+	3	О	О
<i>Microtus socialis</i> Pallas, 1773	общественная полёвка		+		+	+		+	4	-	Р
<i>Microtus arvalis</i> Pallas, 1778	обыкновенная полёвка		+		+			+	3	О	О
<i>Microtus rossiaemeridionalis</i> Ognev, 1924	восточноевропейская полёвка		+			+		+	3	-	Р
Семейство Muridae – Мышиные											
<i>Micromys minutus</i> Pallas, 1771	мышь-малютка		+		+		+	+	4	Р	Р
<i>Apodemus uralensis</i> Pallas, 1811	малая лесная мышь		+		+	+	+	+	5	М	М
<i>Apodemus agrarius</i> Pallas, 1771	полевая мышь		+			+	+	+	4	О	М
<i>Mus musculus</i> Linnaeus, 1758	домовая мышь		+					+	2	О	М
<i>Rattus norvegicus</i> Berkenhout, 1769	серая крыса		+			+	+	+	4	О	М
<i>Meriones tamariscinus</i> Pallas, 1773	тамарисковая песчанка		+		+	+	+	+	5	О	-
<i>Meriones meridianus</i> Pallas, 1773	полуденная песчанка		+			+	+	+	4	О	-
Отряд Lagomorpha Brandt, 1855 – Зайцеобразные											
Семейство Ochotonidae Thomas, 1897 – Пищуховые											
<i>Ochotona pusilla</i> Pallas, 1769	малая (степная) пищуха		+			+		+	3	О	О
Семейство Leporidae Brandt, 1855 – Зайцеобразные											
<i>Lepus timidus</i> Linnaeus, 1758	заяц беляк					+		+	2	О	О
<i>Lepus europaeus</i> Pallas, 1778	заяц русак		+			+		+	3	-	О
<i>Lepus tolai</i> Linnaeus, 1758	заяц толай					+		+	2	О	-
Отряд Cetartiodactyla Montgelard et al., 1997 – Китопарнокопытные											
Семейство Bovidae Gray, 1821 – Половогие											
<i>Saiga tatarica</i> Linnaeus, 1766	сайгак							+	1	-	М

Продолжение таблицы

Название таксона		Предоставляемые экосистемные услуги и биоценотические роли							Всего услуг	Категория вида и область распространения	
на латинском языке	на русском языке	Борьба с вредителями	Распространение семян	Плодородие почвы	Опыление	Экосистемная инженерия	Хищничество	Травоядность		ЧИ	ПП
Семейство Suidae Gray, 1821 – Свиные											
<i>Sus scrofa</i> Linnaeus, 1758	кабан			+		+		+	3	О	О
Семейство Cervidae Goldfuss, 1820 – Олени											
<i>Capreolus pygargus</i> Pallas, 1771	сибирская косуля							+	1	М	М
<i>Alces alces</i> Linnaeus, 1758	европейский лось							+	1	-	Р
Отряд Carnivora Bowdich, 1821 – Хищные											
Семейство Canidae Fischer, 1817 – Псовые											
<i>Canis lupus</i> Linnaeus, 1758	волк	+					+		2	Р	О
<i>Nyctereutes procyonoides</i> Gray, 1834	енотовидная собака	+	+				+		3	-	Р
<i>Vulpes corsac</i> Linnaeus, 1768	корсак	+					+		2	Р	Р
<i>Vulpes vulpes</i> Linnaeus, 1758	обыкновенная лисица	+					+		2	О	О
Семейство Mustelidae Fischer, 1817 – Куны											
<i>Martes martes</i> Linnaeus, 1758	лесная куница	+	+				+		3	-	ККРК, О
<i>Gulo gulo</i> Linnaeus, 1758	росяха						+		1	Р, 3	-
<i>Meles leucurus</i> Hodgson, 1847	азиатский барсук	+	+				+		3	О	М
<i>Mustela altaica</i> Pallas, 1811	солонгой	+					+		2	Р	-
<i>Mustela nivalis</i> Linnaeus, 1766	ласка	+					+		2	Р	Р
<i>Mustela erminea</i> Linnaeus, 1758	горностай	+					+		2	Р	Р
<i>Mustela eversmanii</i> Lesson, 1827	степной хорь	+					+		2	О	О
<i>Neogale vison</i> Schreber, 1777	американская норка	+					+		2	О	Р
<i>Lutra lutra</i> Linnaeus, 1758	выдра						+		1	О	-
Семейство Felidae Fischer, 1817 – Кошачьи											
<i>Lynx lynx</i> Linnaeus, 1758	обыкновенная рысь	+					+		2	-	Р, 3
<i>Felis lybica</i> Forster, 1780	степная кошка	+					+		2	Р	-
Отряд Chiroptera Blumenbach, 1779 – Рукокрылые											
Семейство Vespertilionidae Gray, 1821 – Гладконосые											
<i>Myotis dasycneme</i> Boie, 1825	прудовая ночница						+		1	-	Р
<i>Myotis daubentonii</i> Kuhl, 1817	водяная ночница	+					+		2	О	-
<i>Myotis mystacinus</i> Kuhl, 1817	усатая ночница	+					+		2	-	О
<i>Plecotus auritus</i> Linnaeus, 1758	бурый ушан	+					+		2	О	О
<i>Plecotus austriacus</i> J. Fischer, 1829	серый ушан	+					+		2	-	О
<i>Nyctalus noctula</i> Schreber, 1774	рыжая вечерница	+					+		2	О	О
<i>Vespertilio murinus</i> Linnaeus, 1758	двухцветный кожан						+		1	Р	-
<i>Eptesicus serotinus</i> Schreber, 1774	поздний кожан						+		1	-	О
<i>Eptesicus nilssonii</i> Keyserling and Blasius, 1839	северный кожанок						+		1	-	О

Продолжение таблицы

Название таксона		Предоставляемые экосистемные услуги и биоценотические роли							Всего услуг	Категория вида и область распространения	
на латинском языке	на русском языке	Борьба с вредителями	Распространение семян	Плодородие почвы	Опыление	Экосистемная инженерия	Хищничество	Травоядность		ЧИ	ПП
Отряд Eulipotyphila Waddell, Okada et Hasegawa, 1999 – Насекомоядные											
Семейство Erinaceidae Fischer, 1814 – Ежовые											
<i>Erinaceus roumanicus</i> Barrett-Hamilton, 1900	южный еж	+				+	+		3	-	О
<i>Hemiechinus auritus</i> Gmelin, 1770	ушастый ёж	+					+		2	О	М
Семейство Soricidae Gregory, 1910 – Землеройковые											
<i>Crocidura suaveolens</i> Pallas, 1811	малая белозубка	+					+		2	О	О
<i>Crocidura sibirica</i> Dukelsky, 1930	сибирская белозубка	+					+		2	О	-
<i>Neomys fodiens</i> Pennant, 1771	обыкновенная кутора	+					+		2	-	О
<i>Sorex araneus</i> Linnaeus, 1758	обыкновенная бурозубка	+				+	+		3	-	Р
<i>Sorex tundrensis</i> Kerr, 1792	бурозубка тундрная	+					+		2	-	О
<i>Sorex caecutiens</i> Laxmann, 1785	средняя бурозубка	+					+		2	-	Р
<i>Sorex daphaenodon</i> Thomas, 1907	крупнозубая бурозубка	+					+		2	-	О
<i>Sorex minutissimus</i> Zimmermann, 1780	крошечная бурозубка	+					+		2	-	О
<i>Sorex minutus</i> Linnaeus, 1766	малая бурозубка	+					+		2	-	О
ВСЕГО		35	49	3	11	40	55	53	246		

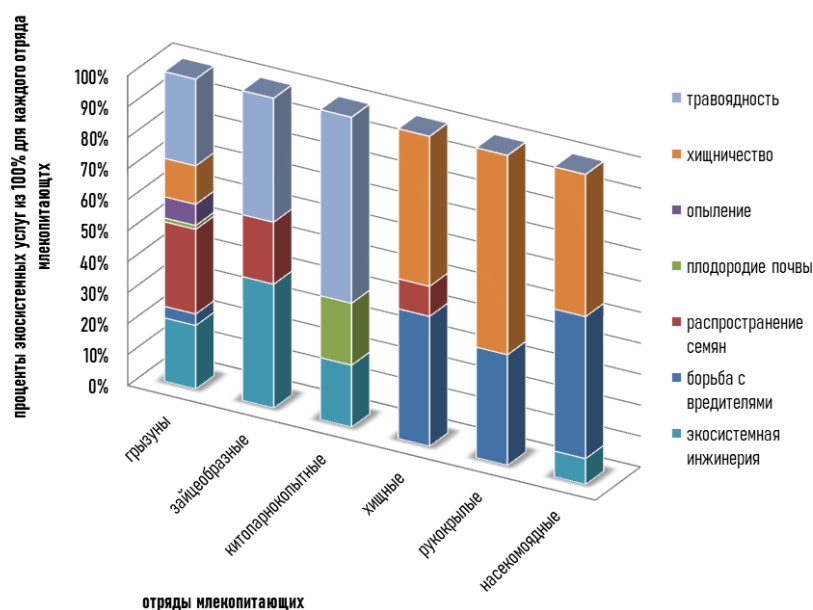


Рисунок 3 – Процентное соотношение экосистемных услуг по отрядам млекопитающих

Согласно анализу данных (рисунок 3), по трофическому уровню, 39,8% млекопитающих питаются преимущественно животными кормами, 37,5% – растительными, а в рационе остальных 22,7% присутствуют как растительные, так и животные корма. Как экосистемная услуга, хищничество преобладало у Рукокрылых, Хищных и Насекомоядных (64%, 48% и 46% из 100% оказываемых ими услуг, соответственно), для которых травоядность не характерна. Противоположная ситуация обнаружена у Китопарнокопытных и Зайцеобразных (предоставляемые услуги по травоядности – 60; и 40% из общей доли услуг, соответственно). У Грызунов, среди которых имеется большое количество всеядных видов, доля травоядности составил 28%, хищничества – 12%.

Грызуны играют наиболее заметную роль в распространении семян и опылении (27% и 6,8% из 100% оказываемых ими услуг). В меньшей степени предоставление услуги дисперсии семян характерно для Зайцеобразных и Хищных (20% и 10%, соответственно).

Насекомоядные потребляют больше всего (46%) вредителей (жуки, саранча и т.д.), далее Хищные и Рукокрылые (42% и 36%, соответственно). Среди Грызунов роль услуги по борьбе с вредителями низка (всего 4%), у Зайцеобразных и Китопарнокопытных имеет случайный характер.

Услуга по улучшению плодородия почвы, согласно анализу, преобладает у Китопарнокопытных (20% из их услуг) и незначительна у Грызунов (1%). При этом, надо учитывать, что

услуга обеспечения плодородия почвы, помимо ее активной аэрации, которую обеспечивают такие виды, как восточная слепушонка и кабан, оказывают абсолютно все виды, являясь частью трофической пирамиды (цикл обмена веществ и энергии).

Услуги по экосистемной инженерии отмечаются у всех Зайцеобразных (вследствие чего, указывается как 40% из всех оказываемых ими услуг), у ряда грызунов и копытных (по 20%). У Насекомоядных эта функция отмечается у 8% их видов.

Сайгак – растительноядный вид, ведущий кочевой образ жизни, – играет важную роль в биоценозах Прииртышья, способствуя повышению продуктивности экосистем. С учётом его высокой экономической и экологической значимости, а также биологических особенностей (дальние миграции, постоянная смена мест обитания на территории разных административных районов и областей Прииртышья), оценку экосистемных услуг и экономического значения сайгака необходимо проводить отдельно. При этом следует учитывать антропогенные факторы, включая влияние линейной инфраструктуры, которая может препятствовать миграциям вида.

В целом, высокий показатель оказываемых услуг у некоторых отрядов (Рисунок 3) подразумевает не столько значимость этих видов для обеспечения определенной услуги, сколько указывает на частоту встречаемости этой услуги в определенном отряде. Вклад отрядов в экосистемные услуги представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Вклад отрядов млекопитающих в обеспечение экосистемных услуг (%), где БВ – борьба с вредителями, РС – распространение семян, ОПП – обеспечение плодородия почвы, О – опыление, ЭИ – экосистемная инженерия, Х – хищничество, Т – травоядность

Отряды	БВ	РС	ПП	О	ЭИ	Х	Т
Грызуны (n = 45)	17	90	67	100	82,5	36,35	86,5
Зайцеобразные (n = 4)	0	4	0	0	10	0	7,7
Китопарнокопытные (n = 4)	0	0	33	0	2,5	0	7,7
Хищные (n = 15)	37	6	0	0	0	27,3	0
Рукокрылые (n = 9)	14,5	0	0	0	0	16,35	0
Насекомоядные (n = 11)	31,5	0	0	0	5	20	0
Всего	100	100	100	100	100	100	100

Результаты анализа показали, что млекопитающие, обитающие в бассейне реки Иртыш, обеспечивают в совокупности 246 экосистемных

услуг. Наибольшая доля по частоте проявления экосистемных функций принадлежит Грызунам, на долю которых приходится 65,4%.

В то же время ключевые экосистемные услуги, такие как регуляция численности вредителей и поддержание здоровья диких животных и человека, преимущественно обеспечиваются представителями отрядов Хищные (37%) и Насекомоядные (31,5%).

Регуляция плодородия почв, критически важного элемента стабильности экосистем, в значительной степени (33%) связана с деятельностью Китопарнокопытных.

Таким образом, можно заключить, что различные отряды млекопитающих выполняют взаимодополняющие функции, в совокупности способствуя поддержанию устойчивости и функциональной целостности экосистем.

Оценка экономического значения охотничьих и редких видов млекопитающих бассейна р. Иртыш

Оценка экономического значения охотничьих и редких видов млекопитающих важна для рационального управления территориями и принятия управленческих решений. В дальнейшем она может быть использована как база для расчета ущербов при изъятии территорий для хозяйственного использования в интересах промышленности, транспорта и т.д. Данные для расчета и итоговые суммы расчета на одну тысячу гектар приведены в Таблице 3.

Таблица 3 – Расчет стоимости охотничьих и редких видов млекопитающих на 1000 га для Черно-го Иртыша и Павлодарского Прииртышья

Вид (группа видов)	Размеры возмещения вреда в месячных расчетных показателях (за каждую особь)	Плотность на 1000 га	
		ЧИ	ПП
1	2	3	4
Белка обыкновенная	5	-	20
Речной бобр	15	-	0,34
Ондатра	5	20	30
Сурок (байбак)	10	-	10
Суслик (краснощекий, средний, длиннохвостый)	5	200	250
Зайцы (беляк, русак, толай)	5	10	16
Корсак	5	1	1
Лисица	5	4	4
Енотовидная собака	10	-	0,5
Барсук азиатский	10	5	3,5
Выдра северная	10	0,1	-
Американская норка	10	0,3	0,2
Лесная куница	200	-	0,6
Ласка	10	1,2	1,2
Солонгой	5	0,9	-
Степной хорек	5	1,8	1,8
Лесная кошка	5	0,1	-
Кабан	250	3	1,2
Косуля сибирская	250	15	15
Лось	500	-	0,05
Другие виды млекопитающих, внесенные в Красную книгу Республики Казахстан			
Пятипалый карликовый тушканчик	100	0,05	-
Жирнохвостый карликовый тушканчик	100	0,05	-
Хомячок Роборовского	100	0,1	-
Жёлтая пеструшка	100	0,1	-
Итого МРП 1000 га:		5968,1	5785,0

Согласно выполненному нами расчету, условная стоимость охотничьих и редких видов млекопитающих на двух исследуемых участках оказалась сходной, не смотря на различный состав их фаун. Для Черного Иртыша $5785 \times 3692 = 21\,358\,220$ тенге, для Павлодарского Прииртышья $5968,1 \text{ МРП} \times 3692 = 22\,034\,225$ тенге. Эти результаты показывают высокую экономи-

ческую значимость всей протяженности поймы р. Иртыш в Казахстане.

Показатели антропогенной нарушенности и биоразнообразия двух участков р. Иртыш

Для оценки антропогенной нарушенности мы рассчитали приведенные ниже экологические параметры (Таблица 4).

Таблица 4 – Показатели антропогенной нарушенности и биоразнообразия 7 профилей р. Иртыш

Экологические параметры	Профиль						
	ЧИ			ПП			
	1	2	3	4	5	6	7
Количество следов жизнедеятельности млекопитающих на 1 км маршрута (b_i)	2,7	1,4	2,3	1,0	1,7	1,4	1,3
Всего встречено видов (n_i)	9	6	14	9	8	13	9
Удалённость от населенных пунктов, км (d_i)	4,7	2,3	12	4,2	4,2	1,6	1,0
Количество редких видов млекопитающих (m_i)	4	4	2	1	0	1	1
Количество природных биотопов (k_i)	5	5	5	4	4	4	5
Экспертная оценка нарушенности (l_i)	4	3	3	2	2	2	3
Коэффициент природоохранного статуса (p_i)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,1	1,1
Коэффициент нарушенности из-за выпаса скота (LS_i)	3	6	2	6	5	3	2
Плотность КРС/кв. км (DLS_i)	4,50	4,50	4,50	3,87	4,58	6,7	3,89
Количество населения тыс. чел. в области диаметром 10 км (H_i)	1,5	1,5	0	12,4	5,2	9,1	6,2
Плотность населения ч/кв.км (h_i)	1,74	1,74	1,74	0,97	0,88	2,50	1,82

В результате проведенного анализа главных компонент определено, что часть факторов оказывают влияние на антропогенную нарушенность в пойме реки Иртыш (Рисунок 4).

Наиболее значимые переменные, влияющие на PC1, включают n_p , l_p , k_p , b_p , H_p , m_p , p_p и LS_p . Из этих переменных значительный отрицательный вклад вносят n_i (-0.402), l_i (-0.382), k_i (-0.371), b_i (-0.357), m_i (-0.306) и d_i (-0.250). Такие переменные, как p_i и LS_p , имеют положительные коэффициенты (0,237 и 0,214, соответственно), а H_i (0,377) вносит значительный положительный вклад. Таким образом, среди всех рассмотренных экологических параметров, на нарушенность определенного профиля негативно влияют такие факторы, как количество населения (тыс. чел.) в области диаметром 10 км вокруг каждого профиля (H_i), отсутствие природоохранного ста-

туса территории для профиля (p_i) и состояние и нарушенность биотопа при пастбищном скотоводстве (LS_i). Такие факторы, как высокий уровень биоразнообразия и разнообразие млекопитающих в регионе, способствуют поддержанию целостности экосистемы поймы реки Иртыш и могут способствовать снижению антропогенной нарушенности.

На основе данных параметров и анализа главных компонент (Таблица А.1) мы рассчитали показатель ADI для семи профилей (Рисунок 5).

Индекс ADI первых трех профилей (Профили 1, 2 и 3) ЧИ сравнительно низок ($1,02 \pm 0,09$; $1,43 \pm 0,13$; $1 \pm 0,09$, соответственно). По сравнению с этими значениями, профили ПП (Профили 4, 5, 6 и 7) имеют более высокие индексы нарушенности ($2 \pm 0,18$; $1,89 \pm 0,17$; $1,91 \pm 0,18$; $1,57 \pm 0,14$; соответственно).

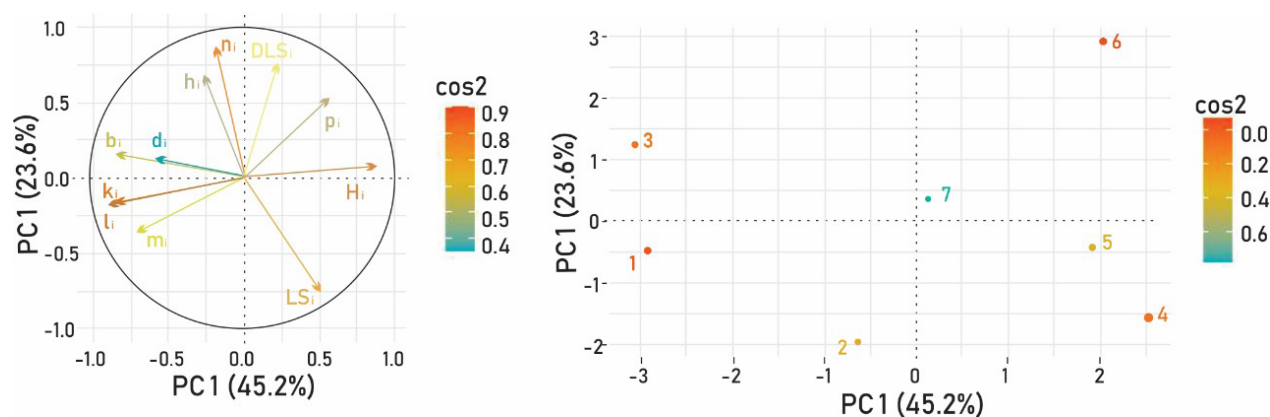


Рисунок 4 – Графики анализа главных компонент (PC1, PC2) экологических параметров и их влияние на профили в пойме Иртыша.

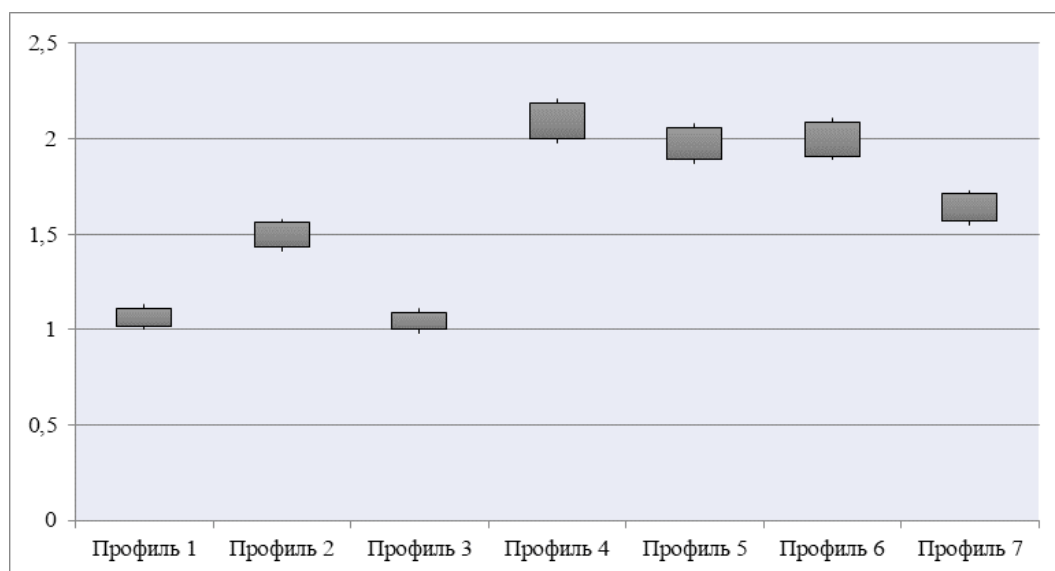


Рисунок 5 – График значений индекса антропогенной нарушенности (ADI), для семи профилей в пойме р. Иртыш

Согласно индексам ADI, наименьшая нарушенность по всей области исследования указывается для профилей 1 и 3. Профиль 2, расположенный у п. Боран имеет наивысшее значение ADI для участка ЧИ, что связано с его расположением у населенного пункта. В ПП наименьшей нарушенностью отличается 7 профиль у п. Железинка, а наибольшей – 4. Результаты показывают, что ЧИ, расположенный у границы с Китаем, имеет меньшую нарушенность и освоенность человеком, не смотря на отсутствие природоохранного статуса. ПП освоено и заселено человеком в большей степени, здесь и выше по течению

расположено большое количество промышленных предприятий и населенных пунктов, что должно учитываться при природопользовании и разработке природоохранных мероприятий.

Таким образом, согласно проведенным расчетам, средний показатель ADI для профилей Черного Иртыша значительно ниже (1.15 ± 0.1), чем для Павлодарского Прииртышья (1.84 ± 0.17). Профиль 3 имеет наименьшую нарушенность для двух обследованных нами участков. Его можно считать эталонным и одним из наиболее значимых для сохранения биоразнообразия долины р. Иртыш в Казахстане.

Заключение

Исследование экосистемных услуг, предоставляемых млекопитающими, а также оценка их экономического значения необходимы для поддержания благоприятной среды обитания для человека и диких животных и дальнейшего развития Северо-Восточного Казахстана. До настоящего времени не было предпринято попыток количественно оценить эффект от деятельности комплекса млекопитающих в пойме реки Иртыш в экосистемном аспекте.

Основной целью нашей работы было расширить имеющиеся знания о экосистемной роли и экономическом значении млекопитающих казахстанской части р. Иртыш. В рамках данного исследования были рассчитаны экономические показатели, отражающие значение охотничьих и редких видов млекопитающих, обитающих в бассейне реки Иртыш. Также проведена сравнительная оценка степени нарушенности по семи профилям, равномерно распределенным на двух исследуемых участках.

Актуальность данных исследований обусловлена растущей необходимостью в сохранении и рациональном управлении природными ресурсами поймы реки Иртыш, учитывая ее высокий туристический, транспортный и промышленный потенциал.

Представленное исследование является первой попыткой оценки экосистемных услуг, обеспечиваемых млекопитающими данного региона. По результатам анализа установлено, что 88 видов млекопитающих, обитающих в пойме Иртыша, выполняют 246 экосистемных услуг.

Наибольший вклад в предоставление таких услуг, как опыление, дисперсия и хранение семян и экосистемная инженерия, принадлежит представителям отряда Грызунов (65,4%), что связано с их численным преобладанием в исследуемой территории. Хищные и Насекомоядные обеспечивают контроль численности вредителей и здоровье популяций (37% и 31,5% соответственно), а Китопарнокопытные вносят

наибольший вклад в регулирование плодородия почвы (33%). С учетом высокой экологической и экономической значимости сайгака и его уязвимости к антропогенному воздействию, особенно от линейной инфраструктуры, оценку его экосистемных услуг следует проводить отдельно. Хищные млекопитающие контролируют численность животных и распространяют семена. Рукокрылые и Насекомоядные оказывают услуги по борьбе с вредителями. Среди млекопитающих, значительный вклад вносят бобры, как экосистемные инженеры, изменяющие среду обитания для млекопитающих, рыб и водоплавающих птиц, но могут вызвать затопление лесов, хозяйственных объектов и сельскохозяйственных угодий.

Экономическая значимость млекопитающих в пойме Иртыша высока. Условная стоимость охотничьих и редких видов на двух участках оказалась сходной: для Черного Иртыша – 21 358 220 тенге, для Павлодарского Прииртышья – 22 034 225 тенге.

Средний показатель индекса ADI для профилей ЧИ значительно ниже (1.15), чем для ПП (1,84), что отражает разную степень антропогенного воздействия и ценность территорий.

Необходимо изучить все возможные сценарии управления биотопами для сохранения и рационального использования млекопитающих долины Иртыша, в зависимости от оказываемых ими экосистемных услуг и биоценотических ролей, экономического значения и нарушенности территорий.

Источник финансирования

Данное исследование финансируется Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № AP19680227). Название проекта: «Оценка влияния строительства линейной инфраструктуры на популяции сайгаков и разработка мер по снижению вреда животным и их экосистемам в Казахстане», 2023-2025 гг.

Литература

1. Goodman D. The theory of diversity-stability relationships in ecology // *The Quarterly Review of Biology*. – 1975. – Vol. 50. – №. 3. – P. 237-266.
2. Frank D.A., McNaughton S.J. Stability increases with diversity in plant communities: empirical evidence from the 1988 Yellowstone drought // *Oikos*. – 1991. – P. 360-362.
3. Timpane-Padgham B. L., Beechie T., Klinger T. A systematic review of ecological attributes that confer resilience to climate change in environmental restoration // *PLoS One*. – 2017. – T. 12. – №. 3. – C. e0173812.

4. Schipper J., Chanson J.S., Chiozza F., Cox N.A., Hoffmann M., Katariya V., et al. The status of the world's land and marine mammals: diversity, threat, and knowledge // *Science*. – 2008. – Vol. 322. – №. 5899. – P. 225-230.
5. Pacifici M., Visconti P., Rondinini C. A framework for the identification of hotspots of climate change risk for mammals // *Global Change Biology*. – 2018. – Vol. 24. – №. 4. – P. 1626-1636.
6. Millennium Ecosystem Assessment. Ecosystems and human well-being: wetlands and water. – World Resources Institute, 2005.
7. Lacher Jr T.E., Davidson A.D., Fleming T.H., Gómez-Ruiz E.P., McCracken G.F., Owen-Smith N., et al. The functional roles of mammals in ecosystems // *Journal of Mammalogy*. – 2019. – Vol. 100. – №. 3. – P. 942-964.
8. Ripple W.J., Estes J.A., Beschta R.L., Wilmers C.C., Ritchie E.G., Hebblewhite M., et al. Status and ecological effects of the world's largest carnivores // *Science*. – 2014. – Т. 343. – №. 6167. – P. 1241484.
9. Ripple W.J., Newsome T.M., Wolf C., Dirzo R., Everatt K.T., Galetti M., et al. Collapse of the world's largest herbivores // *Science advances*. – 2015. – Vol. 1. – №. 4. – P. e1400103.
10. Crooks K.R., Burdett C.L., Theobald D.M., Rondinini C., Boitani L. Global patterns of fragmentation and connectivity of mammalian carnivore habitat // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2011. – Vol. 366. – №. 1578. – P. 2642-2651.
11. Олейников А.Ю., Бижанова Н.Ә., Кантарбаев С.С., Алиханова А.А. Териофауна казахстанской части бассейна Иртыша // *Вестник КазНУ. Серия экологическая*. – 2024. – Т. 80. – № 3. – С. 77-91.
12. Формозов А.Н. Методы учета численности и географического распределения наземных позвоночных. – М.: Акад. наук СССР, 1952. – 343 с.
13. Новиков Г.А. Роль позвоночных животных в жизни леса // *Животный мир СССР*. – М.: Акад. наук СССР, 1953. – 304 с.
14. Lintulaakso K., Tatti N., Žliobaitė I. Quantifying mammalian diets // *Mammalian Biology*. – 2022. – Vol. 103. – №. 1. – P. 53-67.
15. Jones C.G., Lawton J.H., Shachak M. Organisms as ecosystem engineers // *Oikos*. – 1994. – Vol. 69. – P. 373-386.
16. Кошкина А.И. Сурки и суслики – инженеры степей [Электронный ресурс] // *Tabigat media*. – 2023. URL: <https://tabigat.media/wildlife/surki-i-susliki-inzheneri-stepei> (дата обращения: 03.05.2024).
17. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. – 2024. Available from: <https://www.r-project.org/>
18. Kassambara A. Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses // *R package version*. – 2016. – Vol. 1.
19. Wickham H., Averick M., Bryan J., Chang W., McGowan L.D.A., François R., et al. Welcome to the Tidyverse // *Journal of open source software*. – 2019. – Vol. 4. – №. 43. – P. 1686.
20. Wickham H., Wickham H. Getting Started with ggplot2 // *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. – 2016. – P. 11-31.
21. Pearson K. LIII. On lines and planes of closest fit to systems of points in space // *The London, Edinburgh, and Dublin philosophical magazine and journal of science*. – 1901. – Vol. 2. – №. 11. – P. 559-572.
22. Halmy M.W. A. Assessing the impact of anthropogenic activities on the ecological quality of arid Mediterranean ecosystems (case study from the northwestern coast of Egypt) // *Ecological Indicators*. – 2019. – Vol. 101. – P. 992-1003.
23. Базарбеков К.У., Ляхов О.В. Животный мир Павлодарского Прииртышья (позвоночные животные). – Павлодар: Научный издательский центр Павлодарского Гос. Университета им. Торайгырова, 2004. – 336 с.
24. Литвинов Ю.Н., Дупал Т.А., Ержанов Н.Т. Особенности организации сообществ землероек открытых ландшафтов Сибири и Северного Казахстана // *Сибирский экологический журнал*. – 2015. – №22 (2). – С. 259-267.
25. Сергазинова З. М. Характеристика фауны мелких млекопитающих степных сообществ Северного Казахстана // *Вестник государственного университета им. Шакарима*. – Семей, 2018. – № 1 (81). – С. 131-136.
26. Слудский А.А., Варшавский С.Н., Исмагилов М.И., Капитонов В.И., Шубин И.Г. Млекопитающие Казахстана. В четырех томах. Том первый, часть первая. Грызуны (сурки и суслики) / Под редакцией А.А. Слудского. – Алма-Ата: Изд. Наука КазССР, 1969. – 456 с.
27. Слудский А.А., Бекенов А., Борисенко В.А., Грачев Ю.А., Исмагилов М.И., Капитонов В.И., Страутман Е.И., Федосенко А.К., Шубин И.Г. Млекопитающие Казахстана. В четырех томах. Том первый, часть вторая. Грызуны (кроме сурков, сусликов, земляной белки, песчанок и полевок) / Под редакцией А.А. Слудского. – Алма-Ата: Изд. Наука КазССР, 1977. – 536 с.
28. Слудский А.А., Борисенко В.А., Капитонов В.И., Шубин И.Г. и др. Млекопитающие Казахстана. В четырех томах. Том первый, часть третья. Грызуны (песчанки, полевки, алтайский цокор) / Под редакцией А.А. Слудского. – Алма-Ата: Изд. Наука КазССР, 1978. – 491 с.
29. Слудский А.А., Бернштейн А.Д., Шубин И.Г. Фадеев В.А., Орлов Г.И., Байтанаев О.А., Бекенов А., Капитонов В.И., Утинов С.Р. Млекопитающие Казахстана. В четырех томах. Том второй. Зайцеобразные / Под редакцией А.А. Слудского и Е.И. Страутмана. – Алма-Ата: Изд. Наука КазССР, 1980. – 238 с.
30. Слудский А.А., Бадамшин Б.И., Бекенов А., Грачев Ю.А., Кыдырбаев Х.К., Лазарев А.А., Страутман Е.И., Фадеев В.А., Федосенко А.К. Млекопитающие Казахстана. В четырех томах. Том третий, Часть первая. Хищные (собачьи, медведьи, енотовые), Ластоногие (настоящие тюлени) / Под редакцией Е.В. Гвоздева и Е.И. Страутмана. – Алма-Ата: Изд. Наука КазССР, 1981. – с. 244 с.

31. Слудский А.А., Афанасьев Ю.Г., Бекенов А., Грачев Ю.А., Лобачев Ю.С., Махмутов С., Страутман Е.И., Федосенко А.К., Шубин И.Г. Млекопитающие Казахстана. В четырех томах. Том третий, часть вторая. Хищные (куньи, кошки) / Под редакцией Е.В. Гвоздева и Е.И. Страутмана. – Алма-Ата: Изд. Наука КазССР, 1982. – 264 с.
32. Слудский А.А., Бекенов А., Жевнеров В.В., Капитонов В.И., Фадеев В.А., Федосенко А.К. Млекопитающие Казахстана. В четырех томах. Том третий, часть третья. Парнокопытные (полорогие) / Под редакцией Е.В. Гвоздева и В.И. Капитонова. – Алма-Ата: Изд. Наука КазССР, 1983. – 248 с.
33. Слудский А.А., Байдавлетов Р.Ж., Бекенов А., Жиряков В.А., Поле В.Б., Фадеев В.А., Федосенко А.К. Млекопитающие Казахстана. В четырех томах. Том третий, часть четвертая. Парнокопытные (олени, кабарговые, свиньи) и Непарнокопытные (лошадиные) / Под редакцией Е.В. Гвоздева и Е.И. Страутмана. – Алма-Ата: Изд. Наука КазССР, 1983. – 232 с.
34. Бекенов А., Бутовский П.М., Касабеков Б.Б., Ланкин П.М., Стрелков П.П., Стогов И.И., Федосенко А.К., Шаймарданов Р.Т., Шубин И.Г. Млекопитающие Казахстана. В четырех томах. Том четвертый. Насекомоядные и Рукокрылые / Под редакцией Е.В. Гвоздева и Е.И. Страутмана. – Алма-Ата: Изд. Наука КазССР, 1985. – 280 с.

References

1. Bazarbekov, K. U., & Lyakhov, O. V. (2004). *Zhivotnyy mir Pavlodarskogo Priirtysh'ya (pozvonochnye zhivotnye)* [Wildlife of Pavlodar Irtysh (vertebrate animals)]. Pavlodar: Scientific Publishing Center of Toraygyrov Pavlodar State University, 336 p.
2. Bekenov, A., Butovsky, P.M., Kasabekov, B.B., Lankin, P.M., Strelkov, P.P., Stogov, I.I., Fedosenko, A.K., Shaymardanov, R.T., & Shubin, I.G. (1985). *Mlekovitayushchie Kazakhstana. V chetyrehk tomakh. Tom chetvertyy. Nasekomoyadnye i Rukokrylye* [Mammals of Kazakhstan. In four volumes. Volume four. Insectivores and Chiropterans]. Edited by E.V. Gvozdeva and E.I. Strautman. Almaty: Publishing House of Science of the Kazakh SSR, 280 p.
3. Crooks, K. R., Burdett, C. L., Theobald, D. M., Rondinini, C., & Boitani, L. (2011). Global patterns of fragmentation and connectivity of mammalian carnivore habitat. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1578), 2642-2651.
4. Formozov, A. N. (1952). *Metody ucheta chislennosti i geograficheskogo raspredeleniya nazemnykh pozvonochnykh* [Methods for accounting the number and geographical distribution of terrestrial vertebrates]. Moscow: Academy of Sciences of the USSR, 343 p.
5. Frank, D. A., & McNaughton, S. J. (1991). Stability increases with diversity in plant communities: empirical evidence from the 1988 Yellowstone drought. *Oikos*, 360-362.
6. Goodman, D. (1975). The theory of diversity-stability relationships in ecology. *The Quarterly Review of Biology*, 50(3), 237-266.
7. Halmy, M. W. A. (2019). Assessing the impact of anthropogenic activities on the ecological quality of arid Mediterranean ecosystems (case study from the northwestern coast of Egypt). *Ecological Indicators*, 101, 992-1003.
8. Jones, C.G., Lawton, J.H., & Shachak, M. (1994) Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*, 69, 373-386.
9. Kassambara, A. (2016). Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. *R package version*, 1.
10. Koshkina, A. I. (2023). Surki i susliki – inzheneri stepey [Marmots and ground squirrels – engineers of the steppes] [Electronic resource]. *Tabigat media*. URL: <https://tabigat.media/wildlife/surki-i-susliki-inzheneri-stepei> (accessed on: 03 May 2024).
11. Lacher Jr, T. E., Davidson, A. D., Fleming, T. H., Gómez-Ruiz, E. P., McCracken, G. F., Owen-Smith, N., ... & Vander Wall, S. B. (2019). The functional roles of mammals in ecosystems. *Journal of Mammalogy*, 100(3), 942-964.
12. Lintulaakso, K., Tatti, N., & Žliobaitė, I. (2023). Quantifying mammalian diets. *Mammalian Biology*, 103(1), 53-67.
13. Litvinov, Yu. N., Dupal, T. A., & Erzhanov, N. T. (2015). Osobennosti organizatsii soobshchestv zemleroyek otkrytykh landshaftov Sibiri i Severnogo Kazakhstana [Features of the organization of shrew communities in the open landscapes of Siberia and Northern Kazakhstan]. *Siberian Ecological Journal*, 22(2), 259-267.
14. Millennium Ecosystem Assessment (2005). *Ecosystems and human well-being: wetlands and water*. World Resources Institute.
15. Novikov, G. A. (1953). Rol' pozvonochnykh zhivotnykh v zhizni lesa [The role of vertebrates in forest life]. *Zhivotnyy mir SSSR* [Animal World of the USSR]. Moscow: Academy of Sciences of the USSR, 304 p.
16. Oleynikov, A. Yu., Bizhanova, N. A., Kantarbayev, S. S., & Alikhanova, A. A. (2024). Teriofauna kazakhstanskoy chasti basseyna Irtysha [Teriofauna of the Kazakh part of the Irtysh basin]. *Bulletin KazNU. Series Ecological*, in press.
17. Pacifici, M., Visconti, P., & Rondinini, C. (2018). A framework for the identification of hotspots of climate change risk for mammals. *Global Change Biology*, 24(4), 1626-1636.
18. Pearson, K. (1901). LIII. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *The London, Edinburgh, and Dublin philosophical magazine and journal of science*, 2(11), 559-572.
19. R Core Team (2024). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. Available from: <https://www.r-project.org/>
20. Ripple, W. J., Estes, J. A., Beschta, R. L., Wilmers, C. C., Ritchie, E. G., Hebblewhite, M., et al. (2014). Status and ecological effects of the world's largest carnivores. *Science*, 343(6167), 1241484.
21. Ripple, W. J., Newsome, T. M., Wolf, C., Dirzo, R., Everatt, K. T., Galetti, M., et al. (2015). Collapse of the world's largest herbivores. *Science advances*, 1(4), e1400103.

22. Schipper, J., Chanson, J. S., Chiozza, F., Cox, N. A., Hoffmann, M., Katariya, V., et al. (2008). The status of the world's land and marine mammals: diversity, threat, and knowledge. *Science*, 322(5899), 225-230.
23. Sergazinova, Z. M. (2018). Kharakteristika fauny melkikh mlekopitayuschikh stepnykh soobshchestv Severnogo Kazakhstana [Characteristics of the fauna of small mammals in the steppe communities of Northern Kazakhstan]. *Bulletin of the Shakarim State University*, 1(81), 131-136.
24. Sludskiy, A.A., Afanas'ev, Yu.G., Bekenov, A., Grachev, Yu.A., Lobachev, Yu.S., Makhmutov, S., Strautman, E.I., Fedosenko, A.K., & Shubin, I.G. (1982). *Mlekopitayushchie Kazakhstana. V chetyrekh tomakh. Tom tretiy, chast' vtoraya. Khishchnye (kun'i, koshki)* [Mammals of Kazakhstan. In four volumes. Volume three, part two. Carnivores (mustelids, felids)]. Edited by E.V. Gvozdeva and E.I. Strautman. Almaty: Publishing House of Science of the Kazakh SSR, 264 p.
25. Sludskiy, A.A., Badamshin, B.I., Bekenov, A., Grachev, Yu.A., Kydyrbayev, Kh.K., Lazarev, A.A., Strautman, E.I., Fadeev, V.A., & Fedosenko, A.K. (1981). *Mlekopitayushchie Kazakhstana. V chetyrekh tomakh. Tom tretiy, Chast' pervaya. Khishchnye (sobach'i, medvezh'i, enotovyye), Lastonogie (nastoyaschiye tyuleni)* [Mammals of Kazakhstan. In four volumes. Volume three, Part one. Carnivores (canids, ursids, procyonids), Pinnipeds (true seals)]. Edited by E.V. Gvozdeva and E.I. Strautman. Almaty: Publishing House of Science of the Kazakh SSR, 244 p.
26. Sludskiy, A.A., Baydavletov, R.Zh., Bekenov, A., Zhiryakov, V.A., Pole, V.B., Fadeev, V.A., Fedosenko, A.K. (1983). *Mlekopitayushchie Kazakhstana. V chetyrekh tomakh. Tom tretiy, chast' chetvertaya. Parnokopytnye (olen'i, kabargovye, svinnye) i Neparnokopytnye (loshadinye)* [Mammals of Kazakhstan. In four volumes. Volume three, part four. Ungulates (cervids, moschids, suids) and Perissodactyls (equids)]. Edited by E.V. Gvozdeva and E.I. Strautman. Almaty: Publishing House of Science of the Kazakh SSR, 232 p.
27. Sludskiy, A.A., Bekenov, A., Borisenko, V.A., Grachev, Yu.A., Ismagilov, M.I., Kapitonov, V.I., Strautman, E.I., Fedosenko, A.K., & Shubin, I.G. (1977). *Mlekopitayushchie Kazakhstana. V chetyrekh tomakh. Tom pervyy, chast' vtoraya. Gryzuny (krome surkov, suslikov, zemlyanoy belki, peschanok i polevok)* [Mammals of Kazakhstan. In four volumes. Volume one, part two. Rodents (except marmots, ground squirrels, ground squirrel, gerbils and voles)]. Edited by A.A. Sludskiy. Almaty: Publishing House of Science of the Kazakh SSR, 536 p.
28. Sludskiy, A.A., Bekenov, A., Zhevnerov, V.V., Kapitonov, V.I., Fadeev, V.A., Fedosenko, A.K. (1983). *Mlekopitayushchie Kazakhstana. V chetyrekh tomakh. Tom tretiy, chast' tret'ya. Parnokopytnye (polorogie)* [Mammals of Kazakhstan. In four volumes. Volume three, part three. Ungulates (bovids)]. Edited by E.V. Gvozdeva and V.I. Kapitonov. Almaty: Publishing House of Science of the Kazakh SSR, 248 p.
29. Sludskiy, A.A., Bernstein, A.D., Shubin, I.G., Fadeev, V.A., Orlov, G.I., Baytanaev, O.A., Bekenov, A., Kapitonov, V.I., Utinov, S.R. (1980). *Mlekopitayushchie Kazakhstana. V chetyrekh tomakh. Tom vtoroy. Zaytseobraznye* [Mammals of Kazakhstan. In four volumes. Volume two. Lagomorphs]. Edited by A.A. Sludskiy and E.I. Strautman. Almaty: Publishing House of Science of the Kazakh SSR, 238 p.
30. Sludskiy, A.A., Borisenko, V.A., Kapitonov, V.I., Shubin, I.G., et al. (1978). *Mlekopitayushchie Kazakhstana. V chetyrekh tomakh. Tom pervyy, chast' tret'ya. Gryzuny (peschanki, polevki, altayskiy tsokor)* [Mammals of Kazakhstan. In four volumes. Volume one, part three. Rodents (gerbils, voles, Altai zokor)]. Edited by A.A. Sludskiy. Alma-Ata: Publishing House of Science of the Kazakh SSR, 491 p.
31. Sludskiy, A.A., Varshavskiy, S.N., Ismagilov, M.I., Kapitonov, V.I., & Shubin, I.G. (1969). *Mlekopitayushchie Kazakhstana. V chetyrekh tomakh. Tom pervyy, chast' pervaya. Gryzuny (surki i susliki)* [Mammals of Kazakhstan. In four volumes. Volume one, part one. Rodents (marmots and ground squirrels)]. Edited by A.A. Sludskiy. Almaty: Publishing House of Science of the Kazakh SSR, 456 p.
32. Timpane-Padgham, B. L., Beechie, T., & Klinger, T. (2017). A systematic review of ecological attributes that confer resilience to climate change in environmental restoration. *PLoS One*, 12(3), e0173812.
33. Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L. D. A., François, R., et al. (2019). Welcome to the Tidyverse. *Journal of open source software*, 4(43), 1686.
34. Wickham, H., & Wickham, H. (2016). Getting Started with ggplot2. *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*, 11-31.

Информация об авторах:

Бижанова Назерке Алимкызы – PhD по биологии, старший научный сотрудник Лаборатории териологии РГП на ПХВ «Институт зоологии» КН МНВО РК, Алматы, Казахстан, Группа специалистов по кошачьим Комиссии по выживанию видов МСОП (Гланд, Швейцария, e-mail: nazerke.bizhanova@zool.kz)

Олейников Алексей Юрьевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник Лаборатории териологии РГП на ПХВ «Институт зоологии» КН МНВО РК, Алматы, Казахстан, эксперт Группы специалистов по выдрам Комиссии по выживанию видов МСОП (Гланд, Швейцария, e-mail: oleynikov.pr@gmail.com)

Кантарбаев Санжар Сакенович – магистр естественных наук, младший научный сотрудник Лаборатории биоценологии и охотоведения РГП на ПХВ «Институт зоологии» КН МНВО РК (Алматы, Казахстан, e-mail: sanzhar.kantarbaev@zool.kz)

Грачев Алексей Александрович – заведующий Лабораторией териологии РГП на ПХВ «Институт зоологии» КН МНВО РК (Алматы, Казахстан, e-mail: alexey.grachev@zool.kz)

Information about authors:

Bizhanova Nazerke Alimkyzy – PhD in Biology, Senior Researcher at the Theriology Laboratory of the RSE on REM “Institute of Zoology” of the CS MSHE RK, Almaty, Kazakhstan, expert of the Cat Specialist Group, IUCN Species Survival Commission (Gland, Switzerland, e-mail: nazerke.bizhanova@zool.kz)

Oleynikov Aleksey Yuryevich – PhD in Biology, Researcher at the Theriology Laboratory of the RSE on REM “Institute of Zoology” of the CS MSHE RK, Almaty, Kazakhstan, expert of the Otter Specialist Group, IUCN Species Survival Commission (Gland, Switzerland, e-mail: oleynikov.pr@gmail.com)

Kartarbayev Sanzhar Sakenovich – Master of Natural Sciences, Junior Researcher at the Biocenology and Game Science Laboratory of the RSE on REM “Institute of Zoology” of the CS MSHE RK (Almaty, Kazakhstan, e-mail: sanzhar.kantarbayev@zool.kz)

Grachev Alexey Alexandrovich – Head of the Theriology Laboratory of the RSE on REM “Institute of Zoology” of the CS MSHE RK (Almaty, Kazakhstan, e-mail: alexey.grachev@zool.kz)

Поступило 27 июня 2024 года

Принято 20 мая 2025 года

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица А.1 – Значения главных компонент (PC) для профилей

Профиль	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
1	-2.93	-0.48	-0.69	-0.19	0.47	-0.99	8.326673e-17
2	-0.64	-1.98	-1.51	-0.72	0.04	0.81	-1.214306e-15
3	-3.07	1.24	1.85	-0.25	-0.34	0.48	-1.998401e-15
4	2.52	-1.59	1.15	-0.62	-0.92	-0.45	-5.273559e-15
5	1.91	-0.44	1.08	0.66	1.41	0.15	5.689893e-15
6	2.04	2.91	-1.04	-0.89	0.05	-0.05	-2.997602e-15
7	0.17	0.34	-0.83	2.02	-0.71	0.05	5.367234e-15

5-бөлім
БИОТЕХНОЛОГИЯ

Section 5
BIOTECHNOLOGY

Раздел 5
БИОТЕХНОЛОГИЯ

Г.К. Кайырманова^{1*}, Э.Е. Асылбек^{1,2}, А.К. Ерназарова^{1,2},
У.Т. Шаймерденова^{1,2}, А.Ж. Нурканова¹

¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

²НИИ «Устойчивости экологии и биоресурсов», Алматы, Казахстан

*e-mail: kaiyrman@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБНОГО И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА ПЛАСТОВЫХ ВОД НЕФТЯНОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ «ТЕРЕН-УЗЕК»

Определение микробного статуса и физико-химических условий малопродуктивных нефтепластов является ключевым условием для внедрения экономически выгодных биотехнологий для добычи трудноизвлекаемых нефтей из заводненных скважин. Целью исследования явилось определение микробного и физико-химического статуса заводненных нефтепластов месторождения «Терен-Узек» с использованием методов метагеномного анализа. В рамках работы были проведены физико-химические измерения образцов пластовых вод, а также высокопроизводительное секвенирование 16S рРНК генов для оценки таксономического состава микробного сообщества. Выявлено, что высокая минерализация с экстремально соленой средой на глубине 800–850 м при 21 °С формируют уникальные условия для существования адаптированных к ним микроорганизмов. Установлено, что микробиота заводненных нефтепластов представлена исключительно доменом *Bacteria*, на уровне типа (Phylum) преимущественно состоит из представителей *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Показано низкое таксономическое разнообразие микробного сообщества нефтепластов на уровне класса с доминированием *Actinobacteria* и *Gammaproteobacteria*. Установлено, что основную долю бактериального сообщества составляют представители родов *Dietzia* (39,67%) и *Halomonas* (35,17%), что в совокупности составляет более 74% от общего количества идентифицированных последовательностей, остальные роды представлены в меньших количествах: *Janibacter* (3,21%), *Bacillus* (2,12%), *Georgenia* (2,11%), *Arthrobacter* (2,01%) и *Marinobacter* (1,38%). Выявленные условия данных нефтепластов предполагают потенциальную возможность использования биотехнологий (MEOR) на основе микроорганизмов, а обнаруженные таксоны представляют интерес для дальнейшего изучения в рамках биотехнологических разработок, направленных на повышение нефтеотдачи и биоразложение нефтезагрязнений.

Ключевые слова: нефтепласт, микрофлора, микробиологический статус, экстремальные условия.

G.K. Kaiyrmanova^{1*}, A.E. Asylbek^{1,2}, A.K. Yernazarova^{1,2},
U.T. Shaimerdenova^{1,2}, A.J. Nurkanova¹

¹Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

²SRI «Sustainability of ecology and bioresources», Almaty, Kazakhstan

*e-mail: kaiyrman@mail.ru

Study of the microbial and physicochemical status of formation waters from the “Teren-uzek” oil field

Determining the microbial profile and physicochemical conditions of low-yield oil reservoirs is a key prerequisite for the implementation of cost-effective biotechnologies aimed at recovering hard-to-extract oil from water-flooded wells. The aim of this study was to assess the microbial and physicochemical profile of water-flooded oil reservoirs at the “Teren-Uzek” oil field using metagenomic analysis. The study involved physicochemical measurements of formation water samples and high-throughput sequencing of 16S rRNA genes to determine the taxonomic composition of the microbial community. It was found that the high salinity of the formation water, with an extremely saline environment at depths of 800–850 meters and a temperature of 21 °C, creates unique conditions for the survival of microorganisms adapted to such environments. The microbiota of the water-flooded oil reservoirs was found to be represented exclusively by the domain *Bacteria* and, at the phylum level, was mainly composed of members of *Actinobacteria* and *Proteobacteria*. The microbial community demonstrated low taxonomic diversity at the class level, with dominance of *Actinobacteria* and *Gammaproteobacteria*. The majority

of the bacterial community consisted of representatives of the genera *Dietzia* (39.67%) and *Halomonas* (35.17%), together accounting for over 74% of the total identified sequences. Other genera were present in smaller proportions, including *Janibacter* (3.21%), *Bacillus* (2.12%), *Georgenia* (2.11%), *Arthrobacter* (2.01%), and *Marinobacter* (1.38%). The specific conditions of these oil reservoirs suggest the potential applicability of indigenous microorganisms, and the identified taxa are of interest for further exploration in the development of biotechnological approaches aimed at enhanced oil recovery (MEOR) and biodegradation of contaminating compounds.

Keywords: Petroplast, microflora, microbiological status, extreme conditions.

Г.К. Кайырманова^{1*}, Ә.Е. Асылбек^{1,2}, А.К. Ерназарова^{1,2},
Ұ.Т. Шаймерденова^{1,2}, А.Ж. Нурканова¹

¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Қазақстан

²НИИ «Устойчивости экологии и биоресурсов», Алматы, Қазақстан

*e-mail: kaiyrman@mail.ru

«Терен-узек» мұнай кен орнының қабат суларының микробтық және физика-химиялық жағдайын зерттеу

Өнімділігі төмен мұнай қабаттарының микробтық жағдайы мен физика-химиялық ерекшеліктерін анықтау – суланған ұңғымалардан қиын алынатын мұнайды өндіруге бағытталған экономикалық жағынан тиімді биотехнологияларды енгізудің негізгі шарты болып табылады. Бұл зерттеудің мақсаты – «Терен-Узек» кен орнындағы суланған мұнай қабаттарының микробиологиялық және физика-химиялық жағдайын метагеномдық талдау әдістері арқылы анықтау болды. Жұмыс барысында қабат суларынан алынған үлгілердің физика-химиялық көрсеткіштері өлшеніп, микроб қауымдастығының таксономиялық құрамын бағалау үшін 16S рРНҚ гендерінің жоғары өнімділікпен секвенирлеуі жүргізілді. 800–850 м тереңдікте 21 °С температурада анықталған жоғары минералдану мен экстремалды тұзды орта осы ортаға бейімделген микроағзалардың өмір сүруіне ерекше жағдайлар туғызатыны анықталды. Суланған мұнай қабаттарының микробиотасы тек *Bacteria* доменімен сипатталады, ал тип (Phylum) деңгейінде негізінен *Actinobacteria* мен *Proteobacteria* өкілдері кездеседі. Класс деңгейінде таксономиялық әртүрлілік төмен болып, *Actinobacteria* мен *Gammaproteobacteria* басымдық танытатыны көрсетілді. Бактериялық қауымдастықтың негізгі бөлігін *Dietzia* (39,67%) және *Halomonas* (35,17%) туыстары құрайды, бұл анықталған тізбектердің жалпы санының 74%-дан астамын құрайды. Қалған туыстар аз мөлшерде кездеседі: *Janibacter* (3,21%), *Bacillus* (2,12%), *Georgenia* (2,11%), *Arthrobacter* (2,01%) және *Marinobacter* (1,38%). Зерттелген мұнай қабаттарының жағдайлары микроағзалар негізіндегі (MEOR) технологияларын қолдануға әлеуетті мүмкіндік береді, ал анықталған таксондар мұнай өндіруді арттыру мен мұнаймен ластануды биодеградациялау бағытындағы биотехнологиялық зерттеулер үшін қызығушылық тудырады.

Түйін сөздер: Мұнай қабаты, микрофлора, микробиологиялық мәртебе, экстремалды жағдайлар.

1. Введение

Пластовые воды являются неотъемлемой частью нефтяных месторождений и играют ключевую роль во вторичных и третичных методах повышения нефтеотдачи. Пластовые воды содержат песок, глинистые частицы, нефть. Месторождение «Терен-Узек», расположенное в регионе с высокими значениями минерализации, представляет собой интересный объект для изучения микробных сообществ и их взаимодействий в экстремальных условиях. Микробные сообщества являются важным биотическим фактором, активно влияющим на процессы формирования химического состава глубинных вод, минералообразования и метаморфизма горных пород [1]. Эти условия создают уникальную

среду, где обитают специфические прокариоты, обладающие способностями к адаптации к высоким концентрациям солей и другим стресс-факторам.

В настоящее время большинство разрабатываемых нефтяных месторождений РК находятся на зрелой стадии разработки, что означает уменьшение легкоизвлекаемых запасов, но в пластах остается еще большое количество нефти, относящейся к трудноизвлекаемой. Месторождение «Терен-Узек» относится именно к таким месторождениям с высокой обводненностью скважин, где продуктивные горизонты залегают на глубине 700–850 м. На поздних стадиях разработки месторождений с целью поддержания дебитов нефти на определенном уровне приходится прибегать к заводнению не-

фтяных пластов, нагнетая под высоким давлением воду или растворы на ее основе. В этой связи, наиболее актуальный вопрос в секторе добычи жидких углеводородов это повышение нефтеотдачи пласта зрелых месторождений, поиск и внедрение новых технологий для поддержания добычи нефти. В связи с чем, изучение микробного статуса и условий пластовых вод нефтяного месторождения «Терен-Узек» является ключевым фактором для исследований, предназначенных для разработки и внедрения биотехнологий увеличения трудноизвлекаемой нефти третичными методами заводненных нефтепластов. Несмотря на наличие информации о микрофлоре подземных природных вод [1,2], сведения о микрофлоре нефтепластовых вод действующих и законсервированных скважин крайне малочисленны [1–3].

Метагеномный анализ, который позволяет исследовать генетическое разнообразие и функциональные характеристики микробных сообществ без необходимости культивирования организмов, становится важным инструментом в исследовании сложных экосистем, т.к. известно, что только 1-10% от общей численности экстремальных сообществ удается культивировать

в лабораторных условиях, большая часть относится к некультивируемым микроорганизмам [1]. Применение метагеномного анализа позволяет опосредованно выявить условия жизнедеятельности микроорганизмов в экстремальных подземных экосистемах, потенциальные бактериальные штаммы, которые можно использовать в биотехнологиях, применяемых в нефтяной отрасли (МЕОР, биоремедиация) [4]. Таким образом, определение физико-химического и микробиологического статуса нефтепластовых вод заводненных скважин месторождения «Терен-Узек» является ключевым условием для поиска и внедрения экономически выгодных технологий добычи трудноизвлекаемых нефтей из заводненных скважин.

2. Материалы и методы

Материалом для работы послужили пробы пластовых вод, отобранные с продуктивного пласта (глубина 800-850 м) действующих нефтяных скважин месторождения «Терен-Узек». Месторождение «Терен-Узек» расположено в юго-восточной части Южной Эмбы, в Жылыойском районе Атырауской области (рис.1).



Рисунок 1 – Расположение месторождения «Терен-Узек» на карте Казахстана

Территория месторождения «Терен-Узек» граничит с Каспийским морем. От нагонных вод моря месторождение защищено дамбой, протяженностью 12,9 км [5]. Ближайшие населённые пункты: г. Кульсары (100 км), г. Атырау (180 км), местность — засоленная равнина, пересечённая ериками (небольшие протоки, соединяющие два водоёма) и солёными озёрами. Плотность нефти варьируется от 0,918 до 0,937 г/см³, что относит ее к тяжелым нефтям, отличающейся повышенной концентрацией смолисто-асфальтеновых компонентов. Вода, поступающая на скважину: используется вода для хоз-питьевых нужд и бурения, общий объем водопотребления и водоотведения на одну скважину составляет 195,93 м³/цикл, включая 166,58 м³ буровых сточных вод [6]. Пробы отобраны в стерильные пластиковые бутылки объемом 500 мл, хранились при температуре 4–8 °С и в течение 24 часов были доставлены в лабораторию для дальнейшего анализа. При отборе вод, такие нестабильные параметры как температура и pH, измерялись непосредственно на месте. Были проведены физико-химический анализ образцов пластовых вод и метагеномное секвенирование 16S рРНК генов для оценки таксономического состава микробного сообщества.

Химические характеристики образцов исследовались в соответствии с ГОСТ. Ионы HCO_3^- , CO_3^{2-} и pH определялись электрометрическим методом, а концентрация взвешенных веществ и соленость измерялись гравиметрическим методом в соответствии с ГОСТ 26449.1-85 [7]. Концентрации ионов SO_4^{2-} , Cl^- , Ca^{2+} , $\text{Na}^+ + \text{K}^+$, Mg^{2+} , и NO_3^- анализировались с использованием гравиметрических, меркуриметрических, комплексообразующих, вычислительных и ионно-хроматографических методов в соответствии с ГОСТ 26449.1-85 и МВИ № 13-2020 [8]. Концентрация ионов железа определялась комплексообразующим методом в соответствии с ГОСТ 23268.11-78 [9]. Ионы иодида и бромиды выявлялись с использованием ионно-хроматографических, йодометрических и титриметрических методов в соответствии с ГОСТ 23268.16-78 [10], 23268.15-78 [18] и МВИ № 13-2020. Вязкость измерялась с использованием вискозиметра в соответствии с стандартом Республики Казахстан СТ РК ASTM D 445-2011 [11]. Плотность измерялась с использованием гидрометра в соответствии с ГОСТ 18995.1-73 [12].

16S метагеномное секвенирование проводилось на полногеномном секвенаторе нового поколения MiSeq (Illumina, США) по протоколу

16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Guide. Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System (Part # 15044223 Rev. A) 28 P.

ДНК-библиотеки (совокупность фрагментов исследуемого образца ДНК) готовили согласно инструкции 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation guide (part no. 15044223 rev. A). Вариабельные V3 и V4 регионы гена 16S рРНК амплифицировали с помощью универсальных бактериальных праймеров с добавлением адаптеров Illumina.

Реакционная смесь состояла из: 2,5 µl ДНК матрицы; по 5 µl каждого праймера в 1 µM концентрации; 12,5 µl KAPA HiFi HotStart ReadyMix в 2X концентрации (KAPA Biosystems, Cape Town, South Africa). ПЦР амплификация проводилась по следующей программе: 95оС в течение 3 минут, далее 25 циклов амплификации 95оС 30 секунд, 55оС 30 секунд, 72оС 30 секунд и один цикл при 72о в течение 5 минут. ПЦР-продукт был очищен с помощью набора Agencourt AMPure PCR purification kit (Beckman Coulter Inc. Beverly, Massachusetts, USA). Далее к каждому образцу были добавлены адаптеры Nextera XT Index primer (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) путем амплификации в реакционной смеси, в состав которой входили 12,5 µl KAPA HiFi HotStart ReadyMix, по 5 µl каждого индекс праймера, 10 µl воды и по 5 µl ПЦР-продукта. Программа амплификации: 95оС в течение 3 минут, далее 8 циклов амплификации 95оС 30 секунд, 55оС 30 секунд, 72оС 30 секунд и один цикл при 72о в течение 5 минут. ПЦР-продукт с добавленными индексами был очищен с помощью набора Agencourt AMPure PCR purification kit (Beckman Coulter Inc. Beverly, Massachusetts, USA).

Общий пул образцов загружали в картридж набора Kit v3 (600 циклов) (Illumina, США). Запускали программу секвенирования на приборе MiSeq. По окончании секвенирования автоматически была проведена вторичная обработка данных с помощью программного обеспечения MiSeq Reporter.

3. Результаты и обсуждение

К базовым характеристикам пластовых вод относятся общая минерализация воды, содержание основных ионов, катионов, pH. В образце пластовой воды месторождения «Терен-Узек» были определены показатели концентрации распространённых анионов и катионов, общей ми-

нерализации, pH и температуры, как ключевые факторы условий жизнедеятельности микроорганизмов пластовых вод (таблица 1).

Полученные результаты указывают на высокую минерализацию вод, с общим содержанием растворённых веществ, достигающим $101820,0 \pm 3054,6$ мг/дм³, что свидетельствует о формировании экстремально соленой среды. Подобные значения характерны для глубинных горизонтов высокоминерализованных коллекторов и сравнимы с данными по Тенгизскому (около 98000 мг/дм³) и Кашаганскому месторождениям ($95000\text{--}105000$ мг/дм³) [13, 14].

Основными анионами в составе вод выступают хлорид-ион (Cl⁻) и натрий-ион (Na⁺), концентрации которых составляют $50516,3 \pm 940,0$ мг/дм³ и $20391,2 \pm 341,7$ мг/дм³ соответственно. Такое ионное соотношение типично для хлоркальциевого типа вод, преобладающего в крупных нефтяных бассейнах Казахстана [15]. Высокое содержание Na⁺ и Cl⁻ и, как следствие, высокая ионная сила среды, оказывает селективное давление на микробные сообщества, способствуя доминированию галофильных и осмоотолерант-

ных организмов, что подтверждается данными по преобладанию рода *Halomonas* (см. рис. 4) [1, 16].

Концентрации ионов кальция (Ca²⁺) и магния (Mg²⁺) составляют $3006,0 \pm 90,1$ мг/дм³ и $1459,2 \pm 40,0$ мг/дм³ соответственно, что также характерно для подземных вод осадочного происхождения. Относительно низкое содержание сульфат-ионов (SO₄²⁻) – $4,94 \pm 0,2$ мг/дм³ – может быть связано с активным микробным восстановлением сульфатов с участием сульфатредуцирующих бактерий (SRB), что типично для анаэробных пластовых условий [17].

Показатель pH составляет $6,49 \pm 0,19$, что свидетельствует о слабокислой реакции среды. Такой уровень кислотности способствует стабильности железа в двухвалентной форме (Fe²⁺), концентрация которого составляет $0,77 \pm 0,02$ мг/дм³, и может указывать на восстановительный потенциал среды. Также были выявлены следы трёхвалентного железа (Fe³⁺ – $0,14 \pm 0,01$ мг/дм³), что может свидетельствовать о протекании окислительно-восстановительных процессов.

Таблица 1 – Физико-химическая характеристика нефтепластовых вод месторождения «Терен-Узек»

№	Параметры	Единицы измерений	Пластовые воды
1	Хлорид-ион Cl ⁻	мг/дм ³	$50516,3 \pm 940,0$
2	Сульфат-ион SO ₄ ²⁻		$4,94 \pm 0,2$
3	Гидрокарбонат-ион HCO ₃		$146,4 \pm 5,01$
4	Карбонат-ион CO ₃ ⁻		не обнаружено
5	Na ⁺		$20391,2 \pm 341,7$
6	Mg ²⁺		$1459,2 \pm 40,0$
7	Ca ²⁺		$3006,0 \pm 90,1$
	K ⁺		$264,4 \pm 7,2$
8	Fe ³⁺		$0,77 \pm 0,02$
	Fe ²⁺		$0,77 \pm 0,02$
9	Общая минерализация	ед.	$101820,0 \pm 3054,6$
10	Взвешенные вещества		$2829,0 \pm 84,3$
11	pH		$6,49 \pm 0,19$
12	t	°C	$21,0 \pm 0,6$

Температура пластовой воды составляла $21,0 \pm 0,6$ °C, что относит месторождение к категории умеренно термальных. Это позволяет поддерживать активность как мезофильных, так и умеренно термофильных микроорганиз-

мов, включая такие роды, как *Dietzia*, *Bacillus* и *Georgenia* [18].

Таким образом, физико-химические параметры пластовых вод «Терен-Узек» создают экстремальные, но устойчивые условия, благо-

приятные для развития специализированных микробных сообществ. Эти особенности необходимо учитывать при планировании микробиологических и биотехнологических методов повышения нефтеотдачи.

Таксономический анализ микробного сообщества, выделенного из пластовой воды ме-

сторождения «Терен-Узек», представлен на рисунке 2. Согласно результатам высокопроизводительного секвенирования и последующей классификации, микробиота представлена исключительно доменом *Bacteria*, что подтверждает ранее полученные данные для аналогичных нефтяных резервуаров [19, 20].

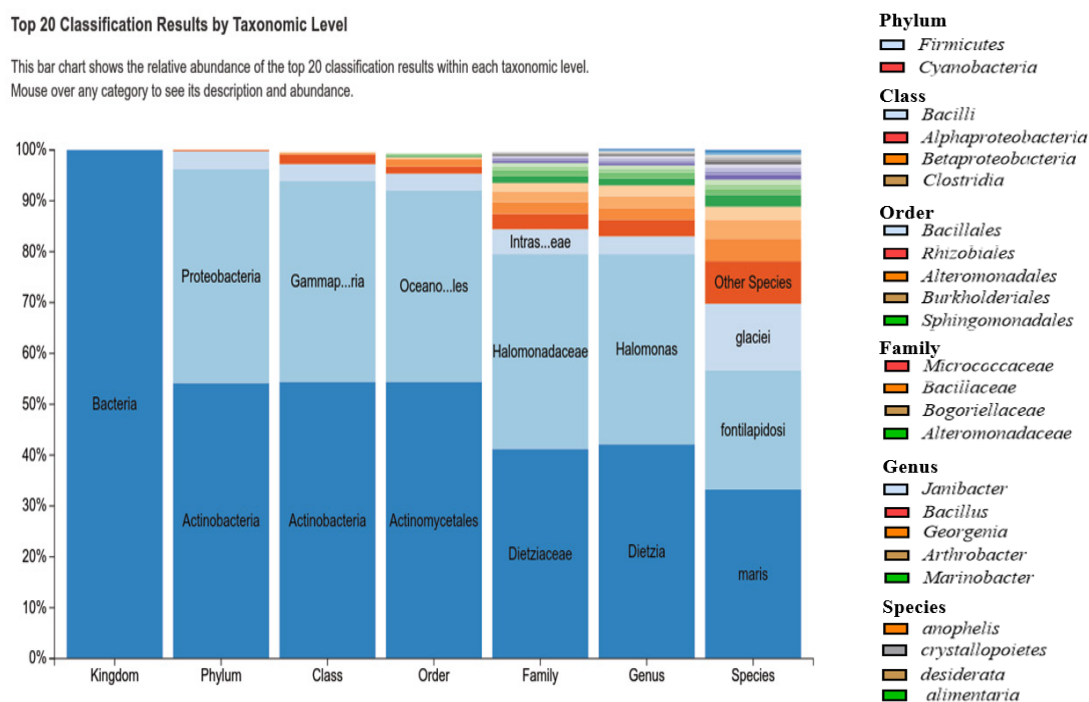


Рисунок 2 – Таксономическое распределение микробного сообщества в пластовой воде месторождения «Терен-Узек»

На уровне типа (Phylum) микробное сообщество заводненных нефтепластов преимущественно состоит из представителей *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, в меньших количествах в образце были выявлены представители типов (Phylum) *Firmicutes* и *Cyanobacteria*. Подобное доминирование представителей таксонов *Actinobacteria* и *Proteobacteria* наблюдалось и в других нефтяных месторождениях [21-24], что свидетельствует об универсальности их экологических стратегий и адаптационных механизмов в экстремальной подземной нефтяной среде. Стоит отметить, что хотя относительное представительство *Firmicutes* и *Cyanobacteria* невелико, эти микроорганизмы могут выполнять вспомогательные экологические функции, могут быть как реликтовыми компонентами исходного микробного разнообразия, так и привнесенными с поверхности при заводнении нефтепластов.

Следует отметить, высокое содержание представителей семейств (Family) *Dietziaceae* и *Halomonadaceae*, составляющих 39,67% и 35,17%, соответственно. Известно, что эти микроорганизмы широко распространены в нефтеносных пластах и характеризуются способностью к деградации углеводов, а также к продукции поверхностно-активных веществ [25, 26]. Их наличие типично для резервуаров с высокой минерализацией и указывает на адаптацию микробиоты к экстремальным условиям, аналогично результатам, полученным при изучении месторождений с повышенным соледержанием [18, 23, 27].

На рисунке 3 представлена круговая диаграмма, иллюстрирующая таксономическое распределение микробного сообщества пластовой воды месторождения «Терен-Узек» по классу.

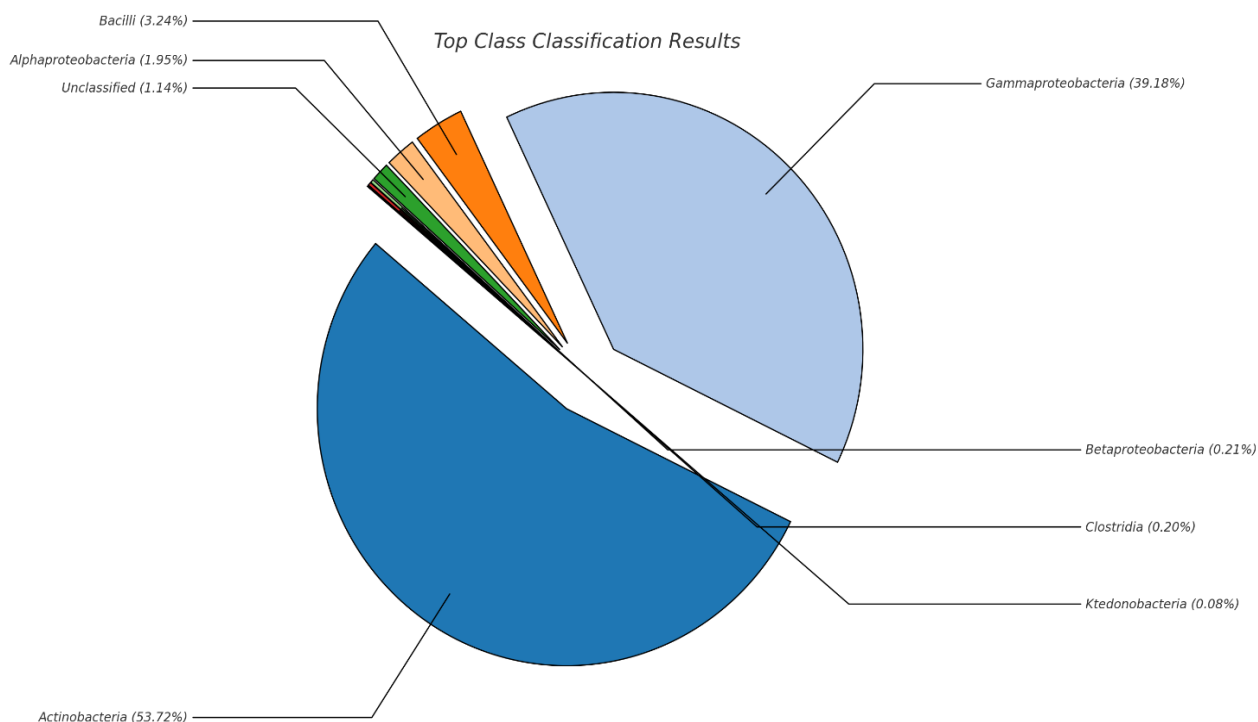


Рисунок 3 – Распределение микробиоты пластовой воды месторождения «Терен-Узек» по классу

Как видно, микробное сообщество характеризуется выраженным доминированием двух классов:

- Actinobacteria (53,72%) – наибольшая доля, что указывает на преобладание грамположительных микроорганизмов, обладающих устойчивостью к экстремальным условиям (высокое давление, соленость), а также потенциальной способностью к деградации сложных органических соединений, включая углеводороды;

- Gammaproteobacteria (39,18%) – также значительная доля, типичная для нефтяных пластов, поскольку представители этого класса включают множество нефтеокисляющих и галофильных бактерий.

Остальные классы представлены в значительно меньших количествах:

- Bacilli – 3,24%, бактерии класса *Bacilli* преимущественно факультативно аэробные, спорообразующие, что позволяет им выживать в стрессовых условиях высокой минерализации и солености пластовых вод, характеризуются устойчивостью к окислительному стрессу, что может быть важно в условиях окси-аноксигенного статуса пластовых вод, также демонстрируют широкий метаболический потенциал, позволяющий им использовать разнообразные органи-

ческие и неорганические соединения в качестве источников углерода и энергии;

- Alphaproteobacteria – 1,95%;
- Unclassified (неклассифицированные) – 1,14%, что может указывать на наличие ранее неописанных или плохо изученных таксонов;
- Betaproteobacteria – 0,21%;
- Clostridia – 0,20%;
- Ktedonobacteria – 0,08%.

Таким образом, микробное сообщество пластовой воды характеризуется низким таксономическим разнообразием на уровне класса с доминированием *Actinobacteria* и *Gammaproteobacteria*. Эти данные подтверждают наличие в системе специализированных микроорганизмов, участвующих в трансформации углеводородов, а также адаптированных к экстремальным геохимическим условиям нефтеносных пластов.

На рисунке 4 представлено распределение микробного сообщества по родам, выявленных в образце пластовой воды месторождения «Терен-Узек». Согласно результатам таксономической классификации, основную долю сообщества составляют представители родов *Dietzia* (39,67%) и *Halomonas* (35,17%), что в совокупности составляет более 74% от общего количества идентифицированных последовательностей.

Top Genus Classification Results

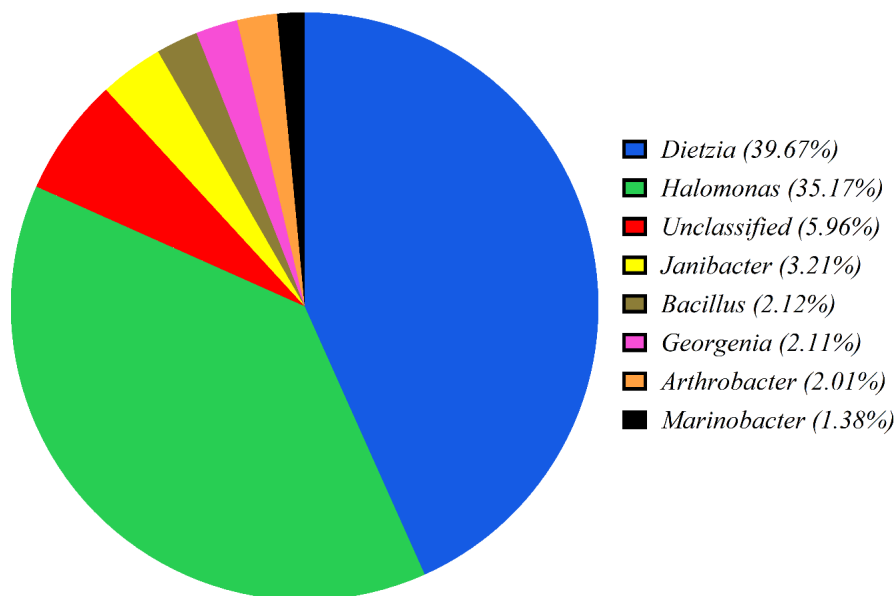


Рисунок 4 – Распределение микробного сообщества нефтепластовой воды месторождения «Терен-Узек» по родам

Доминирование представителей рода *Dietzia* в структуре микробного сообщества подтверждает ранее полученные данные о распространённости этого рода в нефтепластах. Представители р. *Dietzia*, в том числе вид *D.maris*, обладают выраженными метаболическими возможностями по деградации алканов и ароматических углеводородов, а также способностью к синтезу биосурфактантов, что делают их перспективными кандидатами для применения в технологиях микробиологического увеличения нефтеотдачи (MEOR) [25, 26, 28]. Аналогичное преобладание *Dietzia* отмечалось в нефтяных месторождениях Китая [29] и России [21]. Высокое содержание *Halomonas* также указывает на адаптацию микробного сообщества к экстремальным условиям резервуара, включая высокую минерализацию и осмотическое давление. Сходные данные о преобладании *Halomonas* были получены при изучении микробного состава пластовых вод Ромашкинского и Тенгизского месторождений [18, 30]. Остальные роды представлены в меньших количествах, среди которых *Janibacter* (3,21%), *Bacillus* (2,12%), *Georgenia* (2,11%), *Arthrobacter* (2,01%) и *Marinobacter* (1,38%). Несмотря на их сравнительно низкую долю, данные таксоны могут играть важную вспомогательную роль в биогеохимических процессах, происходящих в

резервуаре. В частности, *Bacillus* известен как продуцент биосурфактантов и спор, устойчивых к экстремальным условиям [7], а *Marinobacter* – как активный участник окисления углеводородов в морских и нефтяных экосистемах [31].

Категория «Unclassified» (5,96%) указывает на наличие неклассифицированных последовательностей, что может свидетельствовать о присутствии новых или недостаточно изученных таксонов, характерных для уникальных условий месторождения «Терен-Узек».

Заключение

Таким образом, на основе определения микробного и физико-химического статуса заводненных нефтепластов месторождения «Терен-Узек», можно сделать вывод, что высокая минерализация с экстремально соленой средой на глубине 800-850 м при 21 °C формирует уникальные условия для существования адаптированных к ним микроорганизмов. Выявлено, что микробиота заводненных нефтепластов представлена исключительно доменом *Bacteria*, на уровне типа (Phylum) преимущественно состоит из представителей *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Показано низкое таксономическое разнообразие микробного сообщества

нефтепластов на уровне класса с доминированием Actinobacteria и Gammaproteobacteria. Установлено, что основную долю бактериального сообщества составляют представители родов *Dietzia* (39,67%) и *Halomonas* (35,17%), что в совокупности составляет более 74% от общего количества идентифицированных последовательностей, остальные роды представлены в меньших количествах: *Janibacter* (3,21%), *Bacillus* (2,12%), *Georgenia* (2,11%), *Arthrobacter* (2,01%) и *Marinobacter* (1,38%).

В целом, таксономическая структура микробного сообщества пластовой воды месторождения «Терен-Узек» согласуется с результатами, полученными в других нефтяных бассейнах, и отражает типичную адаптацию микробиоты к

экстремальным анаэробным с небольшим окислительным потенциалом (следы трёхвалентного железа), термофильным и соевым условиям. Обнаруженные таксоны представляют интерес для дальнейшего изучения в рамках биотехнологических разработок, направленных на повышение нефтеотдачи (MEOR) и биоразложение загрязняющих соединений.

Источник финансирования

Данное исследование выполнено в рамках финансирования Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан Grant No. AP19577160 и BR24992814

Литература

1. Лебедева Е.Г., Челноков Г.А., Харитонов Н.А. Особенности распределения различных функциональных групп бактерий и их численность в подземных холодных высокоминерализованных водах Приморского края // Успехи современного естествознания. 2018. № 12-1. С. 162-167;
2. Характеристика микробной составляющей подземных вод Республики Хакасия в условиях углеводородного загрязнения / Н. Г. Наливайко, Ю. С. Сыроватко, Е. М. Дутова, Д. С. Покровский // Вестник Томского государственного университета. 2007. № 300 (II). С. 190-193.
3. Kaiyrmanova G. K., Tapeshova Sh. Zh., Shaimerdenova U. T., Magmiyayev R. B., Yernazarova A.K. Identification of microorganisms isolated from oil reservoir water of the Akingen field, Kazakhstan. Вестник КазНУ. Серия биологическая – №1 (90). – 2022. – 126-136 с.
4. Head, I. M., Jones, D. M., & Røling, W. F. M. (2003). Marine microorganisms make a meal of oil. *Nature Reviews Microbiology*, 1(3), 225–231.
5. Ж.Д. Дуйсебаев, Б. Т. Кожаметов, Г. А. Парамонова. Современное состояние нефтегазовых объектов прибрежной зоны аккумулятивных равнин северо-восточного прикаспия. Нефть и газ. Известия нап рк. Серия геологическая. 2007. №3. С. 55-63
6. Банзаракцаева Т.Г. Распространение и активность бактерий – деструкторов содовых озерах Забайкалья в зависимости от экологических условий: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Т.Г. Банзаракцаева; Бурят.гос. ун-т. – Улан-Удэ, 2002. – 20 с.
7. ГОСТ 26449.1-85. Методы химического анализа солевых вод.
8. МВИ № 13-2020. Титриметрический метод анализа проб.
9. ГОСТ 23268.11-78. Воды минеральные питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. Метод определения ионов железа.
10. ГОСТ 23268.16-78. Воды минеральные питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. Методы определения йодид-ионов.
11. ГОСТ 23268.15-78. Воды минеральные питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. Методы определения бромид-ионов.
12. СТ РК ASTM D 445-2011. Метод определения кинематической вязкости прозрачных и непрозрачных жидкостей (расчет динамической вязкости).
13. Zhakipbekov M., et al. Hydrogeochemical characteristics of the Tengiz oilfield waters // *KazGeoJournal*. – 2016. – Vol. 2. – P. 71-78.
14. Aitkulov A., et al. Salinity and ionic composition of formation waters in the Caspian basin // *Petroleum Geology of Kazakhstan*. – 2019.
15. Baikenov A.N. Classification of reservoir waters of Kazakhstan oilfields // *Geology and Subsoil Use*. – 2015.
16. Ventosa A., Nieto J.J., Oren A. Halophilic microorganisms in saline environments // *Extremophiles*. – 1998. – Vol. 2, No. 1. – P. 85–90.
17. Muyzer G., Stams A.J.M. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria // *Nature Reviews Microbiology*. – 2008. – Vol. 6. – P. 441–454.
18. Nazina, T. N., Ivanova, A. E., Borzenkov, I. A., Belyaev, S. S., & Ivanov, M. V. Occurrence and geochemical activity of microorganisms in high-temperature, water-flooded oil fields of Kazakhstan and Western Siberia. *Geomicrobiology Journal*, 1995, 13(3), 181–192.

19. Magot M., Ollivier B., Patel B.K.C. Microbiology of petroleum reservoirs // *Antonie van Leeuwenhoek*. – 1997. – Vol. 77. – P. 103–116.
20. Nazina T.N., et al. Microbial community of formation water from Siberian oilfields // *Microbiology*. – 2006. – Vol. 75, No. 1. – P. 55–65.
21. Назина Т.Н. и др. Микроорганизмы карбонатной нефтяной залежи 302 Ромашкинского месторождения и их биотехнологический потенциал // *Микробиология*. 2013. Т. 82. № 2. С. 191–202.
22. Y.J. Liu, Y.P. Chen, P.K. Jin, X.C. Wang. Bacterial communities in a crude oil gathering and transferring system (China), *Anaerobe*, Volume 15, Issue 5, 2009, Pages 214–218.
23. Tang Y.Q., Li Y., Zhao J.Y., Chi C.Q., Huang L.X., Dong H.P., Wu X.L. Microbial communities in long-term, water-flooded petroleum reservoirs with different in situ temperatures in the Huabei Oilfield, China // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, No. 3. – e33535.
24. Brakstad O.G., Kotlar H.K., Markussen S. Microbial communities of a complex high-temperature offshore petroleum reservoir // *International Journal of Oil, Gas and Coal Technology*. – 2008. – Vol. 1, No. 3.
25. Nakano M, Kihara M, Iehata S, Tanaka R, Maeda H, Yoshikawa T. Wax ester-like compounds as biosurfactants produced by *Dietzia maris* from n-alkane as a sole carbon source. *J Basic Microbiol*. 2011 Oct;51(5):490-8. doi: 10.1002/jobm.201000420. Epub 2011 Mar 24. PMID: 21656811.
26. Venil CK, Malathi M, Devi PR. Characterization of *Dietzia maris* AURCCBT01 from oil-contaminated soil for biodegradation of crude oil. *3 Biotech*. 2021 Jun;11(6):291. doi: 10.1007/s13205-021-02807-7. Epub 2021 May 23. PMID: 34109094; PMCID: PMC8141481.
27. Nazina T.N. *et al.* Microbiological and production characteristics of the Dagang high-temperature heavy oil reservoir during trials of the biotechnology for enhanced oil recovery. *Microbiology (Russian Federation)*, 2017, 86(5), 653–665
28. Gharibzahedi, S.M.T., Razavi, S.H. & Mousavi, M. Potential applications and emerging trends of species of the genus *Dietzia*: a review. *Ann Microbiol*. 64, 421–429 (2014).
29. Hui, L., Ai, M., Han, S. *et al.* Microbial diversity and functionally distinct groups in produced water from the Daqing Oilfield, China. *Pet. Sci.* 9, 469–484 (2012).
30. А. А. Юсупова, М. В. Гируц, Д. С. Вылекжанина, Е. М. Семенова, Г. Н. Гордадзе. Образование нефтяных углеводородов-биомаркеров из биомассы бактерий *Halomonas titanicae*, выделенных из нефти Ромашкинского месторождения // *Нефтехимия*, 2022, том 62, № 2, с. 241–247.
31. Т. П. Турова, Д. Ш. Соколова, Е. М. Семенова, А. П. Ершов, Д. С. Груздев, Т. Н. Назина. Геномные и физиологические характеристики галофильных бактерий родов *Halomonas* и *Marinobacter* из нефтяных пластов. *Микробиология*, 2022, Т. 91, № 3, стр. 285–299.

References

1. Aitkulov A., Baikenov A.N., Duisebaev Zh.D., Kozhakhmetov B.T., Paramonova G.A. (2019) Salinity and ionic composition of formation waters in the Caspian basin. *Petroleum Geology of Kazakhstan*.
2. Baikenov A.N. (2015) Classification of reservoir waters of Kazakhstan oilfields. *Geology and Subsoil Use*.
3. Banzaraksheva T.G. (2002) Rasprostranenie i aktivnost' bakterii-destruktorov v sodovykh ozerakh Zabaikal'ya v zavisimosti ot ekologicheskikh uslovii. Cand. Biol. Sci. Diss. Ulan-Ude: Buryatsky Gos. Univ., 20 p.
4. Brakstad O.G., Kotlar H.K., Markussen S. (2008) Microbial communities of a complex high-temperature offshore petroleum reservoir. *Int. J. Oil, Gas Coal Technol.*, vol. 1(3), pp. 264–275.
5. Duisebaev Zh.D., Kozhakhmetov B.T., Paramonova G.A. (2007) Sovremennoe sostoyanie neftegazovykh ob'ektov pribrezhnoi zony akumulativnykh ravnin severo-vostochnogo Prikaspiya. *Izv. NAN RK. Ser. Geol.*, no. 3, pp. 55–63.
6. Gharibzahedi S.M.T., Razavi S.H., Mousavi M. (2014) Potential applications and emerging trends of species of the genus *Dietzia*: a review. *Ann. Microbiol.*, vol. 64, pp. 421–429.
7. Head I.M., Jones D.M., Röling W.F.M. (2003) Marine microorganisms make a meal of oil. *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 1(3), pp. 225–231.
8. Hui L., Ai M., Han S. et al. (2012) Microbial diversity and functionally distinct groups in produced water from the Daqing Oilfield, China. *Pet. Sci.*, vol. 9, pp. 469–484.
9. Kaiyrmanova G.K., Tapesheva Sh.Zh., Shaimerdenova U.T., Magmiyayev R.B., Yernazarova A.K. (2022) Identification of microorganisms isolated from oil reservoir water of the Akingen field, Kazakhstan. *Vestn. KazNU. Ser. Biol.*, no. 1(90), pp. 126–136.
10. Lebedeva E.G., Chelnokov G.A., Kharitonova N.A. (2018) Osobennosti raspredeleniya funktsional'nykh grupp bakterii v podzemnykh kholodnykh vodakh Primorskogo kraia. *Uspekhi Sovr. Estestvoznaniya*, no. 12–1, pp. 162–167.
11. Liu Y.J., Chen Y.P., Jin P.K., Wang X.C. (2009) Bacterial communities in a crude oil gathering and transferring system (China). *Anaerobe*, vol. 15(5), pp. 214–218.
12. Magot M., Ollivier B., Patel B.K.C. (1997) Microbiology of petroleum reservoirs. *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 77, pp. 103–116.
13. Muyzer G., Stams A.J.M. (2008) The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 6, pp. 441–454.
14. Nakano M., Kihara M., Iehata S. et al. (2011) Wax ester-like compounds as biosurfactants produced by *Dietzia maris* from n-alkane as a sole carbon source. *J. Basic Microbiol.*, vol. 51(5), pp. 490–498.

15. Naliyvaiko N.G., Syrovatko Yu.S., Dutova E.M., Pokrovskiy D.S. (2007) Kharakteristika mikrobnoy sostavlyayushchey podzemnykh vod Respubliki Khakasiya v usloviyakh uglevodorodnogo zagryazneniya. *Vestn. Tomsk. Gos. Univ.*, no. 300(II), pp. 190–193.
16. Nazina T.N., Ivanova A.E., Borzenkov I.A., Belyaev S.S., Ivanov M.V. (1995) Occurrence and geochemical activity of microorganisms in high-temperature oil fields of Kazakhstan and Western Siberia. *Geomicrobiol. J.*, vol. 13(3), pp. 181–192.
17. Nazina T.N. et al. (2006) Microbial community of formation water from Siberian oilfields. *Microbiology*, vol. 75(1), pp. 55–65.
18. Nazina T.N. et al. (2017) Microbiological and production characteristics of the Dagang heavy oil reservoir during biotechnology application. *Microbiology*, vol. 86(5), pp. 653–665.
19. Nazina T.N., Sokolova D.Sh., Semenova E.M., Ershov A.P., Gruzdev D.S., Turova T.P. (2022) Genomic and physiological characteristics of halophilic bacteria *Halomonas* and *Marinobacter* from oil reservoirs. *Mikrobiologiya*, vol. 91(3), pp. 285–299.
20. ST RK ASTM D 445–2011. (2011) Metod opredeleniya kinematischeskoy vyazkosti zhidkostey (raschet dinamicheskoy vyazkosti).
21. Tang Y.Q., Li Y., Zhao J.Y. et al. (2012) Microbial communities in long-term, water-flooded petroleum reservoirs with different in situ temperatures. *PLoS ONE*, vol. 7(3), e33535.
22. Venil C.K., Malathi M., Devi P.R. (2021) Characterization of *Dietzia maris* AURCCBT01 from oil-contaminated soil. *3 Biotech*, vol. 11(6), Art. 291.
23. Ventosa A., Nieto J.J., Oren A. (1998) Halophilic microorganisms in saline environments. *Extremophiles*, vol. 2(1), pp. 85–90.
24. Yusupova A.A., Giruts M.V., Vylekzhanina D.S., Semenova E.M., Gordadze G.N. (2022) Formation of hydrocarbon biomarkers from biomass of *Halomonas titanicae*. *Neftekhimiya*, vol. 62(2), pp. 241–247.
25. Zhaksebekov Zh.D., Kozhakhmetov B.T., Paramonova G.A. (2007) Sovremennoe sostoyanie neftegazovykh ob'ektov Prikaspiya. *Izv. NAN RK. Ser. Geol.*, no. 3, pp. 55–63.
26. Zhakipbekov M., et al. (2016). Hydrogeochemical characteristics of the Tengiz oilfield waters. *KazGeoJournal*, 2, 71–78.
27. GOST 23268.11–78. (1978) Vody mineral'nye. Metod opredeleniya ionov zheleza.
28. GOST 23268.15–78. (1978) Vody mineral'nye. Metod opredeleniya bromid-ionov.
29. GOST 23268.16–78. (1978) Vody mineral'nye. Metod opredeleniya iodid-ionov.
30. GOST 26449.1–85. (1985) Metody khimicheskogo analiza solyonykh vod.
31. MVI No. 13–2020. (2020) Titrimetricheskii metod analiza prob.

Информация об авторах:

Кайырманова Гульжан Кайыржановна – кандидат биологических наук, ассоциированный профессор, Казахский национальный университет им. Аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: kairman@mail.ru.)

Асылбек Әлішер Ерланұлы – магистр, Казахский национальный университет им. Аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: alisherasilbek162@gmail.com.)

Ерназарова Алия Кулахметовна – кандидат биологических наук, Казахский национальный университет им. Аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: aliya.yernazarova@kaznu.edu.kz.)

Шаймерденова Үлжан Тұрғанбекқызы – PhD студент, Казахский национальный университет им. Аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: shaimerdenovau@gmail.com.)

Нурканова Альмира Жанатовна – магистрант, Казахский национальный университет им. Аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: almmmnur@gmail.com)

Information about authors:

Kaiyrmanova Gulzhan Kaiyrzhanovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: kairman@mail.ru)

Asylbek Alisher Yerlanuly – Master's Degree Holder, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: alisherasilbek162@gmail.com)

Yernazarova Aliya Kulakhmetovna – Candidate of Biological Sciences, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: aliya.yernazarova@kaznu.edu.kz)

Shaimerdenova Ulzhan Turganbekkyzy – PhD Student, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: shaimerdenovau@gmail.com)

Nurkanova Almira Zhanatovna – Master's Student, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: almmmnur@gmail.com)

Поступило 6 марта 2025 года

Принято 20 мая 2025 года

N. Akmukhanova^{1*} , S. Seilbek¹ , R. Bakytzhan¹ ,
G. Domash¹ , S. Amin¹ 

Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: akmukhanova.nurziya@gmail.com

BIODIVERSITY OF MICROALGAE AND CYANOBACTERIA IN COTTON FIELD ECOSYSTEMS OF THE TURKESTAN REGION

This study explores the biodiversity of microalgae and cyanobacteria in cotton field ecosystems of the Turkestan Region, Kazakhstan. Soil sample analysis identified 45 species of microalgae and cyanobacteria, with cyanobacteria—particularly those belonging to the genera *Nostoc* and *Anabaena*—showing the highest diversity. Furthermore, four pure cultures were isolated using the enrichment culture method, allowing detailed examination of their morphological traits and tolerance to pesticides. These organisms play important ecological roles, especially in nutrient cycling and nitrogen fixation, contributing to soil fertility and sustainability of agroecosystems. To evaluate photosynthetic activity under stress conditions, an experiment was conducted using the widely used herbicide atrazine. The results revealed species-specific differences in pesticide resistance, highlighting the resilience of some isolates. The findings underscore the potential application of these native microalgae and cyanobacteria in bioremediation of pesticide-contaminated soils. Moreover, due to their sensitivity and adaptive responses, they can serve as valuable bioindicators of chemical pollution. By expanding knowledge of local microbial biodiversity, this research lays the groundwork for utilizing autotrophic microorganisms in bioindication and agroecological management.

Keywords: microalgae, cyanobacteria, biodiversity, pesticides, atrazine.

Н.Р. Акмуханова^{1*}, С.Н. Сейілбек¹, Р.Ә. Бақытжан¹,
Г.С. Домаш¹, С. Амин¹

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

*e-mail: akmukhanova.nurziya@gmail.com

Түркістан облысы мақта алқабының экожүйелеріндегі микробалдырлар мен цианобактериялардың биоалуантүрлілігі

Бұл зерттеуде Қазақстанның Түркістан облысындағы мақта алқаптарының агрожүйелерінде тіршілік ететін микробалдырлар мен цианобактериялардың биоалуантүрлілігі зерттелді. Топырақ үлгілерін талдау нәтижесінде микробалдырлар мен цианобактериялардың 45 түрі анықталды, олардың ішінде *Nostoc* және *Anabaena* туыстарына жататын цианобактериялар алуан түрлілігімен ерекшеленді. Жинақы дақыл әдісі арқылы төрт таза дақыл бөлініп алынып, олардың морфологиялық белгілері мен пестицидтерге төзімділігі жан-жақты зерттелді. Бұл организмдер экожүйелерде, әсіресе биогеохимиялық циклдер мен азот фиксациясында маңызды рөл атқарады, бұл топырақ құнарлылығын арттыруға және ауыл шаруашылығының тұрақтылығына ықпал етеді. Атразин гербицидін пайдалана отырып, стресс жағдайындағы фотосинтетикалық белсенділікті бағалау мақсатында тәжірибе жүргізілді. Нәтижелер пестицидтерге төзімділікте түрге тән айырмашылықтарды көрсетті. Алынған дақылдар пестицидтермен ластанған топырақтарды биоремедиациялау үшін қолдануға жарамды және химиялық ластанудың биоиндикаторы ретінде пайдаланылуы мүмкін. Жергілікті микробтық биоалуантүрлілік туралы білімді тереңдете отырып, бұл зерттеу автотрофты микроағзаларды биоиндикация мен агроэкологиялық басқаруда қолданудың негізін қалайды.

Түйін сөздер: микробалдырлар, цианобактериялар, биоалуантүрлілік, пестицидтер, атразин.

Н.Р. Акмуханова^{1*}, С.Н. Сейілбек¹, Р.Ә. Бақытжан¹,
Г.С. Домаш¹, С. Амин¹

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

*e-mail: akmukhanova.nurziya@gmail.com

Видовое разнообразие микроводорослей и цианобактерий в экосистемах хлопковых полей Туркестанской области

В настоящем исследовании рассматривается биоразнообразие микроводорослей и цианобактерий, обитающих в агроэкосистемах хлопковых полей Туркестанской области, Казахстан. В результате анализа образцов почвы было выявлено 45 видов микроводорослей и цианобактерий, при этом наибольшее разнообразие наблюдалось среди цианобактерий, в частности, родов *Nostoc* и *Anabaena*. С использованием метода накопительных культур были выделены четыре чистые культуры, что позволило детально изучить их морфологические характеристики и устойчивость к пестицидам. Эти организмы играют важную роль в экосистемах, особенно в биогеохимических циклах и фиксации азота, что способствует повышению плодородия почвы и устойчивости сельского хозяйства. Для оценки фотосинтетической активности в условиях стрессового воздействия был проведён эксперимент с применением гербицида атразина. Полученные результаты показали видоспецифические различия в устойчивости к пестицидам. Исследуемые штаммы обладают потенциалом для применения в биоремедиации загрязнённых пестицидами почв, а также могут служить биоиндикаторами химического загрязнения. Расширяя знания о местном микробном биоразнообразии, данное исследование закладывает основу для использования автотрофных микроорганизмов в биоиндикации и агроэкологическом управлении.

Ключевые слова: микроводоросли, цианобактерии, биоразнообразие, пестициды, атразин.

1. Introduction

Cotton fields, despite their considerable economic importance and substantial contribution to the textile industry, pose a significant environmental challenge. The main environmental concerns associated with cotton cultivation include the use of pesticides and chemical fertilizers, water resource management, soil salinization and erosion, carbon footprint, as well as public health impacts and the degradation of natural ecosystems [1]. Intensive application of pesticides and chemical fertilizers on cotton fields leads to environmental pollution, as these substances can penetrate the soil and water resources, thereby adversely affecting biodiversity and ecosystem health [2].

Considering these environmental challenges, the Turkestan Region in southern Kazakhstan, recognized as the northernmost cotton-producing territory in the world, faces unique problems. Each year, medium-fiber cotton is cultivated here on an area of 115,000–125,000 hectares [3,4], leading to additional environmental threats such as soil salinization, drought, pests, and diseases. Pesticides enter the environment through various pathways after their application to agricultural crops or soil. Many pesticides contain chemical compounds that can be harmful or even lethal to humans, animals, and plants. Global pesticide consumption in agriculture is projected to increase to 4.5 million metric tons by 2027 [5]. While the majority of agricultural

pesticides are used in North and South America, pesticide usage in Kazakhstan, as in many other countries, is rising. These chemicals are essential for increasing crop yields and ensuring regional food security. Currently, approximately 1,021 trade names of pesticides with various applications and uses are registered in Kazakhstan [6]. Each year, the list of registered pesticides expands by 15–20 new formulations. The predominant classes of pesticides in use include insecticides (172), fungicides (125), and herbicides (520). These compounds are often detected at levels exceeding legally established limits or environmental standards [7].

Furthermore, an inventory of obsolete pesticides in Kazakhstan has identified over 700 storage sites and 15 burial facilities. The accumulation of outdated pesticide stocks not only poses risks to public health and the environment but also contributes to the contamination of natural resources and hinders socio-economic development. Consequently, adherence to global standards and regulatory requirements for highly hazardous pesticides remains a pressing issue.

In response to these issues, the algal flora of cotton fields constitutes an important component of the ecosystem. Microalgae and cyanobacteria in soils play a crucial role in maintaining soil health and fertility. These photosynthetic microorganisms play a role in carbon and nitrogen fixation, improve soil structure, and stimulate plant development [8;9]. In addition, they generate valuable biomass, phytohor-

mones, and other bioactive compounds that enhance soil ecological conditions and aid in the suppression of plant diseases [8].

In addition, microalgae and cyanobacteria play an essential role in sustaining ecological balance within agricultural ecosystems by taking part in nutrient cycling, enhancing soil structure, and fostering biodiversity. Their ability to degrade toxic substances such as insecticides and herbicides makes them crucial for increasing the resilience of ecosystems to chemical contamination [10]. The response of microalgae to pesticides varies among species: some exhibit resistance, while others are more sensitive. These differences are explained by their eco-physiological characteristics, which are especially notable among Arctic and temperate microalgae [11]. Meanwhile, several microalgal strains, including *Chlorella* and *Scenedesmus*, efficiently remove pesticides from the environment through biodegradation, with certain strains achieving over 90% pesticide removal efficiency. This underscores their potential for use in bioremediation [12].

The aim of this study is to examine the species diversity of microalgae and cyanobacteria in cotton field ecosystems of the Turkestan Region and to isolate and characterize strains that exhibit resistance to pesticides. Examining microalgae and cyanobacteria in this context will enable an assessment of their ecological role and potential in maintaining the health and resilience of cotton field ecosystems under intensive agricultural conditions.

2. Materials and methods

Sampling

Soil samples were collected from cotton fields located in the village of Sholpankuduk, Zhetisay district, Turkestan Region (40.945160, 68.105845) during the spring and summer of 2024. A total of 28 algological samples were collected from sites where algal growth was visibly pronounced. Each sample was accurately labeled with the corresponding sample number, date and location of collection, and the name of the collector. Field sampling and subsequent laboratory analysis were conducted in accordance with established algological methodologies.

Each soil sample was subjected to microscopic examination using “Premiere” and “MicrosAustria” light microscopes at magnifications of 40× to 100×. For each of the five microscope slides prepared, a minimum of 30–40 fields of view were observed. Microalgae and cyanobacteria were identified in

both their native and fixed forms, with formaldehyde and iodine solutions used as fixatives. Taxonomic determinations of microalgae and cyanobacteria were carried out according to standard taxonomic literature [13; 14] and updated information from AlgaeBase [15], CyanoDB [16], as well as relevant modern taxonomic studies.

Isolation of Microalgae and Cyanobacterial Strains

For the preparation of enrichment cultures, the collected material was inoculated into flasks or test tubes containing sterile liquid nutrient medium, ensuring that the medium volume did not exceed 1/3–1/4 of the flask volume. The inoculated culture vessels were incubated at 25°C under constant artificial light supplied by Flora Led 35 D120 lamps, with an intensity of 80 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. The nutrient media used to obtain enrichment cultures of microalgae and cyanobacteria included Zarrouk’s, Gromov’s, BG-11, Tamiya, and Prat.

After the cultivation period, 1 mL of the microalgal and cyanobacterial suspension was transferred onto Petri dishes containing solid nutrient agar—either directly or after several subculturing steps, depending on the purity of the enrichment culture. The suspension was spread across the agar surface using a sterile spatula. The Petri dishes were then placed under light to allow colony formation. From each developed colony, a portion of the culture was taken with a loop and transferred to fresh liquid medium or a slant. By repeatedly isolating material from a single colony and employing a sufficiently diluted suspension for inoculation, it can be assumed that each colony arises from a single cell [17]. The purity of the microalgal and cyanobacterial cultures was verified before and after each stage of the procedure through thorough microscopic examination using phase-contrast illumination (Carl Zeiss Axioskop 40, Germany). All procedures were conducted under aseptic conditions with sterile materials. The cultures were maintained at 22–24°C under constant illumination.

Methodology for Determining the Pesticide Resistance of Microalgae and Cyanobacteria

Microalgae and cyanobacteria were initially grown for 8–10 days in 500 mL conical flasks containing the appropriate nutrient media, under constant artificial lighting from Flora Led 35 D120 lamps (80 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) at a temperature of 22–24°C. The growth of microalgae was monitored by recording changes in their cell density

using a Goryaev counting chamber [18]. Once the cultures reached the exponential phase, they were transferred to 1 L Erlenmeyer flasks with an initial cell density of 2.5×10^5 cells/mL. After transfer, the cells were exposed to different concentrations of the pesticide atrazine for 72 hours. To ensure statistical reliability of the results, the experiment was conducted in triplicate for each concentration of the pesticide.

To evaluate the response of microalgae to pesticides, both the cell density and the maximum quantum yield of the photochemical reactions (FV/FM) were measured at the beginning of the experiment (time zero) and after 72 hours. Fluorescence intensity was also recorded as an indicator of photosynthetic activity. Rapid chlorophyll a fluorescence induction curves in intact cyanobacterial cultures were recorded using Aquapen-C 100 fluorometers (PSI, Czech Republic) under actinic light with a wavelength of 630 nm and an intensity of $1500 \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. The obtained curves were analyzed using the JIP-test methodology [19], which includes the following parameters: fluorescence intensity at 20 μs (FO), 2 ms (FJ), 30 ms (FI), 6 s (F6s), as well as FP (FM, the maximum fluorescence intensity) and M0 (the area above the OJIP kinetic curve and below FM). Based on these measurements, the following indicators were calculated:

FV = FM – FO, representing the maximum variable fluorescence;

FV/FM, indicating the maximum quantum yield of the primary photochemical reaction in open PS II reaction centers ($\text{FV/FM} = \phi\text{Po}$).

All measurements were carried out in at least five replicates.

3. Results and discussion

Algal Flora of Cotton Field Ecosystems in the Turkestan Region

The Turkestan Region is characterized by diverse soil types, including dark and light sierozems (grey soils), meadow-sierozems, and meadow soils. Irrigated lands in the region often have low nutrient content. According to the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan, the soils in this area include non-saline soils (69%), slightly saline (13%), moderately saline (11%), and strongly saline (7%). The largest number of strongly and severely saline lands has been recorded in the Zhetisay, Otyrar, Shardara, and Maktaaral districts. Based on their meliorative status, the region's irrigated lands are

classified as good (185.5 thousand ha), satisfactory (166.6 thousand ha), and unsatisfactory (222.3 thousand ha) (Official Internet Resource of the Republic of Kazakhstan).

Cotton cultivation is actively developing in the Zhetisay district. In 2024, more than 40 thousand hectares of cotton were sown in this area, and by October, over 50 thousand tons of the “white gold” had been harvested. To enhance crop yields and promote more efficient water use, innovative water-saving methods such as drip irrigation are being implemented. Nevertheless, soil degradation—especially salinization—continues to pose a significant threat to agriculture in the region. Salinization not only lowers crop productivity but can also lead to the conversion of fertile soils into saline-affected lands. The cotton field soils in the village of Sholpankuduk, Maktalynsky rural district, Zhetisay district of the Turkestan Region, are significantly impacted by pesticides. The intensive use of chemical plant protection agents—such as insecticides, herbicides, and fungicides—stems from the need to combat pests and weeds common to this crop. However, prolonged pesticide application negatively affects soil quality.

In this study, 45 species of microalgae and cyanobacteria were identified from soil samples (Fig. 1). These included five species of *Xanthophyta* (yellow-green algae), 19 species of cyanobacteria, seven species of *Bacillariophyta* (diatoms), and 14 species of green algae. The most commonly encountered species were *Phormidium autumnale*, *Nitzschia palea*, *Chlorella vulgaris*, *Nostoc linckia*, and *Anabaena flos-aquae*. These species, belonging to different taxonomic groups, play important roles in various soil processes. *Chlorella vulgaris* is an important component in food webs and nutrient cycling. Cyanobacteria were found to be the most diverse group, comprising 19 species. The family *Nostocaceae*, which includes the genera *Anabaena* and *Nostoc*, exhibited the highest species diversity. Heterocystous forms such as *Anabaena cylindrica* and *Nostoc commune* constituted the majority of the cyanobacterial community. These organisms play a crucial role in biogeochemical cycles, especially nitrogen fixation, which is critically important for agriculture.

The results of the study, based on collected soil samples, revealed a significant diversity of microalgae and cyanobacteria inhabiting this ecosystem. The observed species diversity of microalgae and cyanobacteria highlights their importance for ecosystem processes and soil fertility maintenance.

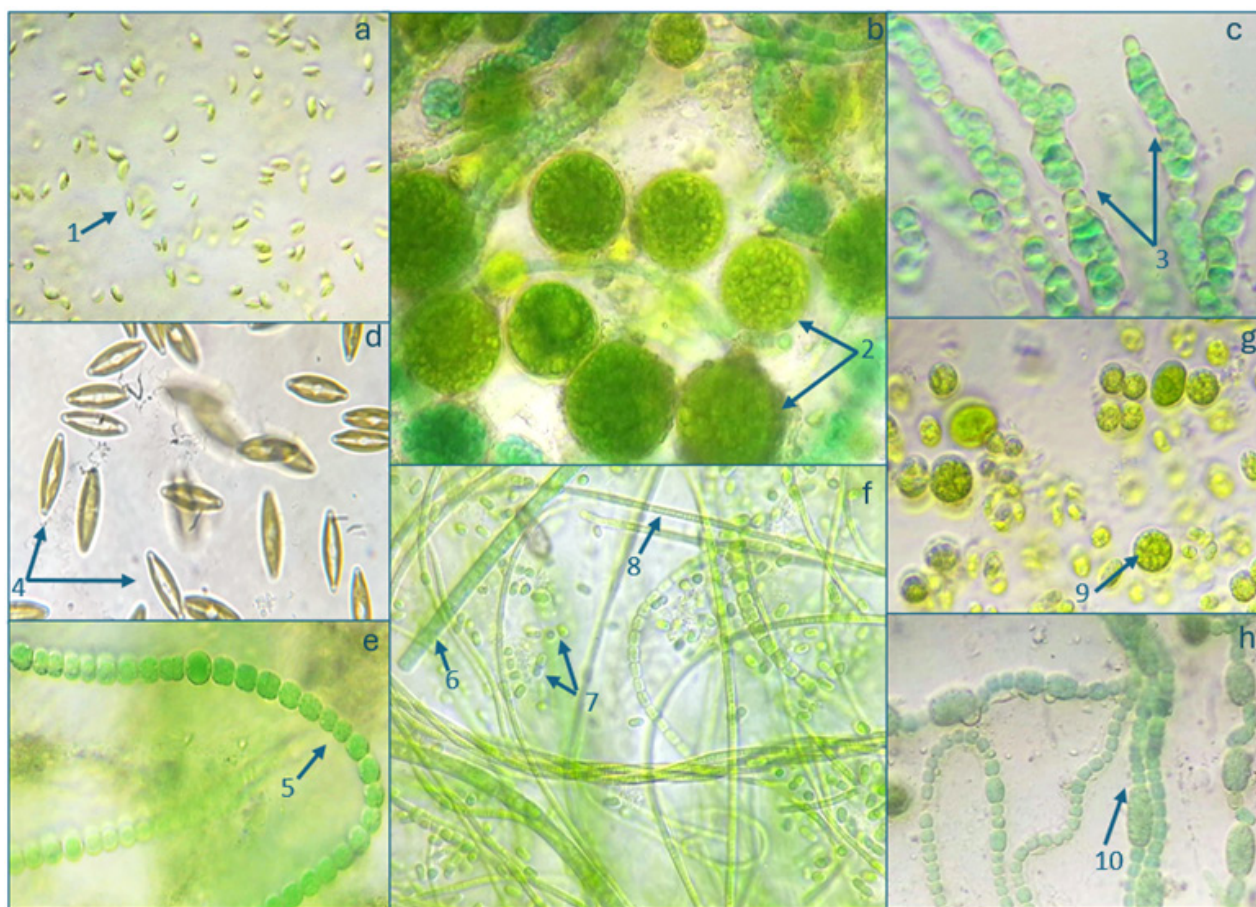


Figure 1 – Biodiversity of Microalgae in the Ecosystems of Cotton Fields in the Turkestan Region. a-h-specimens of the studied samples. Numbers indicate: 1- *Dunaliella*, 2-*Chlorococcum*, 3-*Nostoc*, 4-*Navicula*, 5-*Nostoc*, 6-*Phormidium*, 7-*Synechococcus*, 8-*Oscillatoria*, 9-*Chlorella*, 10-*Anabaena*

Isolation of Pure Cyanobacterial Cultures

Using the enrichment culture method based on collected soil samples, four algologically and bacteriologically pure cultures of cyanobacteria and microalgae were isolated. The morphological study of pure microalgae and cyanobacteria revealed the following characteristics: the culture *Chlorella vulgaris* Sp – T24 is a unicellular green microalga with a spherical shape, measuring 2-10 µm in diameter. The cells have a smooth cell wall and contain a single large chloroplast, which gives them a bright green color (Fig. 2). *Scenedesmus* Sp – T24 is a colonial green alga forming groups of 2-4 cells arranged in linear colonies. The cells are oval or cylindrical, mea-

suring 5-15 µm in length and 2-4 µm in width (Fig. 2). *Synechococcus* Sp – D24 is a unicellular cyanobacterium with elongated cylindrical cells, measuring 2-6 µm in length and 1-2 µm in width. The cells are blue-green in color, and reproduction occurs through binary fission (Fig. 2). *Nostoc* Sp – D24 is a colonial cyanobacterium forming filamentous trichomes up to several hundred micrometers in length. The cells are spherical or oval, with a diameter of 3-6 µm, and are surrounded by a mucilaginous sheath. The trichomes include heterocysts, which are specialized cells involved in nitrogen fixation (Fig. 2). The isolated cultures demonstrated good growth on Tamiya, Gromov, and BG-11 nutrient media.

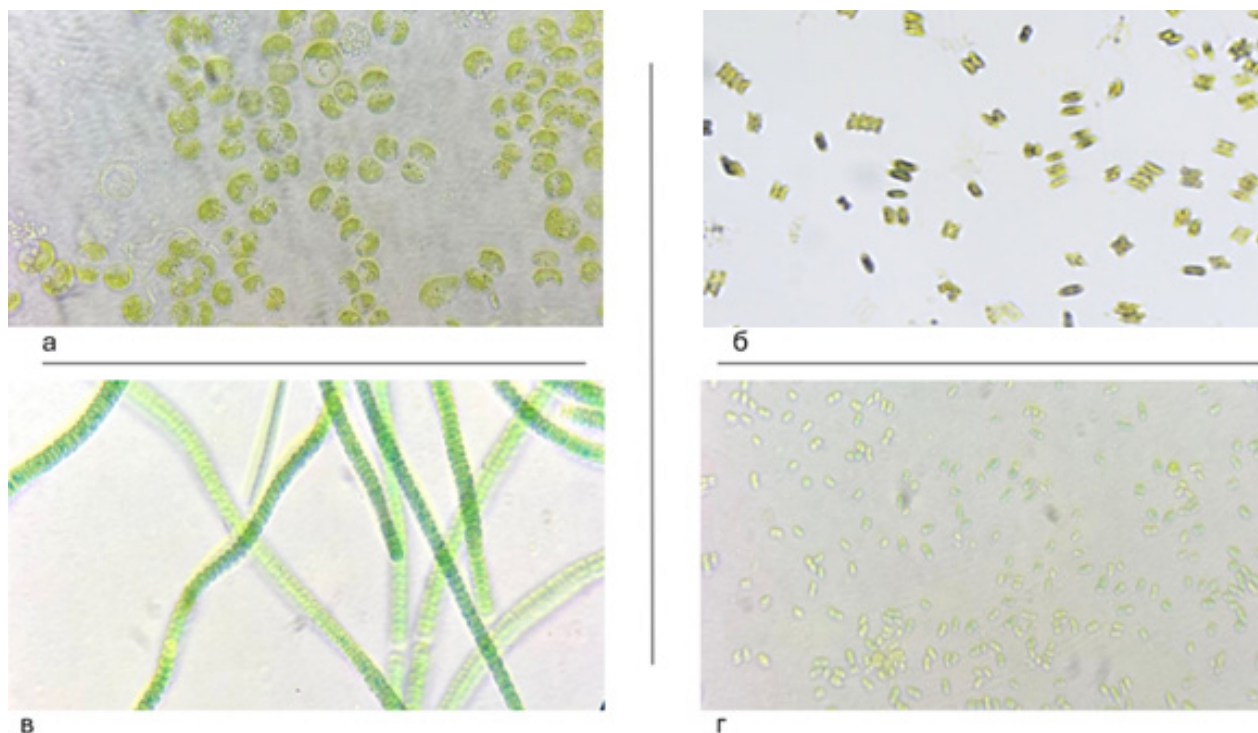


Figure 2 – Microphotographs of Isolated Microalgae and Cyanobacteria from the Soils of Cotton Fields in the Turkestan Region.
a – *Chlorella vulgaris* Sp-T24, b – *Scenedesmus* Sp-T24, c – *Nostoc* Sp-D24, d – *Synechococcus* Sp-D24.

Determination of Microalgae Resistance to Pesticides

To assess the resistance of microalgae (*Chlorella vulgaris* Sp-T24, *Scenedesmus* Sp-T24, *Synechococcus* Sp-D24, *Nostoc* Sp-D24) to atrazine, an experiment was conducted in which the cultures were exposed to various concentrations of atrazine

(0.1 µg/L, 1 µg/L, 10 µg/L) for 72 hours. For each microalgae species, the following parameters were measured: maximum quantum yield of photochemical reactions (FV/FM), fluorescence intensity as an indicator of photosynthetic activity, and growth inhibition expressed as a percentage reduction in biomass (Table 1).

Table 1 – Effects of Different Atrazine Concentrations on Key Parameters of Microalgae

Atrazine concentration (µg/L)	Microalgal species	FV/FM (φP ₀)	Fluorescence intensity (%)	Growth inhibition (%)
0 (control)	<i>Chlorella vulgaris</i> Sp-T24	0.48	100	0
0.1	<i>Chlorella vulgaris</i> Sp-T24	0.46	95	5
1	<i>Chlorella vulgaris</i> Sp-T24	0.41	80	20
10	<i>Chlorella vulgaris</i> Sp-T24	0.35	50	50
0 (control)	<i>Scenedesmus</i> Sp-T24	0.44	100	0
0.1	<i>Scenedesmus</i> Sp-T24	0.38	85	15
1	<i>Scenedesmus</i> Sp-T24	0.35	60	40
10	<i>Scenedesmus</i> Sp-T24	0.25	30	70
0 (control)	<i>Synechococcus</i> Sp-D24	0.47	100	0
0.1	<i>Synechococcus</i> Sp-D24	0.45	90	10
1	<i>Synechococcus</i> Sp-D24	0.42	75	25

Continuation of the table

Atrazine concentration (µg/L)	Microalgal species	FV/FM (φPo)	Fluorescence intensity (%)	Growth inhibition (%)
10	<i>Synechococcus</i> Sp-D24	0.38	60	40
0 (control)	<i>Nostoc</i> Sp-D24	0.46	100	0
0.1	<i>Nostoc</i> Sp-D24	0.35	70	30
1	<i>Nostoc</i> Sp-D24	0.30	50	50
10	<i>Nostoc</i> Sp-D24	0.20	20	80

The experimental data demonstrate that atrazine exhibits an inhibitory effect on the photosynthetic activity and growth of all studied microalgal species. The most significant reduction in fluorescence intensity and FV/FM was observed at an atrazine concentration of 10 µg/L, confirming its toxicity to these organisms. At the same time, at concentrations of 0.1 µg/L and 1 µg/L, changes in the parameters were less pronounced, which may indicate a lower toxicity of these concentration levels for the studied microalgal species.

The greatest inhibition of growth and photosynthesis was observed in *Scenedesmus* Sp-T24 and *Nostoc* Sp-D24 under the influence of atrazine, indicating their sensitivity to the pesticide. In contrast, *Chlorella vulgaris* Sp-T24 and *Synechococcus* Sp-D24 exhibited higher tolerance to atrazine compared to the other cultures, maintaining a significant portion of their photosynthetic activity even at increased pesticide concentrations. *Nostoc* Sp-D24 proved to be the most sensitive species, making it a potential indicator for assessing pesticide impacts on ecosystems.

The maximum quantum yield of primary photochemical reactions (FV/FM, φPo) in *Chlorella vulgaris* Sp-T24 and *Synechococcus* Sp-D24 remained at a high level (0.46–0.45), indicating their ability to maintain photosynthetic activity under low atrazine concentrations (Table 1). In contrast, *Scenedesmus* Sp-T24 showed a slight decrease in FV/FM even at an atrazine concentration of 0.1 µg/L, suggesting its lower tolerance.

The analysis of the results revealed a significant decrease in fluorescence intensity in all studied microalgal cultures with increasing atrazine concentrations. This reduction is associated with damage to the photosynthetic apparatus caused by the toxic effects of the pesticide. A more pronounced decline in fluorescence was observed in *Scenedesmus* Sp-T24 and *Nostoc* Sp-D24, confirming their heightened vulnerability. In contrast, *Chlorella vulgaris* Sp-T24 and *Synechococcus* Sp-D24 demonstrated

higher tolerance to atrazine. This could be attributed to physiological traits such as enhanced detoxification mechanisms or more effective protection of the photosynthetic apparatus.

Scenedesmus Sp-T24 and *Nostoc* Sp-D24 exhibited the greatest sensitivity to atrazine, indicating a lower adaptation to pesticide-induced stress. The findings of this study emphasize the differences in microalgal sensitivity to atrazine. More tolerant species, such as *Chlorella vulgaris* Sp-T24 and *Synechococcus* Sp-D24, may have potential for biotechnological applications, including bioremediation in pesticide-contaminated environments. In contrast, the most sensitive species, *Scenedesmus* Sp-T24 and *Nostoc* Sp-D24, can serve as bioindicators for assessing pesticide pollution in aquatic ecosystems.

The study of microalgae and cyanobacteria inhabiting the ecosystems of cotton fields in the Turkestan region highlights the diversity of organisms that play a crucial role in maintaining ecosystem processes. In particular, the identification of 45 species of microalgae and cyanobacteria, including species such as *Chlorella vulgaris*, *Nostoc linckia*, and *Anabaena flos-aquae*, confirms the presence of diverse taxonomic groups within these ecosystems. These microorganisms play a key role in sustaining soil fertility and supporting biogeochemical cycles, including nitrogen fixation [20; 21]. Cyanobacteria belonging to the family *Nostocaceae*, including *Anabaena cylindrica* and *Nostoc commune*, play a crucial role in agroecosystems by improving soil quality through atmospheric nitrogen fixation, which in turn boosts crop productivity in nitrogen-poor soils [22].

Cyanobacteria of the *Nostocaceae* family play a crucial role in cotton cultivation by promoting plant growth and controlling soil-borne pathogens. Studies have shown that *Nostoc* species can effectively inhibit *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*, increasing cotton seedling survival and yield [23;24]. These cyanobacteria also act as biofertilizers, fixing nitrogen in paddy fields and potentially in

cotton fields [25; 26]. However, the use of synthetic nitrogen fertilizers negatively impacts the diversity of nitrogen-fixing cyanobacteria [25]. Research suggests that early-appearing, efficient nitrogen-fixers should be used as alternatives to synthetic fertilizers for sustainable agriculture [25]. Additionally, cyanobacteria have shown potential in pesticide biodegradation and produce bioactive compounds like ammonia and enzymes that contribute to their effectiveness in controlling fungal diseases in cotton [24].

An important aspect of the study is the impact of pesticides, specifically atrazine, on the photosynthetic activity of microalgae. Atrazine exhibited toxic effects on photosynthesis, as evidenced by reduced fluorescence intensity and photochemical activity across all studied species. The research demonstrated that *Chlorella vulgaris* and *Synechococcus* exhibited higher tolerance to atrazine compared to *Scenedesmus* and *Nostoc*, which displayed the most pronounced sensitivity to the pesticide. These findings could have significant ecological implications, as they emphasize the importance of certain species' resilience to chemical pollution, which can be leveraged for developing environmentally safe bioremediation methods [27; 28]. Studies have investigated the effects of atrazine, a widely used herbicide, on various algal species. *Chlorella vulgaris* demonstrated moderate tolerance to atrazine, with EC50 values ranging from 42-125 µg/L [29]. However, *C. vulgaris* exhibited significant physiological and genetic responses to atrazine exposure, including reduced photosystem gene transcription and increased antioxidant enzyme activity [30]. Comparatively, *Scenedesmus acutus* and *Pseudanabaena galeata* showed higher sensitivity to atrazine, with 96-hour EbC50 values of 0.014 mg/L for both species [31]. Interestingly, some algal strains, such as *Franceia* sp., displayed notably higher atrazine tolerance, with EC50 values ranging from 430-774 µg/L [29].

These findings suggest that atrazine tolerance varies significantly among algal species and strains, with potential implications for aquatic ecosystem dynamics in atrazine-contaminated environments. Bioremediation has emerged as an environmentally friendly and cost-effective approach for pesticide decontamination [32]. Various microorganisms, including bacteria, fungi, and algae, have been identified for their ability to degrade pesticides [33]. These

microbes utilize pesticides as nutrients, breaking them down into non-toxic molecules through processes like mineralization and co-metabolism [33]. Enzymes play a crucial role in pesticide bioremediation, influencing their modes of action and environmental fates [34]. Factors such as pesticide type, microorganism species, temperature, humidity, and acidity affect the degradation process [33].

At the same time, highly sensitive species can serve as indicators of pesticide contamination, offering potential applications in monitoring soil and aquatic ecosystem quality. These organisms respond quickly to environmental changes, making them ideal for assessing toxicity and providing early warning signals of pollution [35].

Conclusion

This study highlights the ecological and biotechnological importance of microalgae and cyanobacteria in cotton field ecosystems of the Turkestan region. The identification of 45 species demonstrates their taxonomic richness and functional roles, particularly in nitrogen fixation and soil fertility enhancement. Species of the Nostocaceae family not only contribute to nutrient cycling but also promote plant growth and suppress soil-borne pathogens, making them valuable for sustainable agriculture. The assessment of atrazine toxicity revealed varying sensitivities among species, with *Chlorella vulgaris* Sp-T24 and *Synechococcus* Sp-D24 showing higher tolerance than *Scenedesmus* Sp-T24 and *Nostoc* Sp-D24. These findings suggest potential for using tolerant strains in bioremediation and sensitive species as indicators of environmental contamination. Microalgae and cyanobacteria possess the ability to degrade pesticides and produce bioactive compounds, positioning them as promising agents in eco-friendly biotechnologies. Their application could reduce reliance on synthetic agrochemicals, mitigate pollution, and support soil health, offering practical solutions for sustainable land management and environmental protection.

Acknowledgments

This research was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan under the project: (AP23488308, 2024–2026).

References

1. Sharma B. Environmental and Socioeconomic Impacts of the Cotton Industry in Bhilwara, Rajasthan: A Comprehensive Analysis // International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET). – 2024. – T. 12, № VIII. <https://doi.org/10.22214/ijraset.2024.64010>
2. Sahay A. Cotton Plantations in India: The Environmental and Social Challenges // Yuridika. – 2019. – T. 34, № 3. – С. 429–442. <https://doi.org/10.20473/ydk.v34i3.14944>
3. Makhmadjanov S., Tokhetova L., Daurenbek N., Tagaev A., Kostakov A.K. Cotton advanced lines assessment in the Southern Region of Kazakhstan // SABRAO Journal of Breeding and Genetics. – 2023. <https://doi.org/10.54910/sabrao2023.55.2.1>
4. Makhmadjanov S., Tokhetova L., Daurenbek N., Tagaev A.M., Kostakov A.K. Selection of cotton varieties in a competitive nursery in the South of Kazakhstan // International Journal of Environmental Engineering and Development. – 2024. <https://doi.org/10.37394/232033.2024.2.1>
5. Raffa C.M., Chiampo F. Bioremediation of Agricultural Soils Polluted with Pesticides: A Review // Bioengineering. – 2021. – T. 8. – № 92. <https://doi.org/10.3390/bioengineering8070092>
6. Forecast: global agricultural use of pesticides 2023-2027 // Statista Research Department. – 2023, August 2. <https://www.statista.com/aboutus/our-research-commitment>
7. Country review of the production and use of highly hazardous pesticides in Kazakhstan // Public Foundation «Center for Sustainable Development Assistance». – 2020. – 44 p. https://ipen.org/sites/default/files/documents/final_ru_kazakhstan_hhp_country_situation_report_final_18.05.2020.pdf
8. National Report on the State of the Environment and the Use of Natural Resources of the Republic of Kazakhstan for 2018 // Ministry of Ecology, Geology, and Natural Resources.
9. Song X., Bo Y., Feng Y., Tan Y., Zhou C., Yan X., Ruan R., Xu Q., Cheng P. Potential applications for multifunctional microalgae in soil improvement // Frontiers in Environmental Science. – 2022. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.1035332>
10. Abinandan S., Subashchandrabose S.R., Venkateswarlu K., Megharaj M. Soil microalgae and cyanobacteria: the biotechnological potential in the maintenance of soil fertility and health // Critical Reviews in Biotechnology. – 2019. – Vol. 39. – P. 981–998. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1654972>
11. Du J., Izquierdo D., Naoum J., Ohlund L.B., Sleno L., Beisner B.E., Lavaud J., Juneau P. Pesticide responses of Arctic and temperate microalgae differ in relation to ecophysiological characteristics // Aquatic Toxicology. – 2022. – Vol. 254. – 106323. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106323>
12. Fayaz T., Rana S.S., Goyal E., Ratha S.K., Renuka N. Harnessing the potential of microalgae-based systems for mitigating pesticide pollution and its impact on their metabolism // Journal of Environmental Management. – 2024. – Vol. 357. – 120723. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120723>
13. Gollerbakh M.M., Kossinskaya E.K., Polyanskiy V.I. Manual of Freshwater Algae of the USSR. Blue-Green Algae. – Moscow: Sovetskaya Nauka, 1953.
14. Muzafarov A.M., Ergashev A.E., Khalilova S.Kh. Determinant of Blue-Green Algae in Central Asia. – Tashkent: Fangoria, 1988. – Vol. 2. – P. 406–815.
15. Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-Wide Electronic Publication, National University of Ireland, Galway. – 2013. – URL: <http://www.algaebase.org>.
16. Hauer T., Komárek J. CyanoDB 2.0 – On-line database of cyanobacterial genera. World-wide electronic publication, University of South Bohemia & Institute of Botany AS CR. – 2022. – URL: <http://www.cyanodb.cz>.
17. Temraleeva A.D., Dronova S.A., Moskalenko S.V., Didovich S.V. Modern methods for isolation, purification, and cultivation of soil cyanobacteria // Journal of Microbiology. – 2016. – Vol. 85. – P. 389–399. <https://doi.org/10.1134/S0026261716040159>
18. Yibeltie G. The Role of Cyanobacteria on Agriculture // Journal of Natural Sciences Research. – 2018. – Vol. 8. – P. 1–5.
19. Schreiber U. Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: An overview // In: Papageorgiou G.C., Govindjee (Eds.). Chlorophyll a fluorescence: Advances in photosynthesis and respiration. – Dordrecht: Springer, 2004. – P. 279–319. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_11
20. Codd G.A., Morrison L.F., Metcalf J.S. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection // Toxicology and Applied Pharmacology. – 2005. – Vol. 203, No. 3. – P. 264–272. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2004.02.016>
21. Yadav S., Rai S., Rai R., Shankar A., Singh S., Rai L.C. Cyanobacteria: Role in Agriculture, Environmental Sustainability, Biotechnological Potential and Agroecological Impact // In: Singh D., Singh H., Prabha R. (Eds.). Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives. – Springer, Singapore, 2017. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_10
22. El-Sheekh M.M., El-Kassas H.Y., Ali S.S. Microalgae-based bioremediation of refractory pollutants: an approach towards environmental sustainability // Microbial Cell Factories. – 2025. – Vol. 24. – P. 19. <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02638-0>
23. Afify A.H., Ashour A.R. Using Cyanobacteria (*Nostoc* spp.) in the Biological Control of Damping-off Disease in Cotton // Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology. – 2023. <https://doi.org/10.21608/jacb.2023.220778.1058>
24. Afify A.H., Ashour A. Cyanobacteria and Fungicide as Controlling Agents for Cotton Fungal Diseases // Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology. – 2024. <https://doi.org/10.21608/jacb.2024.260886.1073>
25. Choudhary K.K., Bimal R. Distribution of nitrogen-fixing cyanobacteria (*Nostocaceae*) during rice cultivation in fertilized and unfertilized paddy fields // Nordic Journal of Botany. – 2010. – Vol. 28. – P. 100–103. <https://doi.org/10.1111/J.1756-1051.2009.00486.X>

26. Jiménez-Ríos L., Torrado A., Gonzalez-Pimentel J.L., Iniesta-Pallarés M., Molina-Heredia F.P., Mariscal V., Álvarez C. Emerging nitrogen-fixing cyanobacteria for sustainable cotton cultivation // *Science of the Total Environment*. – 2024. – 171533. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171533>
27. Yeheyo H.A., Ealias A.M., George G., Jagannathan U.M. Bioremediation potential of microalgae for sustainable soil treatment in India: A comprehensive review on heavy metal and pesticide contaminant removal // *Journal of Environmental Management*. – 2024. – Vol. 363. – 121409. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.121409>
28. Avila R. et al. Biodegradation of hydrophobic pesticides by microalgae: Transformation products and impact on algae biochemical methane potential // *Science of the Total Environment*. – 2021. – Vol. 754. – P. 142114.
29. Hersh C.M., Crumpton W.G. Atrazine tolerance of algae isolated from two agricultural streams // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 1989. – Vol. 8. – P. 327–332. <https://doi.org/10.1002/ETC.5620080409>
30. Qian H., Sheng G.D., Liu W., Lu Y., Liu Z., Fu Z. Inhibitory effects of atrazine on *Chlorella vulgaris* as assessed by real-time polymerase chain reaction // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2008. – Vol. 27. <https://doi.org/10.1897/07-163.1>
31. Carrasco J., Sabater C. Toxicity of atrazine and chlorsulfuron to algae // *Toxicological & Environmental Chemistry*. – 1997. – Vol. 59. – P. 89–99. <https://doi.org/10.1080/02772249709358427>
32. Zhang J.L., Qiao C. Novel approaches for remediation of pesticide pollutants // *International Journal of Environment and Pollution*. – 2002. – Vol. 18. – P. 423–433. <https://doi.org/10.1504/IJEP.2002.002337>
33. Sehrawat A., Phour M., Kumar R., Sindhu S.S. Bioremediation of Pesticides: An Eco-Friendly Approach for Environment Sustainability. – 2021. https://doi.org/10.1007/978-981-15-7447-4_2
34. Scott C., Pandey G., Hartley C.J., Jackson C.J., Cheesman M.J., Taylor M.C., Pandey R., Khurana J.L., Teese M.G., Coppin C.W., Weir K.M., Jain R.K., Lal R., Russell R.J., Oakeshott J.G. The enzymatic basis for pesticide bioremediation // *Indian Journal of Microbiology*. – 2008. – Vol. 48. – P. 65–79. <https://doi.org/10.1007/s12088-008-0007-4>
35. Cid Á., Prado R., Blanco C.R., Suarez Bregua P., Herrero C. Use of Microalgae as Biological Indicators of Pollution: Looking for New Relevant Cytotoxicity Endpoints. – 2012. – ID: 131840078. <http://hdl.handle.net/2183/16634>

References

1. Abinandan S., Subashchandrabose S.R., Venkateswarlu K., Megharaj M. Soil microalgae and cyanobacteria: the biotechnological potential in the maintenance of soil fertility and health. *Crit Rev Biotechnol*. 2019;39:981–998. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1654972>
2. Afify A.H., Ashour A. Cyanobacteria and Fungicide as Controlling Agents for Cotton Fungal Diseases. *J Agric Chem Biotechnol*. 2024. <https://doi.org/10.21608/jacb.2024.260886.1073>
3. Afify A.H., Ashour A.R. Using Cyanobacteria (*Nostoc* spp.) in the Biological Control of Damping-off Disease in Cotton. *J Agric Chem Biotechnol*. 2023. <https://doi.org/10.21608/jacb.2023.220778.1058>
4. Avila R., et al. Biodegradation of hydrophobic pesticides by microalgae: Transformation products and impact on algae biochemical methane potential. *Sci Total Environ*. 2021;754:142114.
5. Carrasco J., Sabater C. Toxicity of atrazine and chlorsulfuron to algae. *Toxicol Environ Chem*. 1997;59:89–99. <https://doi.org/10.1080/02772249709358427>
6. Choudhary K.K., Bimal R. Distribution of nitrogen-fixing cyanobacteria (*Nostocaceae*) during rice cultivation in fertilized and unfertilized paddy fields. *Nord J Bot*. 2010;28:100–103. <https://doi.org/10.1111/J.1756-1051.2009.00486.X>
7. Cid Á., Prado R., Blanco C.R., Suarez Bregua P., Herrero C. Use of Microalgae as Biological Indicators of Pollution: Looking for New Relevant Cytotoxicity Endpoints. 2012. ID: 131840078. <http://hdl.handle.net/2183/16634>
8. Codd G.A., Morrison L.F., Metcalf J.S. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005;203(3):264–272. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2004.02.016>
9. Du J., Izquierdo D., Naoum J., et al. Pesticide responses of Arctic and temperate microalgae differ in relation to ecophysiological characteristics. *Aquat Toxicol*. 2022;254:106323. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106323>
10. El-Sheekh M.M., El-Kassas H.Y., Ali S.S. Microalgae-based bioremediation of refractory pollutants: an approach towards environmental sustainability. *Microb Cell Fact*. 2025;24:19. <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02638-0>
11. Fayaz T., Rana S.S., Goyal E., Ratha S.K., Renuka N. Harnessing the potential of microalgae-based systems for mitigating pesticide pollution and its impact on their metabolism. *J Environ Manag*. 2024;357:120723. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120723>
12. Forecast: global agricultural use of pesticides 2023–2027. *Statista Research Department*. 2023 Aug 2. <https://www.statista.com/aboutus/our-research-commitment>
13. Gollerbakh M.M., Kosinskaya E.K., Polyanskii V.I. *Opredelitel presnovodnykh vodoroslei SSSR*. Vyp. 2 [Key to freshwater algae of USSR. Vol. 2]. Moscow, Nauka Publ., 1953, 652 p. (in Russian)
14. Guiry M.D., Guiry G.M. *AlgaeBase. World-Wide Electronic Publication*, National University of Ireland, Galway. 2013. <http://www.algaebase.org>
15. Hauer T., Komárek J. *CyanoDB 2.0 – Online database of cyanobacterial genera*. University of South Bohemia & Institute of Botany AS CR. 2022. <http://www.cyanodb.cz>
16. Hersh C.M., Crumpton W.G. Atrazine tolerance of algae isolated from two agricultural streams. *Environ Toxicol Chem*. 1989;8:327–332. <https://doi.org/10.1002/ETC.5620080409>

17. Jiménez-Ríos L., Torrado A., Gonzalez-Pimentel J.L., et al. Emerging nitrogen-fixing cyanobacteria for sustainable cotton cultivation. *Sci Total Environ.* 2024;171533. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171533>
18. Makhmadjanov S., Tokhetova L., Daurenbek N., Tagaev A., Kostakov A.K. Cotton advanced lines assessment in the Southern Region of Kazakhstan. *SABRAO J Breed Genet.* 2023. <https://doi.org/10.54910/sabrao2023.55.2.1>
19. Makhmadjanov S., Tokhetova L., Daurenbek N., Tagaev A.M., Kostakov A.K. Selection of cotton varieties in a competitive nursery in the South of Kazakhstan. *Int J Environ Eng Dev.* 2024. <https://doi.org/10.37394/232033.2024.2.1>
20. Ministry of Ecology, Geology, and Natural Resources. *National Report on the State of the Environment and the Use of Natural Resources of the Republic of Kazakhstan for 2018.*
21. Muzafarov A.M., Ergashev A.E., Khalilova S.Kh. Opredelitel' sine-zelenykh vodorosley Sredney Azii. [Determinant of Blue-Green Algae in Central Asia], Tashkent: Fan, 1987. – T. 1. – S. 3–405.
22. OF “Tsentr ‘Sodeystvie ustoychivomu razvitiyu’”. Stranovoy obzor proizvodstva i ispol'zovaniya osobo opasnykh pestitsidov v Kazakhstane [Public Foundation “Center for Sustainable Development Assistance”. Country review of the production and use of highly hazardous pesticides in Kazakhstan], 2020; 44 p. https://ipen.org/sites/default/files/documents/final_ru_kazakhstan_hhp_country_situation_report_final_18.05
23. Qian H., Sheng G.D., Liu W., et al. Inhibitory effects of atrazine on *Chlorella vulgaris* as assessed by real-time polymerase chain reaction. *Environ Toxicol Chem.* 2008;27. <https://doi.org/10.1897/07-163.1>
24. Raffa C.M., Chiampo F. Bioremediation of Agricultural Soils Polluted with Pesticides: A Review. *Bioengineering.* 2021;8(92). <https://doi.org/10.3390/bioengineering8070092>
25. Sahay A. Cotton Plantations in India: The Environmental and Social Challenges. *Yuridika.* 2019;34(3):429–442. <https://doi.org/10.20473/ydk.v34i3.14944>
26. Schreiber U. Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: An overview. In: Papageorgiou G.C., Govindjee (Eds). *Chlorophyll a fluorescence: Advances in photosynthesis and respiration.* Dordrecht: Springer; 2004. p. 279–319. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_11
27. Scott C., Pandey G., Hartley C.J., et al. The enzymatic basis for pesticide bioremediation. *Indian J Microbiol.* 2008;48:65–79. <https://doi.org/10.1007/s12088-008-0007-4>
28. Sehrawat A., Phour M., Kumar R., Sindhu S.S. *Bioremediation of Pesticides: An Eco-Friendly Approach for Environment Sustainability.* 2021. https://doi.org/10.1007/978-981-15-7447-4_2
29. Sharma B. Environmental and Socioeconomic Impacts of the Cotton Industry in Bhilwara, Rajasthan: A Comprehensive Analysis. *Int J Res Appl Sci Eng Technol (IJRASET).* 2024;12(VIII). <https://doi.org/10.22214/ijraset.2024.64010>
30. Song X., Bo Y., Feng Y., et al. Potential applications for multifunctional microalgae in soil improvement. *Front Environ Sci.* 2022. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.1035332>
31. Temraleeva A.D., Dronova S.A., Moskalenko S.V., Didovich S.V. Modern methods for isolation, purification, and cultivation of soil cyanobacteria. *J Microbiol.* 2016;85:389–399. <https://doi.org/10.1134/S0026261716040159>
32. Yadav S., Rai S., Rai R., et al. Cyanobacteria: Role in Agriculture, Environmental Sustainability, Biotechnological Potential and Agroecological Impact. In: Singh D., Singh H., Prabha R. (Eds). *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives.* Springer, Singapore; 2017. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_10
33. Yeheyo H.A., Ealias A.M., George G., Jagannathan U.M. Bioremediation potential of microalgae for sustainable soil treatment in India: A comprehensive review on heavy metal and pesticide contaminant removal. *J Environ Manag.* 2024;363:121409. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.121409>
34. Yibeltie G. The Role of Cyanobacteria on Agriculture. *J Nat Sci Res.* 2018;8:1–5.
35. Zhang J.L., Qiao C. Novel approaches for remediation of pesticide pollutants. *Int J Environ Pollut.* 2002;18:423–433. <https://doi.org/10.1504/IJEP.2002.002337>

Авторлар туралы мәлімет:

Акмукханова Нурзия Рахмедиевна – к.б.н., и.о. профессора кафедры биотехнологии, КазНУ, 050040, Алматы, Казахстан. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9274-807X>, akmukhanova.nurziya@gmail.com

Сейілбек Сандугаи Нұрланқызы – PhD докторант 3 курса специальности «Биотехнология» кафедры биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби Алматы, Казахстан, <https://orcid.org/0000-0003-4897-12046>, sseilbek1@gmail.com

Бақытжан Рамина Әміргалиқызы – магистрант 2 курса специальности «Биотехнология» кафедры биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби Алматы, Казахстан, ramina.baytzhana@mail.ru 6 ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0002-3262-681X>

Домаш Гүлжайна Серікқызы – магистрант 2 курса специальности «Биотехнология» кафедры биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби Алматы, Казахстан, domashg28@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-0035-2460>

Амин Сукрон – студент 3 курса бакалавриата по специальности «Биотехнология» кафедры биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан. sukronamin1612@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-9413-3492>

Information about authors:

Akmukhanova Nurziya (corresponding author) – Candidate of Biological Sciences, Acting Professor of the Department of Biotechnology, Al-Farabi Kazakh National University, 050040, Almaty, Kazakhstan. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9274-807X>, akmukhanova.nurziya@gmail.com

Seilbek Sandugash – 3rd-year PhD student in “Biotechnology” at the Department of Biotechnology, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4897-12046>, sseilbek1@gmail.com

Bakytzhan Ramina – 2nd-year master’s student in “Biotechnology” at the Department of Biotechnology, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan, ramina.baytzhan@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0002-3262-681X>

Domash Gulzhaina – 2nd-year master’s student in “Biotechnology” at the Department of Biotechnology, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan, domashg28@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-0035-2460>

Amin Sukron – 3rd-year bachelor’s student in the Biotechnology program at the Department of Biotechnology, al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan. sukronamin1612@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-9413-3492>

Received January 18, 2025

Re-uploaded April 2, 2025

Accepted May 20, 2025

6-бөлім
**АДАМ МЕН ЖАНУАРЛАР
ФИЗИОЛОГИЯСЫ**

Section 6
**HUMANS AND ANIMALS
PHYSIOLOGY**

Раздел 5
**ФИЗИОЛОГИЯ
ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

G.R. Smagul¹, Yu.A. Sinyavskiy^{2*},
D.N. Tuigunov², Y.N. Omarov²

¹Almaty Technological University, Almaty, Kazakhstan

²Kazakh academy of nutrition LLP, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: sinyavskiy@list.ru

ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT STATUS OF RATS AT THE BACKGROUND OF CONSUMPTION OF SPECIALIZED CHOCOLATE WITH LEAD ACETATE EXPOSURE

This article presents the results of experimental research on the assessment of the antioxidant status of animals consuming specialized chocolate developed from mare's milk, enriched with resveratrol and vitamin E. The study demonstrated that after 30 days of intragastric lead acetate administration, rats showed an activation of lipid peroxidation processes in their blood serum. This was accompanied by the accumulation of both primary and secondary products—malondialdehyde and diene conjugates—as well as a decrease in vitamin E content and total antioxidant activity in the blood.

Excessive accumulation of peroxidation products was accompanied by increased catalase activity and decreased superoxide dismutase activity. It is noteworthy that all observed changes in the mentioned indicators were statistically significant. The reduction in antioxidant status highlighted the need to enrich the diet of animals under lead intoxication conditions with products containing high levels of antioxidants and antioxidant substances.

In this study, the effect of specialized chocolate enriched with mare's milk, resveratrol, and vitamin E on the antioxidant status of animals exposed to toxic lead acetate administration was evaluated. After 30 days of the experimental period, the consumption of 5 grams of specialized chocolate per day by the rats was found to improve their antioxidant status. This improvement was reflected by a reduction in lipid peroxidation products in the blood serum, increased superoxide dismutase activity, decreased catalase activity, and higher levels of vitamin E and total antioxidant activity in the serum.

The obtained results indicate the beneficial effect of the chocolate on the processes of lipid peroxidation and antioxidant defense, supporting its potential use for preventive purposes in cases of lead salt poisoning.

Keywords: antioxidant status, chocolate, mare's milk, resveratrol, vitamin E, toxic intoxication.

Ғ.Р. Смағұл¹, Ю.А. Синявский^{2*}, Д.Н. Туйғунов², Е.Н. Омаров²

¹Алматы технологиялық университеті, Алматы, Қазақстан

²«Қазақ тағамтану академиясы» ЖШС, Алматы, Қазақстан

*e-mail: sinyavskiy@list.ru

Қорғасын ацетатымен уланған кезде мамандандырылған шоколад тұтынған егеуқұйрықтардың антиоксиданттық күйін зерттеу

Мақалада бие сүті негізінде дайындалған, ресвератрол мен Е дәрумені қосылған мамандандырылған шоколадты тұтынған жануарлардың антиоксиданттық күйін бағалауға бағытталған эксперименттік зерттеу нәтижелері баяндалады. Зерттеу барысында егеуқұйрықтарға 30 күн бойы асқазан ішіне қорғасын ацетаты енгізілгеннен кейін, олардың қан сарысуында липидтердің асқын тотығу процестерінің күшеюі байқалды. Бұл өзгерістер липидтердің асқын тотығу өнімдері – малонды диальдегид пен диенді конъюгаттардың деңгейінің артуымен сипатталды. Сонымен қатар, қан сарысуында Е дәруменінің және жалпы антиоксиданттық белсенділіктің төмендеуі тіркелді.

Липидтердің пероксидті тотығуының күшеюі каталаза белсенділігінің артуымен және супероксиддисмутаза белсенділігінің төмендеуімен қатар жүрді. Көрсеткіштердегі өзгерістердің барлығы статистикалық тұрғыда маңызы бар нәтижелер ретінде анықталды. Антиоксиданттық күйдің нашарлауы жануарлар рационын антиоксиданттық қасиеті жоғары өнімдермен немесе заттармен байытудың қажеттілігін көрсетті.

Зерттеу барысында қорғасын ацетатымен уланған егеуқұйрықтардың антиоксиданттық күйіне бие сүтімен, ресвератролмен және Е дәруменімен байытылған мамандандырылған

тың әсері бағаланды. Эксперименттің 30-күндік кезеңі аяқталғаннан кейін жануарларға тәулігіне 5 грамм шоколад берілген жағдайда, олардың антиоксиданттық күйінің жақсарғаны анықталды. Бұл қан сарысуында асқын тотығу өнімдерінің төмендеуімен, супероксиддисмутаза белсенділігінің жоғарылауымен, каталаза белсенділігінің қалыпқа келуімен, сондай-ақ Е дәрумені мен жалпы антиоксиданттық белсенділік деңгейінің артуымен көрініс тапты.

Алынған нәтижелер шоколадтың липидтердің асқын тотығу процестері мен антиоксиданттық жүйенің қызметіне оң әсер ететінін көрсетеді. Сонымен қатар, зерттеу нәтижелері мамандандырылған шоколадты қорғасын тұздарымен уланудың алдын алу шараларының бірі ретінде қолданудың тиімділігі мен мақсатқа сәйкестігін дәлелдейді.

Түйін сөздер: антиоксиданттық күй, шоколад, бие сүті, ресвератрол, Е дәрумені, токсикалық улану.

Ғ.Р. Смағұл¹, Ю.А. Синявский^{2*}, Д.Н. Түйгунов², Е.Н. Омаров²

¹Алматынський технологический университет, Алматы, Қазақстан

²ТОО «ОО Қазақская академия питания», Алматы, Қазақстан

*e-mail: sinyavskiy@list.ru

Оценка антиоксидантного статуса крыс на фоне потребления специализированного шоколада при затравке ацетатом свинца

В статье излагаются данные экспериментальных исследований, касающиеся оценки антиоксидантного статуса животных при приеме специализированного шоколада, разработанного на основе кобыльего молока с добавлением ресвератрола и витамина Е. Показано, что после 30 дневной затравки крыс ацетатом свинца внутрижелудочно, в сыворотки крови крыс отмечалась активация процессов перекисного окисления липидов, сопровождающаяся накоплением как первичных, так и вторичных продуктов – малонового диальдегида и диеновых конъюгатов, снижением в крови содержания витамина Е и общей антиоксидантной активности.

Избыточное накопление перекисных соединений сопровождалось активацией каталазы и снижением активности супероксиддисмутазы. Следует отметить, что все полученные изменения в вышеуказанных показателях носили достоверный характер.

Снижение антиоксидантного статуса обосновывало целесообразность обогащения рациона животных в условиях свинцовой интоксикации продуктами с повышенным уровнем антиоксидантов и веществ антиоксидантной природы.

В представленном исследовании дана оценка специализированного шоколада, обогащенного кобыльим молоком, ресвератролом и витамином Е на состояние антиоксидантного статуса животных, подверженных токсической затравке ацетатом свинца. Установлено, что через 30 дней экспериментального периода потребление крысами по 5г специализированного шоколада в сутки способствовало повышению антиоксидантного статуса, что сопровождалось снижением в сыворотке крови животных продуктов ПОЛ, повышением активности супероксиддисмутазы, снижением активности каталазы и увеличением в сыворотке крови уровня витамина Е и общей антиоксидантной активности.

Полученные результаты свидетельствуют о благоприятном влиянии шоколада на состояние процессов ПОЛ-АОЗ, а также обосновывают целесообразность его использования с профилактической целью при отравлении организма солями свинца.

Ключевые слова: антиоксидантный статус, шоколад, кобылье молоко, ресвератрол, витамин Е, токсическая затравка.

Introduction

In recent years, significant changes have been observed in the structure of population morbidity, largely influenced by the impact of adverse environmental and etiological factors on the human body. Specifically, industrial production, metal extraction and processing, automobile emissions, and other factors contribute to an increase in various toxic substances and foreign compounds in the environ-

ment, among which heavy metal salts—particularly lead—hold a notable place [1,2].

Prolonged chronic exposure to lead at concentrations exceeding permissible limits often leads to the development of lead intoxication. Clinically, this condition primarily affects the hematopoietic, nervous, cardiovascular, immune, digestive, and hepatobiliary systems [3].

Various methods of treating and preventing lead intoxication exist; however, they unfortunately re-

quire prolonged use of medications, which are often not fully effective and are accompanied by numerous side effects [4].

Among the most promising preventive measures that do not lead to negative consequences are specialized products, biologically active supplements, and dietary additives. This experimental study focuses on alimentary prevention of lead intoxication using a specialized chocolate developed from mare's milk, enriched with vitamin E and resveratrol. Particular attention is given to supporting antioxidant status and regulating the antioxidant defense system through this novel dietary product, which possesses high biological value and targeted medical-biological properties.

Exposure to heavy metals, recognized as global environmental pollutants, is a leading factor in the development of numerous human diseases. The World Health Organization (WHO) has included lead on its list of priority pollutants [5]. Many illnesses that were previously diagnosed solely as occupational hazards are now being observed across the general population [3]. Powerful sources of environmental pollution by harmful substances, including metals and their salts, are non-ferrous metallurgy enterprises and their industrial waste [6].

The negative health impact extends from workers directly handling foreign compounds in industrial processes to the broader population. This occurs through environmental contamination and consumer goods containing lead, such as tiles, ceramics, crystal, and paints [7]. According to WHO, airborne lead particles alone cause approximately 7 million premature deaths annually. The overall contribution of air pollution to the global burden of disease is estimated by WHO experts to be 3.2% [5].

Lead is one of the most prevalent environmental pollutants and can enter the human body through water, food, air, and dust [8]. The harmful effects of lead are associated with its ability to impair the functions of multiple organs and systems, leading to damage in the kidneys, blood, liver, and respiratory system [9].

The development of methods to eliminate this toxicant from the body, as well as treatment protocols and therapeutic agents for lead poisoning, requires testing on biological models [10]. Given the wide-ranging negative effects of lead on the body, it is reasonable to focus on creating effective multifunctional preventive measures that can positively influence various metabolic processes. Particular attention should be paid to lead's role in exacerbating oxidative stress, impairing cardiovascular

function, increasing the risk of hypertension and atherosclerosis, and disrupting lipid metabolism in general [11].

Currently, there are no highly effective methods for preventing lead intoxication. Consequently, many researchers are investigating both pharmacological agents and dietary approaches to reduce the toxic burden of lead on the human body [12].

For the Republic of Kazakhstan, where not only lead extraction but also processing plants are present, this issue is particularly relevant. Workers in these industries mainly rely on milk and pectin-based preparations as preventive measures, which are not always effective in cases of lead intoxication.

In our study, we examined the role of specialized chocolate made from mare's milk, enriched with resveratrol and vitamin E, on the antioxidant defense system of animals subjected to toxic exposure to lead acetate.

Materials and methods

The research was conducted in the laboratory of food biotechnology and specialized food products at Kazakh Academy of Nutrition LLP. The study utilized sexually mature male rats weighing 180–200 grams, kept under vivarium conditions. The animals were housed in cages with free access to food and water. The vivarium-maintained air humidity at 50–65% and a temperature of 20–25°C. Before the experiment, the animals were quarantined for ten days.

A lead intoxication model was created by administering a 5% aqueous solution of lead acetate through a gastric tube. The daily dose was 1 ml per kilogram of body weight over a 30-day period.

The rats were divided into four groups, with 15 rats in each:

1. First group (Initial data) – Animals on a standard vivarium diet.
2. Second group – Animals received lead acetate exposure while on a standard vivarium diet.
3. Third group – Animals subjected to lead acetate exposure received a daily dose of 5 grams of specialized chocolate per 100 grams of body weight. This chocolate was developed from mare's milk (20%), cocoa butter, soy lecithin, sugar, and enriched with resveratrol (0.1%) and vitamin E (0.1%).
4. Control group – Animals under lead acetate exposure were given an equivalent-calorie glucose solution in addition to their regular diet. Animals weighing approximately 200 grams received an average of 10 grams of chocolate daily, providing 57.5 kcal. The control group animals were given

35–36 ml of a 40% glucose solution, matching the calorie content of the chocolate.

All animals were maintained on a basic vivarium diet balanced for essential nutrients for the 30-day duration of the experiment.

The specialized chocolate was administered after mild thermal processing (melting) and mixing with the food. The composition of the chocolate per 100 grams was as follows:

- Protein – 7.4 grams
- Fat – 33.84 grams
- Carbohydrates – 53.42 grams
- Caloric value – 575 kcal

Throughout the experimental period, the overall condition of the animals was monitored, and they were weighed every ten days.

The animal housing conditions and experimental procedures strictly adhered to the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Scientific Purposes” and Directive 2010/63/EU of the European Parliament [13].

At the end of the 30-day period, the animals were euthanized under light ether anesthesia in accordance with the “Rules for Conducting Research with Experimental Animals” and the “Animal Protection Against Cruelty Act.”

The material used for the experimental study was rat blood serum.

In the serum, the vitamin E level was measured, and the condition of the antioxidant defense system was assessed. This included the determination of malondialdehyde (MDA), diene conjugates (DC), and the activity of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), as well as total antioxidant activity (TAA).

The content of primary lipid peroxidation (LPO) products—diene conjugates (DC)—and secondary products—malondialdehyde (MDA)—was evaluated using the method of V.B. Gavrilov and M.I. Mishkorudna [14].

The activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) was measured spectrophotometrically using Sigma (Aldridge) kits and the method of M.A. Korolyuk, L.I. Ivanova, I.G. Mayorova, and V.E. Tokarev [15].

The total antioxidant activity (TAA) was assessed according to [16]. The concentration of vitamin E was determined in the hexane layer using high-performance liquid chromatography (HPLC) [17].

The obtained results were statistically processed using Microsoft Excel 2021. Arithmetic means, standard deviations, and standard errors were cal-

culated. Student’s t-test was applied to compare the data, and differences were considered significant at $p \leq 0.05$ [18].

Results and discussion

During lead acetate exposure, after ten days of observation, rats in the second and fourth (control) groups showed signs of coat deterioration, changes in the sclera of the eyes, and reduced motor activity. It is noteworthy that body weight in these groups decreased by an average of 20% by the 30th day of observation compared to baseline.

Consumption of chocolate during lead acetate exposure resulted in a 5% increase in body weight from the baseline within ten days of observation. Additionally, the overall condition of the animals improved, as reflected by better coat quality, normalized sclera appearance, and increased mobility. These positive changes were consistently observed throughout the 30-day experiment until the endpoint.

These improvements are likely due to the beneficial effects of the chocolate enriched with resveratrol and vitamin E on the endurance and protective functions of the rats’ bodies.

Of particular interest was the assessment of the lipid peroxidation-antioxidant defense (LPO-AOD) system under lead acetate exposure, including changes in the content of primary and secondary lipid peroxidation products and the state of the enzymatic antioxidant system.

It is known that lead intoxication often leads to oxidative stress and the accumulation of lipid peroxidation products in the body. This triggers a cascade of reactions that contribute to the onset and progression of hypertension and cardiovascular diseases [19,20].

According to the aforementioned authors, increased lipid peroxidation is accompanied by a range of negative consequences. These include a heightened risk of atherosclerosis, increased erythrocyte hemolysis, reduced membrane fluidity, and impaired erythroblast maturation, all of which occur against the backdrop of weakened protective mechanisms. These mechanisms play an active role in safeguarding membrane proteins and lipids from the damaging effects of peroxides and free radicals.

Lipid peroxidation can be considered a physiological process. However, the initiation and stability of cellular membrane resistance to oxidation largely depend on the body’s supply of antioxidants and antioxidant-based compounds. This is a crucial factor when evaluating the preventive effectiveness

of various pharmacological and dietary agents. In our opinion, this principle should serve as the foundation for developing new dietary-based preventive solutions [21,22]. This approach, in particular, guided the creation of a new specialized chocolate containing cocoa butter, cocoa mass, mare's milk, and supplemented with vitamin E and resveratrol.

Given the antioxidant focus in the selection of ingredients for the specialized chocolate, we evaluated its antioxidant properties using a rat model of lead acetate-induced toxicity.

The results regarding the antioxidant defense system under lead acetate exposure, based on rat blood serum analysis, are presented in Table 1.

Table 1 – Evaluation of Antioxidant Defense Parameters in Rat

Blood Serum under Lead Acetate-Induced Toxicity (M±m)

Groups	MDA (nmol/mL)	DC (nmol/mL)	Catalase (mmol/mg protein/min)	SOD (mmol/mg protein/min)
Group 1 (Initial data)	12,7±1,3	10,0±0,9	20,3±1,6	32,1±2,3
Group 2 (Lead acetate)	28,9±1,9*	15,6±1,2*	30,5±2,6*	22,6±1,2
Group 3 (Lead + Chocolate)	16,8±1,4**	12,4±0,9**	7,1±1,5	30,9±2,3**
Control Group	22,7±1,6**	16,1±0,8	26,5±2,2	23,6±1,9**

MDA: Malondialdehyde

DC: Diene Conjugates

SOD: Superoxide Dismutase

*Differences are statistically significant between the baseline (first) and lead acetate (second) groups ($p \leq 0.05$).

**Differences are statistically significant between the chocolate (third) group and both the lead acetate (second) and control (fourth) groups ($p \leq 0.05$).

As shown by the presented data, lead acetate exposure led to a significant increase in the levels of primary and secondary lipid peroxidation (LPO) products (MDA and DC) in the blood serum of rats after 30 days, compared to baseline values.

The accumulation of lead in rat tissues, accompanied by the activation of LPO processes, stimulated the formation of superoxide anions. This, in turn, resulted in a statistically significant 50.5% increase in catalase activity in the serum. Meanwhile, superoxide dismutase (SOD) activity

decreased significantly by 29.6% by the 30th day of the experiment. The increased levels of primary and secondary LPO products, along with changes in the activity of key antioxidant enzymes, indicated a reduction in endogenous antioxidant levels and justified the need for additional antioxidant intake.

This assumption was confirmed by the results on vitamin E concentration and total antioxidant activity (TAA) in rat blood serum under lead acetate exposure, as shown in Table 2.

Table 2 – Vitamin E Content and Total Antioxidant Activity in Rat Blood Serum During Lead Exposure and Specialized Chocolate Consumption

Groups	Vitamin E (µg/100 mL)	TAA (%)
Group 1 (Initial data)	0,72±0,03	65,3±3,6
Group 2 (Lead acetate)	0,45±0,03*	40,5±3,8*
Group 3 (Lead + Chocolate)	0,65±0,04**	59,3±4,9**
Control Group	0,40±0,02**	42,3±4,9

*Differences are statistically significant between the baseline (first) and lead acetate (second) groups ($p \leq 0.05$).

**Differences are statistically significant between the chocolate (third) group and both the lead acetate (second) and control (fourth) groups ($p \leq 0.05$).

As shown in Table 2, in the lead acetate exposure group (second group), a significant decrease in vitamin E content by 37.5% was observed by the 30th day of the experiment compared to the baseline group (first group). Additionally, total antioxidant activity (TAA) decreased by 24.8%. These changes indicate depletion of endogenous antioxidant reserves in the rats due to toxic exposure and increased utilization of antioxidants to normalize lipid peroxidation (LPO) processes, reduce toxic stress, and maintain overall metabolic balance.

The activation of LPO and the decline in antioxidant status in rats exposed to lead acetate justified the use of products enriched with natural antioxidants as a preventive measure. Such products can reduce the risk of initiating lipid peroxidation and the activation of the LPO-antioxidant defense (LPO-AOD) system as a whole.

Given these findings, we evaluated the effects of specialized chocolate, which was administered to the rats with their diet over 30 days under lead acetate exposure.

As shown by the data in Table 1, in the third group (lead + chocolate), there was a statistically significant reduction in primary and secondary LPO products in the blood serum on the 30th day of the experiment compared to the second (lead acetate) and fourth (lead + glucose) groups.

For example, the level of malondialdehyde (MDA) in the third group decreased by 41.9% compared to the second group and by 30.0% compared to the fourth group. Similarly, the content of primary LPO products (diene conjugates) in the blood serum decreased by 20.5% and 29.8% compared to the second and fourth groups, respectively, with these differences being statistically significant.

The increased antioxidant supply in the rats, particularly vitamin E, was confirmed by the serum vitamin E data in the third group. As shown in Table 2, the vitamin E content in the third group increased by an average of 33.3% compared to the second and fourth groups. Additionally, the reduction in vitamin E levels in the third group under lead acetate exposure was 3.4 times smaller than the decline observed from the baseline.

Furthermore, total antioxidant activity in the third group was higher by 18.8% and 17.0% com-

pared to the second and fourth groups, respectively. These findings demonstrate the positive effect of specialized chocolate enriched with vitamin E and resveratrol on mitigating oxidative stress and improving antioxidant status in rats under lead acetate toxicity.

The results of antioxidant activity between the second and third groups were statistically significant.

Thus, the conducted research demonstrated the positive effects of specialized chocolate, developed from mare's milk and enriched with resveratrol and vitamin E, on the lipid peroxidation-antioxidant defense (LPO-AOD) system in animals subjected to lead acetate toxicity. The chocolate positively influenced the overall physiological condition of the rats, including the condition of their coat, feed consumption, and body weight changes. The additional intake of vitamin E and resveratrol through the chocolate improved not only the antioxidant supply but also the activity of key antioxidant enzymes and reduced the levels of primary and secondary LPO products in the rats' blood serum.

Conclusion

The purpose of the study was to evaluate the effectiveness of specialized chocolate during a 30-day lead acetate exposure in rats. Using a well-founded methodological approach, the study confirmed with a high degree of reliability the benefits of dietary support through the developed product.

The experimental findings on the properties of specialized chocolate, made with powdered mare's milk, vitamin E, and resveratrol, provided statistically significant evidence supporting the use of dietary intervention in cases of lead poisoning. Special attention should be given to inhibiting lipid peroxidation processes, one of the key mechanisms responsible for structural and functional damage to biological and membrane integrity under toxic lead exposure.

Based on the obtained experimental data, it is recommended to use the specialized chocolate as a preventive measure for individuals exposed to heavy metals, particularly lead, which enters the body through various pathways.

References

1. Dagdag O., Quadri T.W., Haldhar R., Kim S.C., Daoudi W., Berdimurodov E., Akpan E.D., Ebenso E.E. An overview of heavy metal pollution and control // Chapter in book *Heavy Metals in the Environment: Management Strategies for Global Pollution*. – 2023. – P. 3-24. <https://doi.org/10.1021/bk-2023-1456.ch001>
2. Briffa J., Sinagra E., Blundell R. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans // *Heliyon*. – 2020. – Vol. 6, No.9. – P. e04691. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>
3. Ara A., Usmani J.A. Lead toxicity: a review // *Interdisciplinary toxicology*. – 2015. – Vol. 8, No.2. – P. 55. <https://doi.org/10.1515/intox-2015-0009>
4. Kalia K., Flora S.J.S. Strategies for safe and effective therapeutic measures for chronic arsenic and lead poisoning // *Journal of occupational health*. – 2005. – Vol. 47, No.1. – P. 1-21. <https://doi.org/10.1539/joh.47.1>
5. Jan A.T., Azam M., Siddiqui K., Ali A., Choi I., Haq Q.M.R. Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants // *International journal of molecular sciences*. – 2015. – Vol. 16, No. 12. – P. 29592-29630. <https://doi.org/10.3390/ijms161226183>
6. Kim N.H., Hyun Y.Y., Lee K.B., Chang Y., Rhu S., Oh K.H., Ahn C. Environmental heavy metal exposure and chronic kidney disease in the general population // *Journal of Korean medical science*. – 2015. – Vol. 30, No. 3. – P. 272. <https://doi.org/10.3346/jkms.2015.30.3.272>
7. Dehkordi M.M., Nodeh Z.P., Dehkordi K.S., Khorjastan R.R., Ghaffarzadeh M. Soil, air, and water pollution from mining and industrial activities: Sources of pollution, environmental impacts, and prevention and control methods // *Results in Engineering*. – 2024. – Vol.23. – P. 102729. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2024.102729>
8. Debnath B., Singh W.S., Manna K. Sources and toxicological effects of lead on human health // *Indian Journal of Medical Specialities*. – 2019. – Vol. 10, No.2. – P. 66-71. https://doi.org/10.4103/INJMS.INJMS_30_18
9. Kianoush S., Balali-Mood M., Mousavi S.R., Shakeri M.T., Dadpour B., Moradi V., Sadeghi M. Clinical, toxicological, biochemical, and hematologic parameters in lead exposed workers of a car battery industry // *Iranian journal of medical sciences*. – 2013. – Vol. 38, No. 1. – P. 30.
10. Raj K., Das A.P. Lead pollution: Impact on environment and human health and approach for a sustainable solution // *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. – 2023. – Vol. 5. – P. 79-85. <https://doi.org/10.1016/j.enceco.2023.02.001>
11. Nakhaee S., Amirabadizadeh A., Brent J., Mehrpour O. Impact of chronic lead exposure on liver and kidney function and haematologic parameters // *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. – 2019. – Vol. 124, No.5. – P. 621-628. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13179>
12. Rawat P.S., Singh S., Zahid M., Mehrotra S. An integrated assessment of lead exposure in children: Correlation with biochemical and haematological indices // *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. – 2021. – T. 68. – C. 126835. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126835>
13. Jarrar B.M., Taib N.T. Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity // *Saudi journal of biological sciences*. – 2012. – Vol. 19, No.2. – P. 203-210. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2011.12.005>
14. Chen T., Dai K., Wu H. Effect of lead exposure on respiratory health: a systematic review and meta-analysis // *Air Quality, Atmosphere & Health*. – 2024. – Vol. 17. – P. 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11869-024-01619-x>
15. Flora G., Gupta D., Tiwari A. Toxicity of lead: a review with recent updates // *Interdisciplinary toxicology*. – 2012. – Vol. 5, No.2. – P. 47. <https://doi.org/10.2478/v10102-012-0009-2>
16. Сушанло П. Ш. Особенности развития окислительного стресса в патологии сердечно-сосудистой системы в условиях гипоксии и влияния ацетата свинца // *Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета*. – 2016. – Т. 16. – №. 11. – С. 196-199.
17. Dzugkoev S.G., Dzugkoeva F.S., Margieva O.I., Khubulova A.E., Mozhaeva I.V. Experimental participation of pharmacological substances in mechanisms of lead acetate toxicity // *Pharmacy & Pharmacology*. – 2022. – Vol. 10, No.6. – P. 589-600. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2022-10-6-589-600>
18. Olsson I.A.S., Silva S.P.D., Townend D., Sandøe P. Protecting animals and enabling research in the European Union: An overview of development and implementation of directive 2010/63/EU // *ILAR journal*. – 2017. – Vol. 57, No.3. – P. 347-357. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilw029>
19. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // *Лабораторное дело*. – 1983. – №. 3. – С. 33-36.
20. Королук М.А., Иванова Л.К., Майорова И.Г., Токарева В.А. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело. М // Медицина*. – 1988. – Т. 1. – С. 1-8.
21. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // *Analytical biochemistry*. – 1979. – Vol. 95, No.2. – P. 351-358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
22. Скурихин В. Н., Двинская Л. М. Определение α -токоферола и ретинола в плазме крови сельскохозяйственных животных методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Сельскохозяйственная биология*. – 1989. – Т. 4. – С. 127-129.
23. Гребенникова И.В. Методы математической обработки экспериментальных данных: учебно-методическое пособие. – Издательство Уральского университета, Екатеринбург: 2015. – 124 с.
24. Vaziri N.D. Mechanisms of lead-induced hypertension and cardiovascular disease // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2008. – Vol. 295, No.2. – P. H454-H465. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00158.2008>

25. Федорив О. Е., Копач А. Е., Мельник Н. А. Действие ацетата свинца и стеаратов натрия и калия на процессы перекисного окисления липидов в организме подопытных животных //Гигиена и санитария. – 2021. – Т. 100. – №. 4. – С. 406-410. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-4-406-410>
26. Hajieva P., Abrosimov R., Kunath S., Moosmann B. Antioxidant and prooxidant modulation of lipid peroxidation by integral membrane proteins //Free Radical Research. – 2023. – Vol. 57, No.2. – P. 105-114. <https://doi.org/10.1080/10715762.2023.2201391>
27. Saito Y. Lipid peroxidation products as a mediator of toxicity and adaptive response—the regulatory role of selenoprotein and vitamin E //Archives of biochemistry and biophysics. – 2021. – Vol. 703. – P. 108840. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108840>

References

1. Ara, A., Usmani, J. A. (2015). Lead toxicity: a review. *Interdiscip. Toxicol.*, vol 8, no.2, p. 55. <https://doi.org/10.1515/intox-2015-0009>
2. Briffa, J., Sinagra, E., Blundell, R. (2020). Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, vol.6, no.9, p. e04691. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>
3. Chen, T., Dai, K., Wu, H. (2024). Effect of lead exposure on respiratory health: a systematic review and meta-analysis. *Air Quality, Atmos. Health*, vol. 17, pp. 1-14.
4. Dagdag, O., Quadri, T.W., Haldhar, R., Kim, S.C., Daoudi, W., Berdimurodov, E., Akpan, E.D., Ebenso, E.E. (2023). An overview of heavy metal pollution and control. Chapter in book Heavy metals in the environment: Management strategies for global pollution. pp. 3-24. <https://doi.org/10.1021/bk-2023-1456.ch001>
5. Debnath, B., Singh, W.S., Manna, K. (2019). Sources and toxicological effects of lead on human health. *Indian J. Med. Spec.*, vol. 10, no.2, pp. 66-71. https://doi.org/10.4103/INJMS.INJMS_30_18
6. Dehkordi, M.M., Nodeh, Z.P., Dehkordi, K.S., Khorjistan, R.R., Ghaffarzadeh, M. (2024). Soil, air, and water pollution from mining and industrial activities: Sources of pollution, environmental impacts, and prevention and control methods. *Results Eng.*, vol. 23, p. 102729. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2024.102729>
7. Dzugkoev S.G., Dzugkoeva, F.S., Margieva, O.I., Khubulova, A.E., Mozhaeva, I.V. (2022). Experimental participation of pharmacological substances in mechanisms of lead acetate toxicity. *Pharm. Pharmacol.*, vol. 10, no.6, pp. 589-600. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2022-10-6-589-600>
8. Fedoriv, O. E., Kopach, A. E., Mel'nik, N. A. (2021). Dejstvie acetata svinca i stearatov natrija i kalija na processy perekisnogo okislenija lipidov v organizme podopytnyh zhivotnyh [The effect of lead acetate and sodium/potassium stearates on lipid peroxidation processes in the bodies of experimental animals]. *Gigiena i sanitarija*, vol. 100, no.4, pp. 406-410. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-4-406-410>
9. Flora, G., Gupta, D., Tiwari, A. (2012). Toxicity of lead: a review with recent updates. *Interdiscip. Toxicol.*, vol.5, no.2, p. 47. <https://doi.org/10.2478/v10102-012-0009-2>
10. Gavrilov, V.B., Mishkorudnaja, M. I. (1983). Spektrofotometricheskoe opredelenie sodержaniya gidroperekisej lipidov v plazme krovi [Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxide levels in blood plasma]. *Laboratornoe delo*, vol. 3, pp. 33-36.
11. Grebennikova, I.V. (2015). Metody matematicheskoy obrabotki jeksperimental'nyh dannyh: uchebno-metodicheskoe posobie [Methods of mathematical processing of experimental data: a study guide]. Izdatel'stvo Ural'skogo universiteta, Ekaterinburg:2015, 124 p.
12. Hajieva, P., Abrosimov, R., Kunath, S., Moosmann, B. (2023). Antioxidant and prooxidant modulation of lipid peroxidation by integral membrane proteins. *Free Radic. Res.*, vol. 57, no.2, pp. 105-114. <https://doi.org/10.1080/10715762.2023.2201391>
13. Jan, A.T., Azam, M., Siddiqui, K., Ali, A., Choi, I., Haq, Q.M.R. (2015). Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants. *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 16, no.12, pp. 29592-29630. <https://doi.org/10.3390/ijms161226183>
14. Jarrar, B.M., Taib, N.T. (2012). Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity. *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 19, no.2, pp. 203-210. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2011.12.005>
15. Kalia, K., Flora, S.J. (2005). Strategies for safe and effective therapeutic measures for chronic arsenic and lead poisoning. *J. Occup. Health*, vol.47, no.1, pp. 1-21. <https://doi.org/10.1539/joh.47.1>
16. Kianoush, S., Balali-Mood, M., Mousavi, S.R., Shakeri, M.T., Dadpour, B., Moradi, V., Sadeghi, M. (2013). Clinical, toxicological, biochemical, and hematologic parameters in lead exposed workers of a car battery industry. *Iran. J. Med. Sci.*, vol.38, no.1, p. 30.
17. Kim, N.H., Hyun, Y.Y., Lee, K.B., Chang, Y., Rhu, S., Oh, K.H., Ahn, C. (2015). Environmental heavy metal exposure and chronic kidney disease in the general population. *J. Korean Med. Sci.*, vol. 30, no.3, p. 272. <https://doi.org/10.3346/jkms.2015.30.3.272>
18. Koroljuk, M.A., Ivanova, M.I., Majorova, I.G. (1988). Metod opredeleniya aktivnosti katalazy. Laboratornoe delo [Method for determination of catalase activity. laboratory practice]. *M. Medicina*, vol.1, pp. 1-8.
19. Nakhaee, S., Amirabadizadeh, A., Brent, J., Mehrpour, O. (2019). Impact of chronic lead exposure on liver and kidney function and haematologic parameters. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 124, no.5, pp. 621-628. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13179>
20. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, vol.95, no.2, pp. 351-358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)

21. Olsson, I.A.S., Silva, S.P.D., Townend, D., Sandøe, P. (2017). Protecting animals and enabling research in the European Union: An overview of development and implementation of directive 2010/63/EU. *ILAR J.*, vol. 57, no.3, pp. 347-357. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilw029>
22. Raj, K., Das, A. P. (2023). Lead pollution: Impact on environment and human health and approach for a sustainable solution. *Environ. Chem. Ecotoxicol.*, vol.5, pp. 79-85. <https://doi.org/10.1016/j.enceco.2023.02.001>
23. Rawat, P.S., Singh, S., Zahid, M., Mehrotra, S. (2021). An integrated assessment of lead exposure in children: Correlation with biochemical and haematological indices. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, vol.68, p. 126835. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126835>
24. Saito, Y. (2021). Lipid peroxidation products as a mediator of toxicity and adaptive response—the regulatory role of seleno-protein and vitamin E. *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 703, p. 108840. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108840>
25. Skurihin, V.N., Dvinskaja, L.M. (1989). Opredelenie α - tokoferola i retinola v plazme krovi sel'skhozajstvennyh zhivotnyh metodom mikrokolonochnoj vysokojeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii [Determination of α -tocopherol and retinol in blood plasma of farm animals by microcolumn high-performance liquid chromatography]. *Sel'skhozajstvennaja biologija*, vol.4, pp. 127-129.
26. Sushanlo, R.Sh. (2016). Osobennosti razvitiya oksislitel'nogo stressa v patologii serdechno-sosudistoj sistemy v usloviyah gipoksii i vliyanija acetata svinca [Development features of oxidative stress in the pathology of cardiovascular system in conditions of hypoxia and influence of lead acetate]. *Vestnik Kirgyzsko-Rossijskogo Slavjanskogo universiteta*, vol.16, no.11, pp. 196-199.
27. Vaziri, N.D. (2008). Mechanisms of lead-induced hypertension and cardiovascular disease. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.*, vol.295, no.2, pp. H454-H465. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00158.2008>

Information about authors:

Galiya R. Smagul – PhD candidate, Department of Food Biotechnology, Almaty Technological University, Tole Bi Street 100, Almaty, Kazakhstan. (e-mail: s.galiya_22@mail.ru)

Yuriy A. Sinyavskiy (Corresponding Author) – Doctor of Biological Sciences, Professor, Vice President of Kazakh Academy of Nutrition LLP, 66 Klockov Street, Almaty, Kazakhstan. (e-mail: sinyavskiy@list.ru)

Dilyar N. Tuigunov – Master of Biotechnology, Researcher at Kazakh Academy of Nutrition LLP, 66 Klockov Street, Almaty, Kazakhstan. (e-mail: dilyar117@gmail.com)

Yerzhan N. Omarov – Master of Economic Sciences (Marketing), Researcher at Kazakh Academy of Nutrition LLP, 66 Klockov Street, Almaty, Kazakhstan. (e-mail: yerzhan_omarov@mail.ru)

Авторлар туралы мәлімет:

Смағұл Р.Р. – Алматы технологиялық университеті, Тағамдық биотехнология кафедрасының PhD докторанты, Төле би көшесі 100, Алматы, Қазақстан. (e-mail: s.galiya_22@mail.ru)

Синявский Ю.А. (Жауапты автор) – биология ғылымдарының докторы, профессор, Қазақ тамақтану академиясының вице-президенті, Клочков көшесі 66, Алматы, Қазақстан. (e-mail: sinyavskiy@list.ru)

Туйғунов Д.Н. – биотехнология магистрі, Қазақ тамақтану академиясының ғылыми қызметкері, Клочков көшесі 66, Алматы, Қазақстан. (e-mail: dilyar117@gmail.com)

Омаров Е.Н. – экономика ғылымдарының магистрі (маркетинг), Қазақ тамақтану академиясының ғылыми қызметкері, Клочков көшесі 66, Алматы, Қазақстан. (e-mail: yerzhan_omarov@mail.ru)

Received February 10, 2024

Accepted May 20, 2025

ШОЛУ МАҚАЛАЛАР

REVIEW ARTICLES

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

A. Hejran^{1*} , F. Niazay² ,
B. Sawicka³ , P. Niazi⁴ 

¹Helmand University, Helmand, Afghanistan

²Mirwise Neeka University, Kandahar, Afghanistan

³University of Life Science, Lublin, Poland

⁴Kandahar University, Kandahar, Afghanistan

*e-mail: abdulbari.hejran94@gmail.com

MECHANISMS OF LANGYA HENIPAVIRUS (LAYV) PATHOGENESIS: GENOME FUNCTION, HOST CELL INFECTION, AND STRATEGIES OF IMMUNE EVASION

Langya henipavirus (LayV) is a novel zoonotic pathogen of the Henipavirus genus of the *Paramyxoviridae* family that is phylogenetically related to the virulent Nipah and Hendra viruses. First identified in the eastern part of China in 2018, the pathogen captured the attention of scientific researchers because of the genomic structure, postulated animal host and its possible impact on human health. This review focuses on the virus pathogenesis of LayV, especially its genomic model, the way it infects the cells and evades immune system. The purpose of the review is to summarize the current knowledge of LayV at the molecular and virological level, with the focus put on the functioning of the genome, the method of penetration into the host cell, and the possibility to influence the immune system. Additional emphasis is placed upon comparative genomic study, the use of glycoproteins to provide attachment and fusion activity, and suggested immune evasion strategies with comparison to other species of Henipavirus. The research is scientific and practical in nature and provides some background opinions on the biology of a new virus that has pandemic potential. The methodology would include a thorough review of publishing genomic terminations, scientific studies of molecular virology published in NCBI, and such comparative tests as Nipah and Hendra viruses. Key observations denote that LayV has a pattern of replication similar to other this type of henipaviruses, with a 6-gene RNA genome and potentially suppresses host innate immune responses. However, there are still significant uncertainty sheds, in particular with efforts to define host receptors and transmission forms. This review contributes to the field of emergent viral pathogenesis since it defines the viral pathogens biological dynamics of the LayV, thus setting the basis of future surveillance work, antiviral responses, and preparedness plans based on One Health.

Keywords: Langya henipavirus (LayV), viral pathogenesis, Genome structure, Host cell infection, Immune evasion, emerging zoonotic viruses.

A. Хеджран^{1*}, Ф. Ниязай², Б. Савицка³, П. Ниязи⁴

¹Гильменд университеті, Гильменд, Ауғанстан

²Мирвайс Ника университеті, Қандағар, Ауғанстан

³Өмір туралы ғылымдар университеті, юблин, Польша

⁴Қандағар университеті, Қандағар, Ауғанстан

*e-mail: abdulbari.hejran94@gmail.com

Ланья вирусының (LayV) патогенез механизмдері: геномның функциялары, иесінің жасушасын жұқтыру және иммундық жүйеден жасырыну стратегиялары

Ланья хенипавирусы (LayV) – *Paramyxoviridae* тұқымдасына жататын, *Henipavirus* тегіне кіретін, Nipah және Hendra вирустарымен филогенетикалық жағынан туыстас жаңа зоонозды патоген. Алғаш рет 2018 жылы Қытайдың шығыс бөлігінде анықталған бұл вирус өзінің геномдық құрылымы, ықтимал жануарлық резервуары және адам денсаулығына төндіретін қауіпі тұрғысынан ғылыми қауымдастықтың назарын аударды. Бұл шолу LayV вирусының патогенезіне, атап айтқанда оның геномдық құрылымына, иесінің жасушасын жұқтыру механизмдеріне және иммундық жүйеден жалтару стратегияларына арналған. Шолудың мақсаты – LayV туралы қазіргі таңдағы молекулалық және вирологиялық білімді жүйелеу, геномның қызмет ету ерекшеліктерін, жасушаға ену жолдарын және иммундық жауапқа ықтимал әсерін сипаттау.

салыстырмалы геномдық зерттеулерге, гликопротеиндердің жасушаға жабысу және мембранамен қосылу процесіндегі рөліне, сондай-ақ басқа хенипавирустармен салыстыра отырып, болжамды иммундық жалтару механизмдеріне ерекше назар аударылады. Бұл зерттеу ғылыми және практикалық маңызға ие, пандемиялық әлеуеті бар жаңа вирустың биологиясын түсінуге теориялық негіз қалыптастырады. Әдістемеге геномдық мәліметтерді талдау, NCBI-де жарияланған молекулалық вирология саласындағы ғылыми зерттеулер және Nipah пен Hendra вирустарымен жүргізілген салыстырмалы талдаулар кіреді. Негізгі қорытындылар LayV вирусының 6 геннен тұратын РНҚ геномына ие екенін, басқа хенипавирустарға ұқсас репликация үлгісін көрсететінін және иесінің туа біткен иммундық жауабын тежеуге қабілетті болуы мүмкін екенін көрсетеді. Дегенмен, вирустың жасушалық рецепторларын анықтау және берілу жолдарын нақтылау бағытында бірқатар белгісіздіктер әлі де сақталып отыр. Бұл шолу жаңа вирустық патогенез саласына өз үлесін қосып, «Бір Денсаулық» тұжырымдамасы аясында эпидемиологиялық бақылау, вирусқа қарсы шаралар мен дайындық жоспарларын әзірлеуге негіз қалайды.

Түйін сөздер: Ланъя хенипавирусы (LayV), вирустық патогенез, геномдық құрылым, иесінің жасушасын жұқтыру, иммундық жауаптан жалтару, жаңа зоонозды вирустар.

А. Хеджран^{1*}, Ф. Ниязай², Б. Савицка³, П. Ниязи⁴

¹Гильмендский университет, Гильменд, Афганистан

²Медицинский факультет, Университет Мирвайс Ника, Кандагар, Афганистан

³Университет естественных наук, Люблин, Польша

⁴Кандагарский университет, Кандагар, Афганистан

*e-mail: abdulbari.hejran94@gmail.com

Механизмы патогенеза вируса Ланъя (LayV): функции генома, заражение клеток хозяина и стратегии уклонения от иммунного ответа

Ланъя хенипавирус (LayV) – это новый зоонозный патоген, относящийся к роду *Henipavirus* семейства *Paramyxoviridae*, филогенетически близкий к высоковирулентным вирусам Nipah и Hendra. Впервые выявленный в восточной части Китая в 2018 году, данный вирус привлёк внимание научного сообщества благодаря своей геномной структуре, предполагаемому животному-резервуару и потенциальному воздействию на здоровье человека. Настоящий обзор посвящён патогенезу LayV с особым акцентом на геномную организацию вируса, механизмы инфицирования клеток хозяина и стратегии уклонения от иммунного ответа. Цель обзора – обобщить существующие знания о LayV на молекулярном и вирусологическом уровнях, сосредоточив внимание на функционировании генома, механизмах проникновения в клетки хозяина и возможностях модификации иммунной реакции. Дополнительно рассматриваются сравнительные геномные исследования, роль гликопротеинов в обеспечении прикрепления и слияния с клеточной мембраной, а также предполагаемые механизмы иммунного уклонения, сопоставленные с другими представителями рода *Henipavirus*. Исследование носит как научный, так и практический характер и формирует теоретическую базу по биологии нового вируса с потенциальной пандемической угрозой. Методология включает всесторонний анализ опубликованных геномных данных, научные исследования в области молекулярной вирусологии (включая базы NCBI) и сравнительные данные по вирусам Nipah и Hendra. Ключевые выводы показывают, что LayV имеет 6-генный РНК-геном и схожий с другими хенипавирусами механизм репликации, а также потенциально способен подавлять врождённый иммунный ответ хозяина. Тем не менее остаются значительные пробелы, особенно в вопросах идентификации клеточных рецепторов и путей передачи. Настоящий обзор вносит вклад в изучение патогенеза новых вирусных инфекций и формирует основу для дальнейшего эпиднадзора, разработки противовирусных стратегий и планов готовности в рамках концепции «Единое здоровье».

Ключевые слова: Ланъя хенипавирус (LayV), вирусный патогенез, структура генома, инфицирование клеток хозяина, уклонение от иммунного ответа, новые зоонозные вирусы

Introduction

Three recognized viral species classified within the genus *Henipavirus* include Hendra virus, Nipah virus, and Cedar virus. Hendra and Nipah viruses possess non-segmented, single-stranded, negative-

sense RNA genomes, characteristic of all mononegaviruses. According to multiple reports, Langya virus, a novel member of this genus, has thus far been identified exclusively within China, with 35 confirmed human infections to date. Langya represents a newly discovered henipavirus. A limited number

of goats and dogs exhibited Langya virus-specific antibodies, and viral RNA was detected in 27% of the 262 shrews tested [1]. Henipaviruses, members of the *Paramyxoviridae* family, are enveloped, negative-sense, single-stranded RNA viruses with approximately 18 kb genomes that encode six principal structural proteins—N, P, M, F, G, L—as well as accessory proteins (V/W/C) [2, 3]. Hendra and Nipah viruses, archetypal henipaviruses, are highly fatal zoonotic agents with established bat reservoirs [3]. LayV is phylogenetically situated within the same genus and exhibits analogous zoonotic characteristics. Initially isolated from febrile patients in eastern China in 2018, LayV was genomically sequenced in 2022. Its genome (~18,402 nucleotides) conforms to the henipavirus structure, encoding six structural proteins and accessory proteins generated via RNA editing of the P gene. Panel A displays the scaled genome structure of Langya henipavirus (LayV), with *nt* indicating nucleotides. Panel B presents a phylogenetic tree based on the full amino acid sequence of the L protein, constructed using the maximum likelihood method and including recognized *Paramyxoviridae* species. LayV sequences from humans and shrews are marked in red and blue. The scale bar shows nucleotide substitutions per site; bootstrap values (1000 replicates) are indicated. Abbreviations include CedV, DARV, GAKV, GhV, HeV, HeV-g2, MojV, NiV, and SDQD. Panel C summarizes patients' provincial location, occupation, sex, and infection timeline (Figure 1) [2, 4]. LayV shares over 80% sequence identity in the L and N proteins with Nipah and Hendra viruses; however, its P gene and accessory proteins display divergence that may influence virulence. Transmission is presumed to occur via zoonotic spillover, with no evidence of human-to-human transmission documented. A serological survey of domestic animals revealed that LayV RNA was predominantly identified in *Crocidura lasiura* shrews, a species prevalent in North-east Asia. Among 121 tested *C. lasiura* specimens, 52.1% tested positive for LayV. The virus was also detected in 20% of *Crocidura shantungensis* samples, 5% of dogs, and 2% of domestic goats, indicating multiple potential hosts, with shrews likely serving as the natural reservoir (Figure 2) [5].

Cryo-EM analysis of the LayV-F ectodomain revealed conserved pre- and postfusion states, with distinct antigenic features at the prefusion apex [6].

Prefusion-stabilizing mutations effective in NiV F also stabilize LayV F, informing cross-reactive vaccine design [7]. The crystal structure of LayV-G CTD demonstrates structural deviation from NiV/HeV G proteins and absence of ephrinB receptor binding, indicating a novel cellular receptor [8]. LayV F and G mediate membrane fusion in human, mouse, and hamster cells through an unidentified receptor, suggesting distinct host entry strategies [9]. Although precise human receptor identification remains unresolved, LayV replicates in Vero and endothelial cells and induces lung pathology in animal models, resembling that of related henipaviruses [10]. The P/V/W proteins of henipaviruses inhibit STAT1/2 signaling; the LayV P protein retains conserved motifs likely enabling similar antagonism of innate immune responses. LayV antigenic epitopes are markedly distinct from NiV/HeV, as shown by minimal monoclonal antibody cross-reactivity, highlighting unique immune evasion strategies. Detection of LayV RNA in approximately 27% of shrews and seropositivity in goats and dogs suggests a multi-host reservoir ecology (Table 1) [5]. By mid-2022, 35 human cases had been reported, with no fatalities or confirmed human-to-human transmission [3].

Finally, Recurrent COVID-19 outbreaks persist due to the continual emergence of SARS-CoV-2 variants. In 2022, the global health landscape was further complicated by monkeypox outbreaks. Concurrently, a novel pathogen, LayV, was identified in eastern China, with 35 confirmed cases. *Henipavirus*, classified as a biosafety level 4 pathogen, is associated with reservoirs such as bats, rodents, and shrews, with the Common Shrew posited as a potential transmission vector. The pathogenesis of the virus is modulated by key cytokine responses, and elucidating these mechanisms may facilitate the development of immunogenic viral proteins, as well as targeted vaccines and therapeutics. Presently, no approved vaccine or antiviral treatment exists for Henipavirus infections; however, a subunit vaccine based on the Hendra virus G glycoprotein (HeV-G) has demonstrated efficacy in preclinical models. Structural characterization of the virus, notably its 'tree-like' prefusion conformation of the F protein, indicates that a trivalent or tetravalent vaccine formulation may be required to achieve broad immunogenic coverage [11–13].

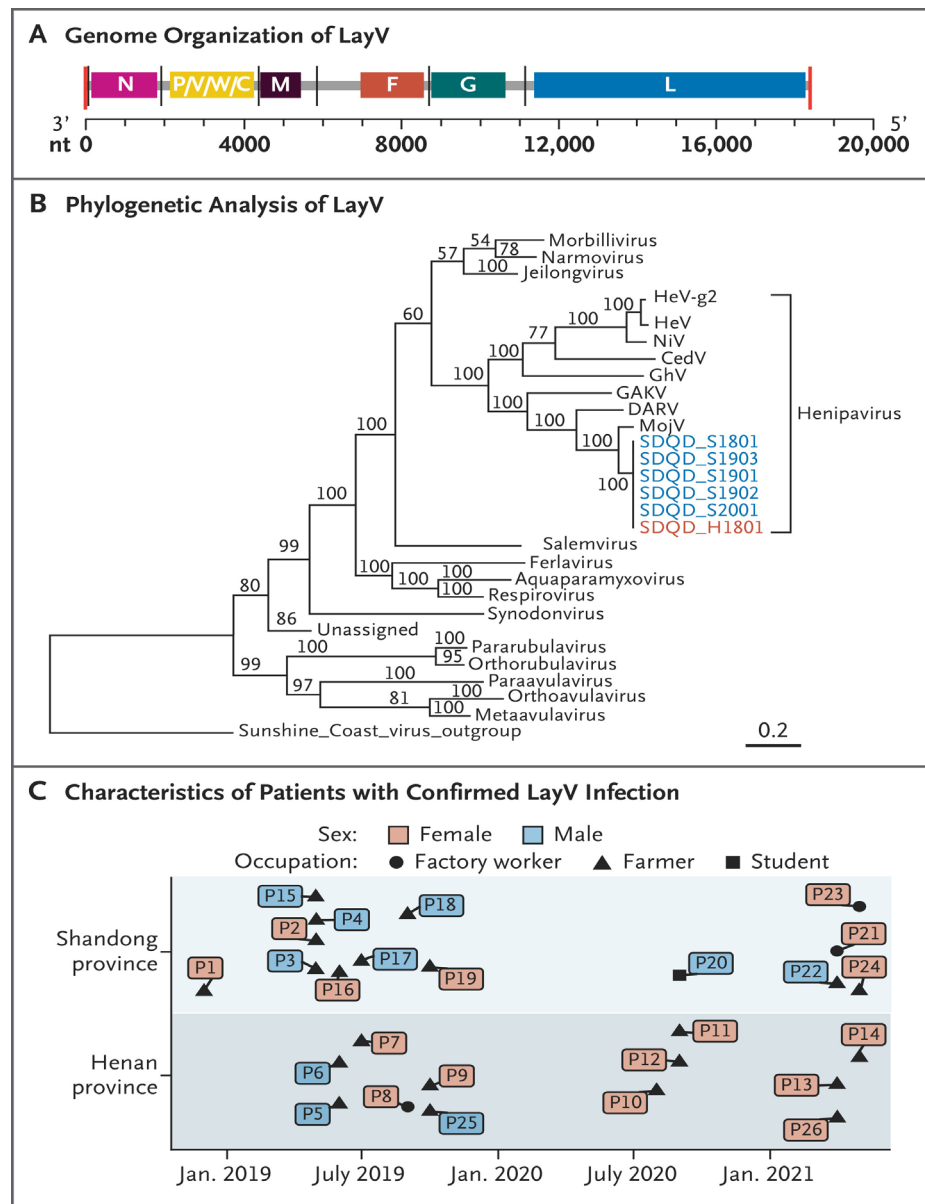


Figure 1 – LayV is characterized by its genome structure, phylogeny, and case distribution [4]

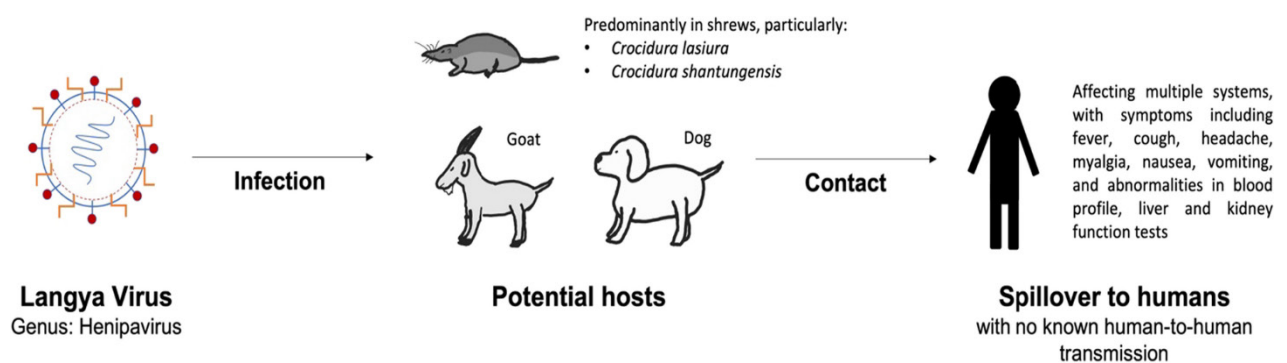


Figure 2 – Transmission of LayV [5]

Table 1 – Epidemiological patterns of henipaviruses outbreak in China and Southeast Asia

Species of henipavirus	Year	Countries affected	Outbreak to humans	Source of transmission
Nipah virus	1998	Malaysia, Singapore	Yes	Pig
	2001	Bangladesh, India	Yes	Date palm sap (Bangladesh), Nosocomial (India)
	2003	Bangladesh	Yes	
	2007	India	Yes	
	2018	India	Yes	Bats
	2019	India	Yes	Bats
	2000	Cambodia	No	Bats
	2002–2004	Thailand	No	Bats
	2008	Indonesia	No	Bats
	2007–2008	Vietnam	No	Bats
Hendra virus	1994–2022	Australia	No	Horse
Langya virus	2022	China	Yes	Shrews

Literature review

The structural preservation observed in the F glycoprotein of LayV substantiates its classification within the *Paramyxoviridae* family; however, notable antigenic divergence from NiV and HeV complicates current frameworks of vaccine cross-reactivity [9]. The «spring-loaded» fusion mechanism and prefusion conformational stability of LayV-F affirm its suitability for structure-guided vaccine development, though its antigenic distinctiveness necessitates the generation of LayV-specific immunogens [6]. Likewise, the unique glycosylation profile and “head-down” orientation of LayV-G underscore the imperative for customized receptor-binding investigations, as interactions with ephrin-B2/B3 appear improbable [2, 14]. Nevertheless, comprehensive cytokine profiling and characterization of *in vivo* infection kinetics remain incomplete for LayV, in contrast to the extensively studied NiV and HeV [9]. The current absence of confirmed human-to-human transmission, along with subclinical zoonotic spill-over events, aligns LayV more closely with MojV in ecological terms; however, dedicated infection models are required to evaluate its transmissibility and tissue tropism [15].

Critically, the antiviral efficacy of neutralizing antibodies or epitope-driven vaccines targeting LayV G/F antigens has not yet been experimentally validated. Preliminary immunoinformatics analyses yield promising *in silico* predictions, but empirical substantiation is necessary [16]. Moving forward, research must prioritize receptor identification, detailed profiling of innate and adaptive immune responses, and the establishment of animal models

to support One Health-based surveillance and the development of LayV-specific countermeasures, thereby reducing the risk of future henipavirus emergence.

Genomic Features of Langya Henipavirus Genome Structure and Organization

LayV harbors a non-segmented, negative-sense RNA genome of approximately 18 kb, encoding six principal structural proteins N (nucleocapsid), P (phosphoprotein), M (matrix), F (fusion), G (attachment glycoprotein), and L (large polymerase) alongside accessory V/W proteins generated through RNA editing of the P gene [3, 17, 18]. Guo et al. (2024) demonstrates that LayV exhibits a uniquely mushroom-shaped architecture. The LayV-G glycoprotein lacks binding affinity for receptors utilized by other henipaviruses, such as ephrin B2/B3, and presents antigenic properties distinct from those of HeV-G and NiV-G. The near-complete structural elucidation of LayV-G highlights this distinctive morphology, setting it apart from other *Henipavirus* attachment glycoproteins. Its stalk and trans-membrane domains resemble the stem and base of a mushroom cap, potentially mediating interactions with the F protein and modulating the membrane fusion process. As an attachment glycoprotein within the *Paramyxoviridae* family, LayV-G shares approximately 86% overall sequence identity with MojV-G, particularly within the conserved receptor-binding region. Prior investigations have shown that MojV-G fails to engage any known paramyxovirus receptor, and the receptor-binding capability of LayV-G to established paramyxovirus receptors remains undetermined. To elucidate the molecular

mechanism of LayV-G, the extracellular domain (residues 63–624 a.a.) was initially purified via recombinant expression. The C-terminal Flag-tagged LayV-G exhibited stability and homogeneity in size exclusion chromatography (SEC), and its UV absorption peak was assessed through non-reducing and reducing SDS-PAGE followed by Coomassie brilliant blue staining and western blotting, confirming the tetrameric conformation of LayV-G (Figure 3) [17].

Structural investigations employing cryo-electron microscopy and X-ray crystallography have verified that the LayV F and G proteins adopt the canonical class I fusion trimer and six-bladed β -propeller conformations, respectively, both of which are essential for host cell entry. Importantly, the LayV F protein preserves the “spring-loaded” prefusion conformation, with conserved stabilizing residues adjacent to the fusion peptide, thereby enabling structure-based antigen design [7].

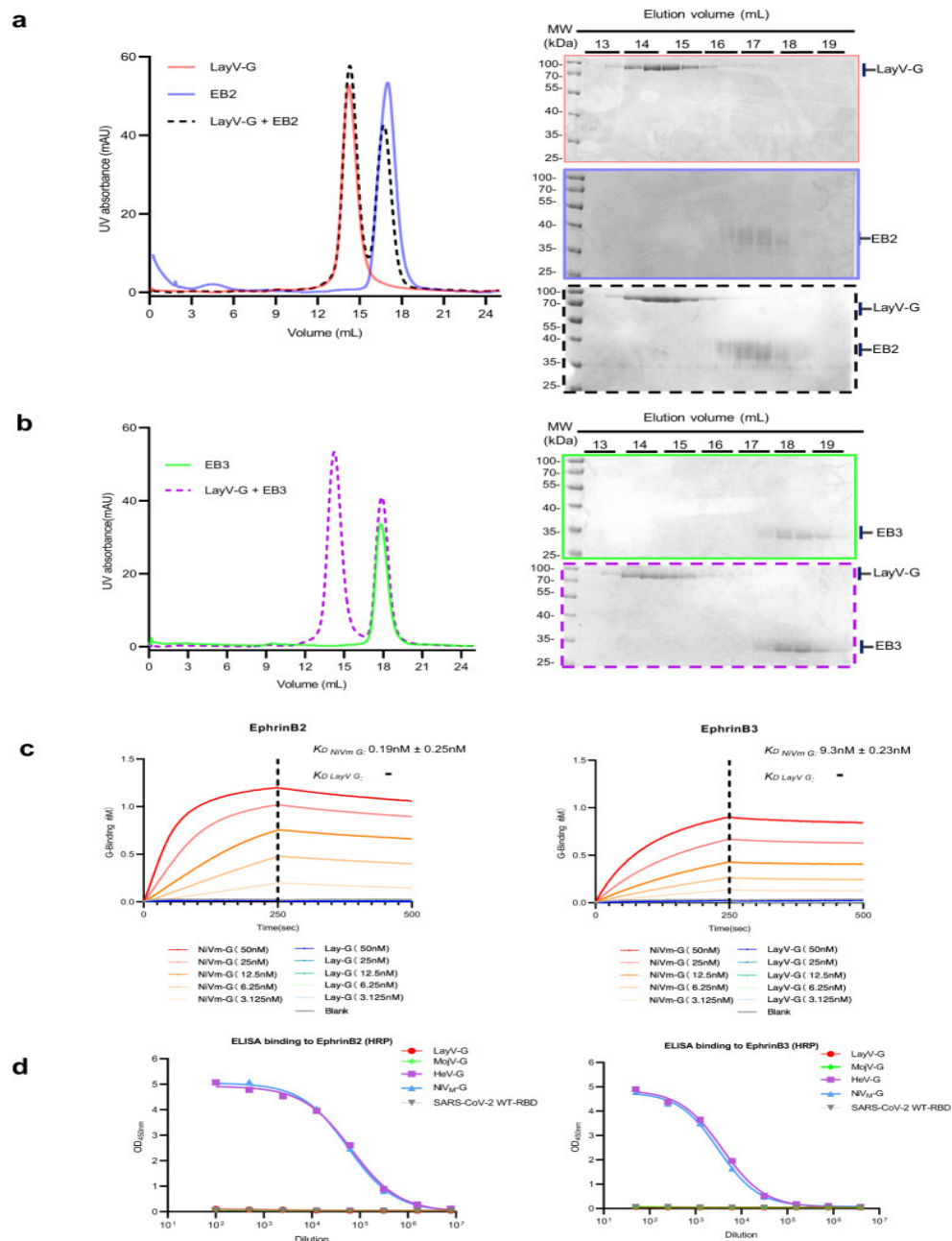


Figure 3 – Biochemical profiling of the LayV-G glycoprotein and its binding interactions with Henipavirus receptors ephrinB2 and ephrinB3 [17]

Comparison with Other Henipaviruses:- In comparison to its highly pathogenic counterparts, LayV demonstrates substantial genomic conservation in critical proteins such as N and L, sharing over 80% sequence identity with Nipah virus (NiV) and Hendra virus (HeV), while exhibiting greater divergence in the P, F, and G proteins particularly within antigenic and receptor-binding domains. The presence of a unique glycosylation motif at Asn189 in LayV-G, absent in NiV and HeV, implies altered host interactions and antigenic properties [15]. Structural analysis of LayV-G reveals a distinct “mushroom-like” tetrameric arrangement with four downward-tilted head domains, differing from the bidirectional configuration of NiV/HeV G proteins and suggesting alternative receptor specificity [17]. These conformational differences are supported by functional evidence indicating that LayV-G does not interact with ephrinB2 or B3, in contrast to NiV and HeV, thereby indicating a novel cellular entry mechanism. Ongoing comparative genomics and reverse genetics investigations are critical to elucidate the functional consequences of these molecular variations on LayV’s pathogenic potential and zoonotic risk [8].

Mechanisms of Host Cell Infection

Viral Attachment and Entry

The G (attachment) glycoprotein of LayV plays a critical role in mediating host cell entry. Cryo-EM and crystallographic analyses reveal that LayV-G forms a tetrameric, mushroom-shaped structure characteristic of henipaviruses, featuring a six-bladed β -propeller head and a stalk domain that facilitates interaction with the fusion (F) protein [17]. In contrast to Nipah (NiV) and Hendra (HeV), LayV-G fails to bind ephrin-B2 or ephrin-B3 receptors, as demonstrated by SPR and ELISA assays, suggesting engagement with an unidentified receptor [8]. Structural comparison indicates approximately 86% sequence identity with Mojiang virus (MojV), which similarly lacks binding to known receptors, supporting this notion [17]. Functional fusion assays confirm that LayV-G and LayV-F together mediate membrane fusion and syncytia formation in human, mouse, and hamster cell lines, validating receptor-dependent activation of F [9].

Functional Evaluation of LayV F and G Glycoproteins: LayV F harbors a presumptive cleavage motif at residue R104, analogous to R109 in NiV and K109 in HeV, but lacks the canonical YXX Φ sorting signal and one of two downstream tyrosine residues found in the C-terminal domains of NiV/

HeV F, which mediate endosomal recycling and cathepsin L-dependent cleavage. Nonetheless, transient expression of LayV F, or co-expression with LayV G, in CHO-K1, HEK293T, or Neuro-2a cells produced both the F0 precursor and proteolytically processed F1 (and F2) in proportions comparable to other henipaviruses. These findings parallel those for MojV F and suggest that LayV/MojV employ a cleavage mechanism distinct from that of NiV and HeV. To investigate this, the general cysteine protease inhibitor Aloxistatin (E64d) was applied to transiently transfected Neuro-2a cells expressing LayV F, MojV F, NiV F, or HeV F. E64d impaired cleavage of NiV F and HeV F but had no effect on LayV or MojV, indicating that a distinct protease mediates F processing in this divergent HNV subgroup. LayV F contains a putative cleavage site at residue 104 (R104), analogous to NiV (R109) and HeV (K109), but lacks the canonical YXX Φ motif and one of the two downstream tyrosine residues found in the C-terminal cytoplasmic domains of NiV/HeV F, which facilitate endosomal recycling and subsequent cathepsin L-mediated cleavage (Figure 4) [9].

Structural Characterization of LayV F in Prefusion and Postfusion States: – To delineate LayV F architecture, an ectodomain construct fused to a GCN4 trimerization motif was produced. EM imaging of negatively stained samples confirmed compact homotrimer formation characteristic of the prefusion state, though spontaneous refolding to the postfusion form occurred. Consequently, two cryo-EM datasets were collected four months apart, resolving prefusion and postfusion structures at 2.5 Å and 3.9 Å, respectively. The prefusion LayV F adopts a ~90 Å-high and ~90 Å-wide pyramidal trimer, analogous to prefusion NiV F, despite sharing only 44% sequence identity. A LayV F protomer aligns with NiV F at a root-mean-square deviation (rmsd) of 2.3 Å over 432 C α atoms, compared to 1.1 Å over 436 C α atoms between NiV F and HeV F. All five disulfide bonds in LayV F are conserved relative to NiV/HeV F, supporting correct folding. The resolved LayV F structure closely resembles a recent LayV F model (rmsd 0.6 Å). The fusion peptide (residues 110–122) is identical to MojV F and conserved across NiV/HeV F, exhibiting an identical conformation. N-linked glycans at N65 and N459 are resolved, whereas NiV/HeV F possess at least four such glycans. The N65 glycan emerges from the trimer apex similarly to the N67 glycan of NiV/HeV, an epitope for neutralizing antibodies. LayV F’s divergent sequence and glycosylation suggest unique antigenic properties [9].

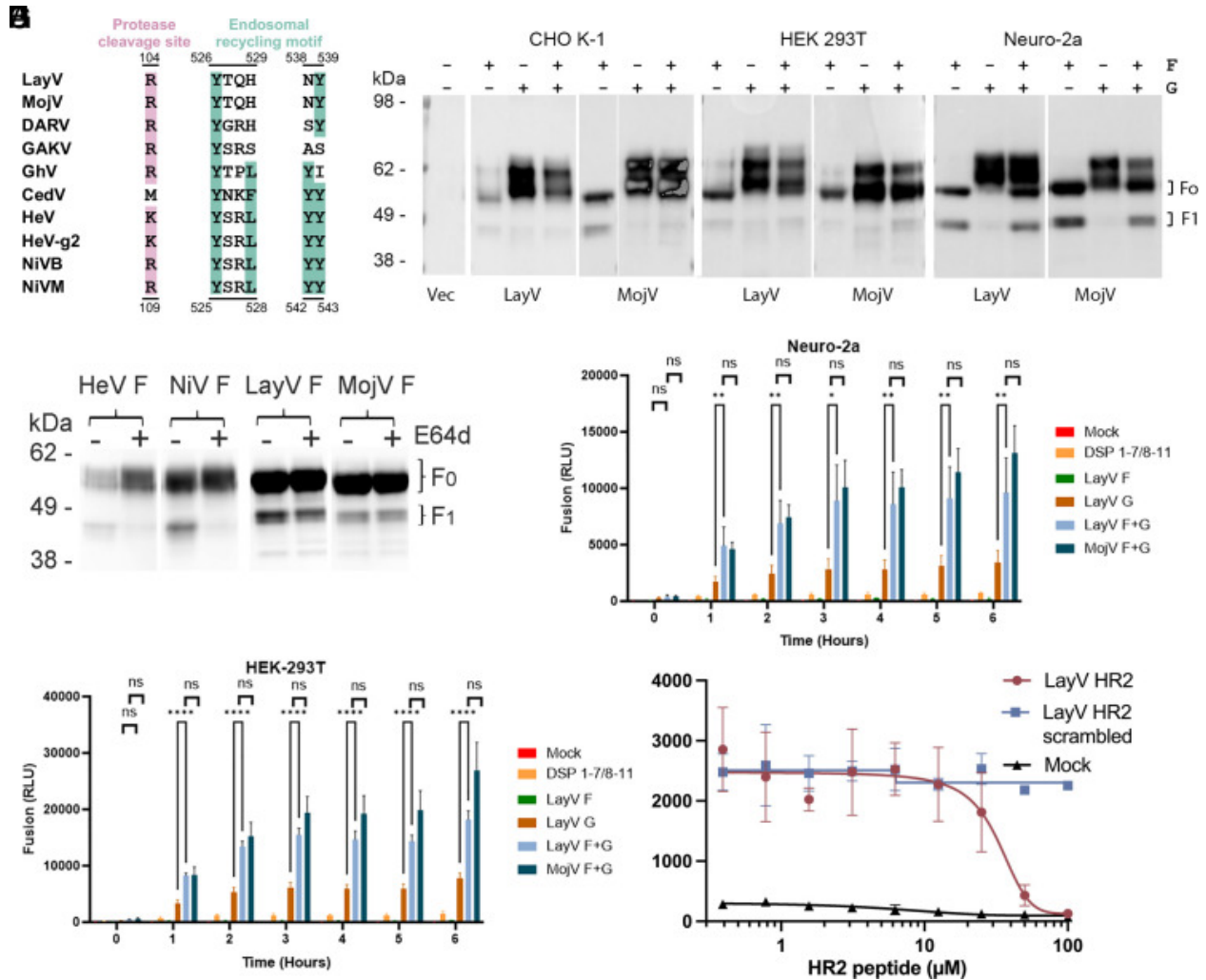


Figure 4 – (A) Alignment reveals conserved cleavage and recycling motifs in LayV and related Henipavirus F proteins. (B–D) Western blot shows LayV F is cleaved into F1/F2 in multiple cell lines. (E) E64d does not affect LayV/MojV F cleavage, indicating a different protease from NiV/HeV. (F–G) LayV and MojV F/G drive cell–cell fusion, confirmed by luciferase assays. (H) LayV HR2 peptide inhibits fusion dose-dependently; scrambled peptide shows no effect [9]

The postfusion LayV F presents as a ~ 150 Å-high and ~ 70 Å-wide conical trimer, with a central triple helix and HR1 domain enveloped by three antiparallel HR2 helices, forming a six-helix bundle. The opposite end forms a triangular base. HR1 and HR2 from each protomer interact exclusively with the other two protomers, forming an interlaced structure. Glycans at N65 and N459 localize to the outer region of the elongated trimer. In this conformation, the fusion peptide and transmembrane domain are repositioned to the same end to facilitate membrane fusion. The topology mirrors other paramyxovirus and coronavirus postfusion trimers, indicating evolutionary conservation of fusion mechanisms. While extensive conformational shifts occur, the N-terminus, β -rich domains (residues 281–420), and

upstream helix largely retain their structure, aside from changes in orientation. This transition increases the buried surface area between protomers more than twofold—from $\sim 2,180$ Å² in prefusion to $\sim 5,220$ Å² in postfusion—highlighting the irreversible nature of this refolding [9].

A Generalizable Strategy for Prefusion Stabilization of HNV F Glycoproteins: – The spontaneous refolding of LayV F underscores its metastability, a common feature of viral fusion proteins. Immunization with prefusion, but not postfusion, NiV or HeV F induces neutralizing antibodies, prompting evaluation of NiV/HeV prefusion-stabilizing mutations in LayV F. These included i) NiV L172F and S191P (corresponding to LayV I167F and S186P) and ii) an engineered disulfide bond across F2 and

F1 (NiV/HeV N100C/A119C, LayV N95C/A114C) near the cleavage site. LayV F I167F/S186P produced primarily postfusion trimers, while N95C/A114C yielded well-folded prefusion trimers. The combination of all four mutations resulted in prefusion trimers with some aggregation. The engineered disulfide bond effectively stabilized prefusion LayV F and restored expression of otherwise postfusion constructs. Spontaneous refolding of LayV F highlights its metastable nature, characteristic of viral fusion proteins (40–42, 45–50). Immunization with prefusion, but not postfusion, NiV F or HeV F induced neutralizing antibodies (46, 51), prompting assessment of the applicability of NiV/HeV F

prefusion-stabilizing mutations to LayV F. Evaluated were: i) the NiV L172F (cavity-filling; LayV F I167F) and S191P (postfusion central helix breaker; LayV F S186P) substitutions (51), and ii) the engineered disulfide bond bridging the F2 and F1 subunits (NiV/HeV F N100C/A119C; LayV F N95C/A114C), proximal to the F cleavage site (12, 22), all of which appear structurally compatible with LayV F (Fig. 5 A–C). LayV F I167F/S186P primarily yielded postfusion trimers (Fig. 5 E and F), whereas LayV F N95C/A114C facilitated production of well-folded prefusion F trimers. The combination of all four mutations produced prefusion F trimers along with some aggregates (Figure 5) [9].

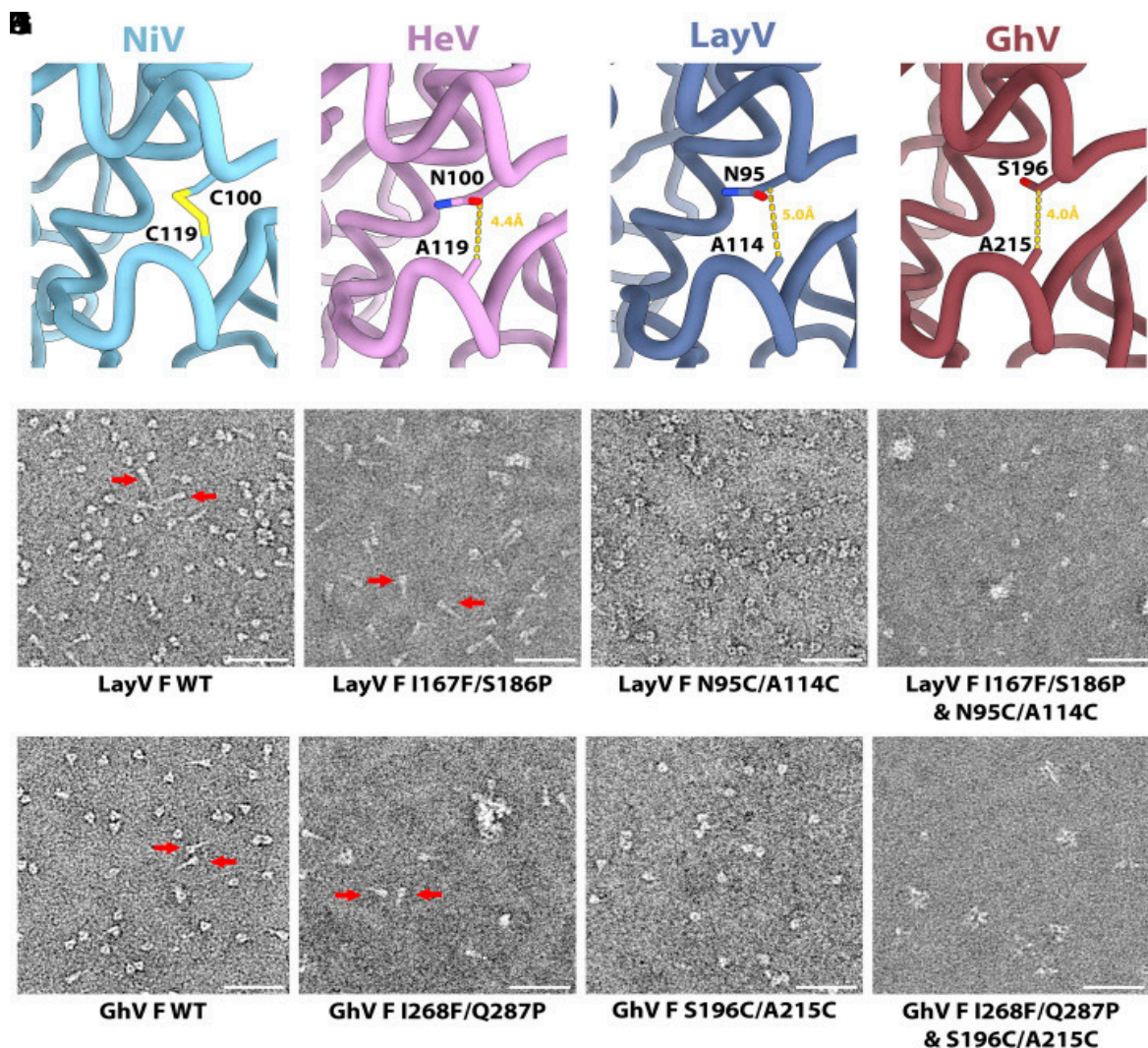


Figure 5 – (A–D) Structural analysis of NiV, HeV, LayV, and GhV F glycoproteins demonstrates spatial feasibility for disulfide bond engineering to enhance prefusion conformational stability. (E–H) Electron microscopy of wild-type and mutant LayV F variants indicates that the N95C/A114C substitution maintains the prefusion state, whereas I167F/S186P favors postfusion configuration. (I–L) EM evaluation of GhV F mutants exhibits analogous stabilization effects with I268F/Q287P and S196C/A215C substitutions; red arrows denote postfusion structures [9]

Discovery of a LayV F Cross-Reactive Monoclonal Antibody: – Monoclonal antibodies targeting NiV and HeV F proteins neutralize infection and confer protection in animal models. To assess cross-reactivity, biolayer interferometry (BLI) was used to test NiV/HeV F-directed mAbs against LayV F. Neither 5B3 nor 12B2 IgGs bound LayV F, likely due to structural discrepancies. However, 4G5 IgG, but not 3C4 IgG, exhibited binding, both derived from MojV F immunizations. These results highlight the close evolutionary and antigenic relationship between LayV F and MojV F sharing 90% sequence identity and their divergence from other henipaviruses [9].

Viral Replication and Transcription

LayV undergoes complete replication within the cytoplasm, utilizing an RNA-dependent RNA polymerase complex composed of the L (large) protein and its cofactor P (phosphoprotein), in conjunction with the N (nucleocapsid) protein. Structural analyses of NiV/HeV L–P complexes indicate a multi-domain organization including RNA polymerase, capping, and methyltransferase domains functionally integrated through P-mediated oligomerization [19, 20]. Gene expression adheres to a classical transcriptional gradient, with 3'-proximal genes such as N being transcribed at higher levels than distal genes, thereby promoting early nucleocapsid formation [21]. Genome replication involves synthesis of a full-length antigenome, with nascent RNA being encapsidated by nucleocapsid proteins. The M (matrix) protein plays a pivotal role in virion assembly and budding by mediating interactions between the nucleocapsid and viral envelope [19]. A recently established RT-qPCR assay targeting the LayV L gene has verified active viral replication *in vitro*, consistent with polymerase activity profiles reported in NiV/HeV systems.

Host Range and Tropism

LayV has been epidemiologically associated with shrews as its principal reservoir. Molecular surveillance in eastern China demonstrated that 27% of sampled shrews (*Crocidura lasiura* and *C. shantungensis*) harbored LayV RNA, strongly implicating these species in viral persistence and zoonotic transmission [22]. These observations are consistent with

previous detections of henipavirus-like sequences in shrews across Asia and Africa. The widespread ecological distribution and growing adaptability of shrews to anthropogenic environments increase the likelihood of interspecies viral transmission [23]. Beyond wildlife reservoirs, domestic animals appear to serve as incidental hosts. Serological investigations revealed LayV-specific antibodies in approximately 2% of goats and 5% of dogs, whereas pigs and cattle showed no evidence of seropositivity [2]. These findings are congruent with historical accounts of domestic species such as pigs, cattle, and horses acting as amplifiers in past Nipah and Hendra virus outbreaks [22].

Human LayV infections remain sporadic, with 35 confirmed cases between 2018 and 2022, all involving documented contact with animals, predominantly shrews [24]. Clinical monitoring and contact tracing of approximately 15 individuals per case revealed no indications of human-to-human transmission [25]. This transmission profile reflects the ecological patterns observed in other non-bat henipaviruses with limited human spread [22]. However, the restricted sample size and absence of confirmed transmission clusters do not preclude the possibility of infrequent human-to-human transmission.

Pathogenesis

A hallmark of henipavirus pathogenesis is the induction of cell–cell fusion among adjacent host cells, facilitating direct viral dissemination without reliance on viral budding. The replication dynamics of LayV and MojV remain incompletely characterized, as MojV has never been isolated and LayV was only recently identified. Experimental evidence demonstrates that LayV is capable of replicating in Vero cells *in vitro*. MojV has been non-causatively implicated in cases of human pneumonia. LayV has been associated with febrile respiratory illness in humans, notably without evidence of encephalitis or neurological involvement. The clinical manifestations of LayV infection resemble those caused by other respiratory pathogens, including influenza viruses and SARS-CoV-2, thereby complicating diagnosis based solely on symptomatology (Table 2). MojV remains a controversial etiological agent in human pneumonia, lacking definitive pathogenic association [18].

Table 2 – Pathogenic Differences in Henipavirus Outbreaks

Symptoms/Signs	Nipah-M	Hendra	Langya	Mojiang
Fever	97%		100%	100%
Headache	65%		35%	50%
Cough	13%		50%	100%
Neurological Signs	11%	50%	0	0
Vomiting	27%		35%	16%
Elevated Neutrophils			50%	
Thrombocytopenia	30%		57%	
Leukopenia	11%		54%	33%
Death	32%	57%	0	50%

Strategies of Immune Evasion

Innate Immune System Avoidance by Langya Henipavirus

LayV likely adopts a complex strategy to circumvent the host innate immune response, paralleling mechanisms observed in related henipaviruses such as Nipah (NiV) and Hendra (HeV). Central to this evasion are proteins encoded by the P gene—P, V, and W—as well as the C protein produced via alternative reading frames. These viral proteins disrupt type I and II interferon (IFN) signaling by binding to STAT1 and STAT2, thereby inhibiting their phosphorylation and subsequent nuclear translocation [26]. In NiV and HeV, the V protein sequesters STAT1 and STAT2 into cytoplasmic aggregates, while the W protein confines STAT1 within the nucleus, suppressing IFN-stimulated gene (ISG) transcription [27–30].

Although less potent, the P protein also contributes by retaining STAT1 in the cytoplasm [31]. LayV's P/V/W proteins contain conserved N-terminal STAT-binding motifs including glycine-121 and serine-130/131 previously identified as critical for STAT interaction in NiV and HeV, suggesting analogous IFN antagonism in LayV [32]. The study evaluated the inhibitory effects of NiV-

N, HeV-N, and MV-N proteins on host interferon (IFN) responses. Reporter assays demonstrated that henipavirus N proteins suppressed ISRE- and GAS-driven gene expression in a dose-dependent manner. Although less potent than P gene products against type I IFN, N proteins more effectively attenuated type II IFN responses. The core domain of NiV-N and HeV-N significantly inhibited IFN- α and IFN- γ signaling, whereas their tail domains showed no effect. NiV-N also impaired STAT1/2 nuclear translocation by disrupting interactions with importins $\alpha 5$, $\alpha 6$, and $\alpha 7$ [27]. Similarly, the M protein of NiV suppresses innate immunity by interacting with TRIM6 to inhibit TBK1 activation and downstream IFN signaling. NiV minigenome systems were pivotal in elucidating the bipartite replication promoter structure, confirming the applicability of the rule of six to NiV, evaluating the roles of noncoding regions, and conducting functional analyses of the NiV N, P, and L gene products (Figure 6) [33]. Given the conserved structure and function of LayV's N and M proteins, comparable mechanisms are plausible. Nonetheless, direct experimental validation such as STAT localization and ISG reporter assays is required to substantiate these immune evasion strategies in LayV infection.

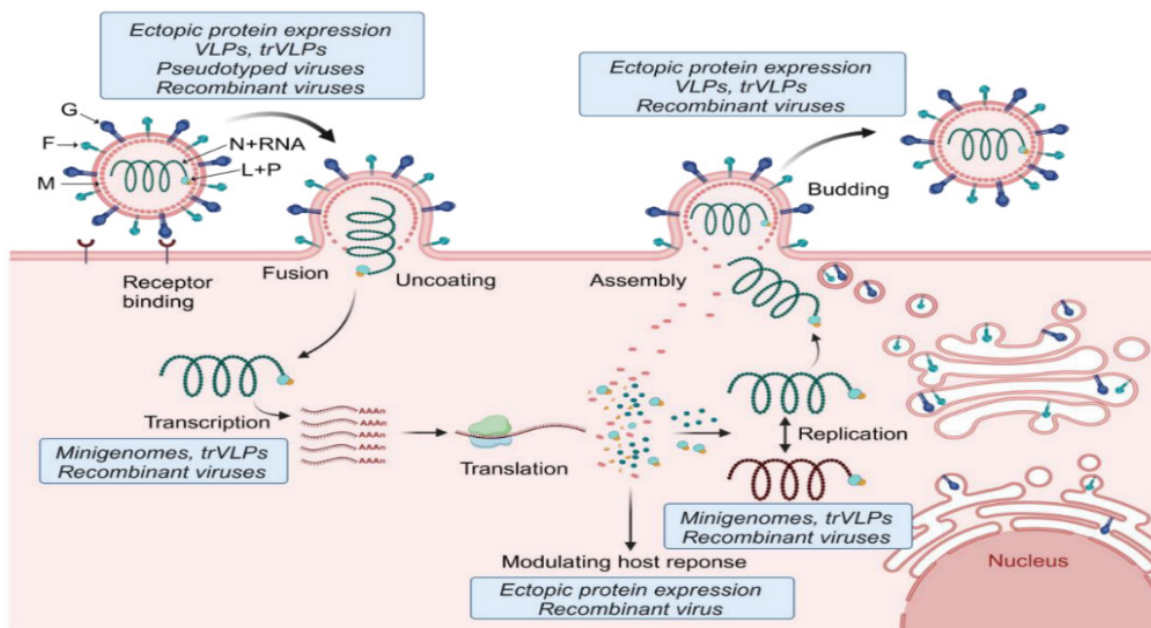


Figure 6 – The henipavirus replication cycle begins with G glycoprotein-mediated attachment to host cell receptors such as ephrin-B2/B3. Membrane fusion, facilitated by both G and F proteins, allows viral entry, releasing the helical nucleocapsid into the cytoplasm. Primary transcription is initiated, followed by translation of viral mRNAs, secondary transcription, and genome replication within cytoplasmic inclusion bodies. Viral proteins P, V, W, and C modulate host antiviral responses. Newly synthesized genomes are packaged with N, P, and L proteins into nucleocapsids and transported to the plasma membrane.

The M protein directs viral assembly and budding. Experimental tools for each stage are outlined in blue boxes, including fusion (F), attachment (G), polymerase (L), matrix (M), nucleocapsid (N), phosphoprotein (P), transcription- and replication-competent virus-like particles (trVLPs), and virus-like particles (VLPs) [33]

Modulation of Host Signaling Pathways in LayV

LayV employs conserved molecular tactics akin to other henipaviruses to inhibit essential host innate immune signaling cascades, particularly the JAK/STAT and pattern recognition receptor (PRR) pathways. Accessory proteins P, V, and W produced via RNA editing of the P gene play central roles in this immune modulation. Studies on Nipah virus (NiV) reveal that the V protein binds STAT1/STAT2, forming high-molecular-weight aggregates that obstruct phosphorylation and nuclear translocation, thereby suppressing JAK/STAT signaling. And Interferons (IFNs) are key modulators of the innate antiviral immune response, triggered upon detection of pathogen-associated molecular patterns by host pattern recognition receptors. This activation initiates a signaling cascade that culminates in the secretion of type I IFNs and subsequent phosphorylation of STAT1 and STAT2 [34]. Simultaneously, the W protein disrupts nuclear import mechanisms,

such as those mediated by importin- α , impeding transcriptional activation of interferon-stimulated genes (ISGs) [35]. Specific mutations, such as Y116E within the STAT-interacting domain, reduce antagonistic activity and attenuate virulence in animal models, highlighting the clinical significance of this immune evasion. The N-terminal region of the NiV P protein, shared with the V and W proteins, contains a STAT1-binding domain. Prior investigations employing diverse methodologies identified seven distinct amino acid substitutions within this domain, specifically: Y116E, G121E, G127E, G135E, G125E24, S130A, and S131A (Figure 7) [36]. Moreover, the NiV V protein suppresses PRR signaling by inhibiting host sensors including RIG-I, MDA5, IRF-3, and NF- κ B through interactions with cellular proteins such as PP1 and 14-3-3 [37]. Transcriptomic analyses of henipavirus-infected cells reveal marked repression of both JAK/STAT-responsive and PRR-activated gene expression [38].

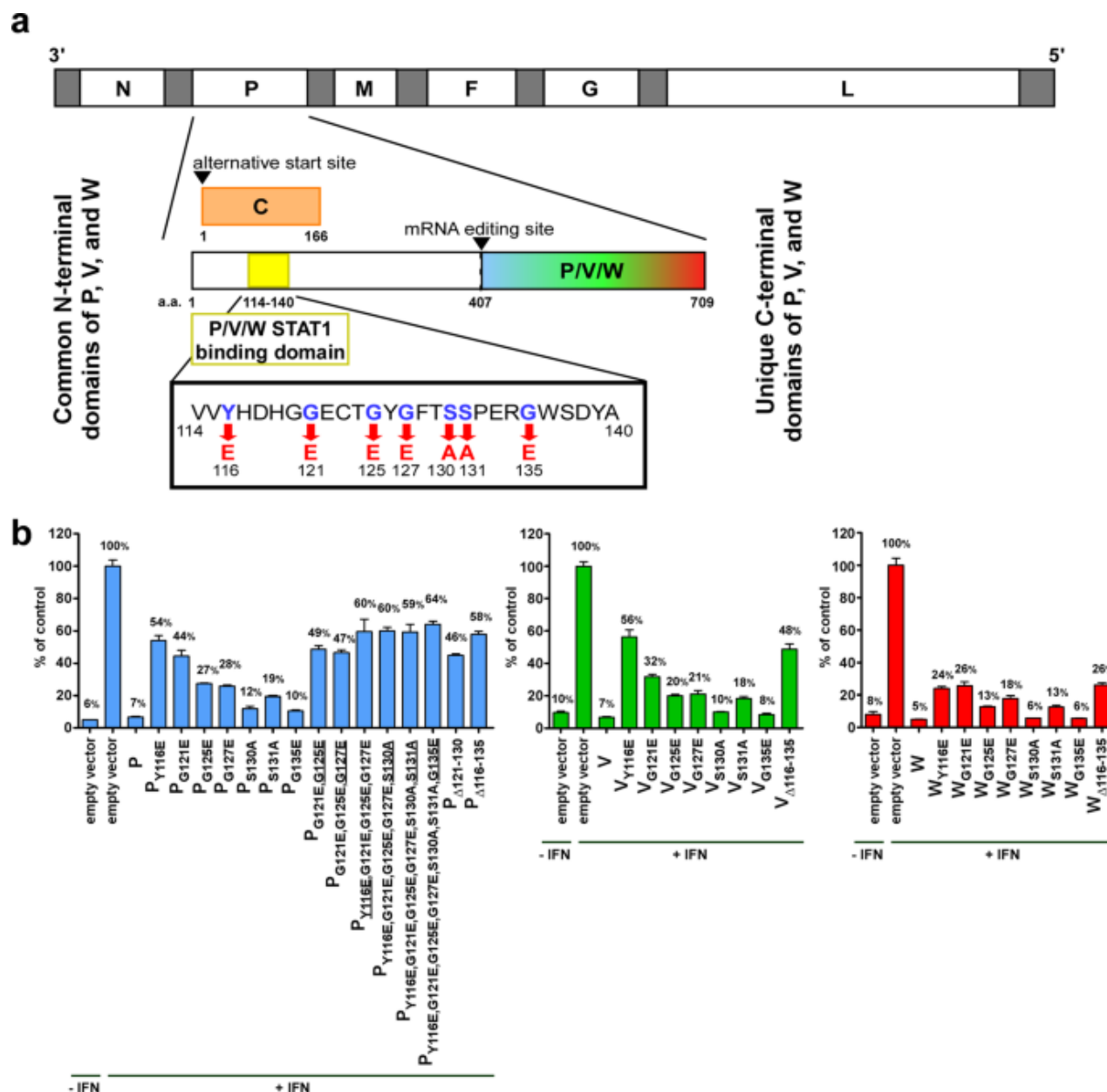


Figure 7 – (a) The STAT1-binding domain shared by NiV P, V, and W proteins encompasses amino acids 114–140, overlapping the open reading frame of the C protein; seven critical residues within this region mediate STAT1 interaction, with mutagenesis abrogating binding capability. (b) Luciferase reporter assays in 293T cells demonstrate that targeted mutations in the P, V, and W proteins attenuate IFN- α -induced signaling, corroborating the involvement of these residues in interferon antagonism [36]

Persistence and Latency (Hypothetical)

While LayV has not been conclusively shown to establish latency, insights from related henipaviruses, particularly Nipah virus (NiV), suggest the potential for prolonged viral persistence in specific tissues, especially the central nervous system (CNS) [39].

1. Evidence of NiV Persistence: – NiV has been identified in survivors several years post-infection, with delayed-onset encephalitis occurring up to 11

years later [39]. Post-mortem and neuroimaging analyses have demonstrated viral persistence in neurons and microglia of the brainstem and cortex, accompanied by lymphohistiocytic inflammation and demyelination. Experimental non-human primate models have shown that although viremia is initially acute, viral RNA and antigens persist in brain tissue during convalescence, indicating the possibility of recrudescence [39, 40].

2. Mechanisms of Persistence: – NiV persistence likely relies on immune evasion and residence in immune-privileged compartments. Suppression of interferon (IFN) signaling via accessory proteins may facilitate survival in neural tissues. Additionally, gradual viral release from endothelial and neural reservoirs may contribute to latent infection [26].

3. Implications for LayV: – Given LayV's structural and functional homology with NiV, particularly in replication and immune evasion, it is plausible that LayV may also exhibit tissue persistence [33]. However, no direct evidence currently confirms LayV latency. Longitudinal studies, including cerebrospinal fluid and brain tissue sampling in experimental models, are essential [41].

4. Research Needs:- Investigation into LayV persistence necessitates:

- Development of long-term animal models (e.g., ferret, hamster) [42].
- Use of molecular techniques (e.g., RT-qPCR, in situ hybridization) to detect viral RNA in neural and lymphoid tissues [43].
- Application of immunohistochemistry to localize viral proteins and characterize inflammatory responses (e.g., gliosis, microglial activation) [44].

Current Knowledge Gaps in Langya Henipavirus (LayV) Research

Despite progress, several pivotal gaps remain in the understanding of LayV pathogenesis, hindering effective surveillance, treatment, and prevention [17]:

1. Host Receptor Identification: – LayV's entry mechanism is unclear, as it does not bind the ephrin-B2/B3 receptors used by Nipah and Hendra viruses. Although LayV-G adopts a novel tetrameric architecture, its cellular receptor remains unidentified. Clarifying this is critical for understanding host range, tissue targeting, and therapeutic development [17].

2. Human-to-Human Transmission Potential: – As of August 2022, 35 human LayV cases were reported in China, all linked to animal contact with no evidence of person-to-person spread. However, limited sample size restricts conclusions; robust cohort studies and contact tracing are needed to assess low-frequency transmission [25, 45, 46].

3. Immune Modulation Mechanisms: – LayV encodes P/V/W proteins with conserved STAT-binding and RNA editing motifs, implying potential disruption of JAK/STAT and PRR signaling. However, experimental data confirming LayV-mediated immune suppression, including STAT sequestration or IRF-3 inhibition, is lacking [19, 47, 48, 49].

4. Lack of Animal Models: – No animal model currently exists for LayV, contrasting with validated models for other henipaviruses (e.g., ferrets, hamsters, AGMs). This absence impedes studies on LayV's in vivo pathogenesis, transmission, and immune interactions [50, 51].

5. Absence of Antiviral or Vaccine Testing: – No antivirals or vaccines target LayV. While m102.4 and ribavirin show efficacy against other henipaviruses, LayV's distinct F and G glycoproteins necessitate evaluation of cross-reactivity and the development of tailored immunotherapies [26].

Conclusion

Langya henipavirus (LayV) is a recently discovered new representative of the genus of henipaviruses with growing zoonotic significance and possible implications on public health. Being closely related to highly pathogenic Nipah and Hendra viruses on a genetic level, LayV possesses vital structural and functional similarities with a non-segmented negative sense RNA genome that encodes six key proteins (N, P, M, F, G and L) organizing the viral replication, cell entry, and immune modulation processes. Although its natural reservoir is assumed (probably) to be shrews, serological findings in domestic animals point to a larger host range and to the possibility of cross-species transmission. LayV pathogenesis is still unexplored with regard to its molecular mechanisms. The virus is, however, expected to infect its host cells with the help of glycoproteins G and F, and could utilize recruits to immune evasion similar to those of other henipaviruses, that includes, but is not limited to, inhibition of the JAK/STAT signalling pathway and suppression of the interferon responses through its accessory proteins. Although there is no documented human-to-human transmission, the presence of several human cases with fever and respiratory manifestations makes it clear that the virus has the potential of an occasional zoonotic spillover, a fact that necessitates heightened active surveillance. Substantial knowledge gaps still remain, mainly in the identity of host receptors, the dynamics of human transmission and immune escape. Additionally, the absence of established animal models of LayV significantly restrains the research capacities to understand its pathogenesis and to test the therapeutic activities. The future studies should focus more on the creation of in vivo models, functional assays of immune signaling disruption, and development of specific antivirals or vaccines. To conclude, there

is an increasingly One Health challenge of LayV. Spreading knowledge of this virus at the molecular and epidemiological level is crucial to identifying it

early enough, manage the risks, and design specific strategies of outbreak prevention and international health preparedness.

References

1. S. Akash, M. M. Rahman, M. R. Islam, and R. Sharma, "Emerging Global Concern of Langya Henipavirus: Pathogenicity, Virulence, Genomic Features, and Future Perspectives," *Journal of Medical Virology* 95, no. 1 (2023): e28127, <https://doi.org/10.1002/jmv.28127>
2. Snehasis Nayak, "Unveiling Emerging Threats: Langya and Mojiang—A Dance with Unfamiliar Foes," *Infectious Diseases & Immunity* (2024): 10–1097, <https://doi.org/10.1097/ID9.0000000000000155>
3. "Henipavirus." Wikipedia, last modified June 7, 2025. <https://en.wikipedia.org/wiki/Henipavirus>
4. Xiao-Ai Zhang, Hao Li, Fa-Chun Jiang, Feng Zhu, Yun-Fa Zhang, Jin-Jin Chen, Chee-Wah Tan, Danielle E. Anderson, Hang Fan, Li-Yan Dong, Chang Li, Pan-He Zhang, Yue Li, Heng Ding, Li-Qun Fang, Lin-Fa Wang, and Wei Liu. "A Zoonotic Henipavirus in Febrile Patients in China." *New England Journal of Medicine* 387, no. 5 (August 3, 2022): 470–472. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2202705>
5. Adesola, R. O., A. V. Miranda, Y. S. J. Tran, et al. "Langya Virus Outbreak: Current Challenges and Lesson Learned from Previous Henipavirus Outbreaks in China, Australia, and Southeast Asia." *Bulletin of the National Research Centre* 47 (2023): 87. <https://doi.org/10.1186/s42269-023-01064-3>
6. May, A. J., K. R. Pothula, K. Janowska, and P. Acharya. "Structures of Langya Virus Fusion Protein Ectodomain in Pre- and Postfusion Conformation." *Journal of Virology* 97 (2023): e00433-23. <https://doi.org/10.1128/jvi.00433-23>
7. Byrne, P. O., E. G. Blade, B. E. Fisher, D. R. Ambrozak, A. R. Ramamohan, B. S. Graham, R. J. Loomis, and J. S. McLellan. "Prefusion Stabilization of the Hendra and Langya Virus F Proteins." *Journal of Virology* 98, no. 2 (2024): e01372-23. <https://doi.org/10.1128/jvi.01372-23>
8. Wang, C., M. Li, Y. Wang, Q. Ding, S. Fan, and J. Lan. "Structural Insights into the Langya Virus Attachment Glycoprotein." *Structure* 32, no. 8 (2024): 1090–1098.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2024.05.003>
9. Wang, Zhaoqian, Matthew McCallum, Lianying Yan, and David Veesler. "Structure and Design of Langya Virus Glycoprotein Antigens." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 121, no. 16 (April 9, 2024): e2314990121. <https://doi.org/10.1073/pnas.2314990121>
10. Piracha, Z. Z., U. Saeed, R. A. Ahmed, F. N. Khan, and M. I. Nasir. "Global Emergence of Langya Virus: A Serious Public Health Concern." *Journal of Global Health* 13 (2023): 03034. <https://doi.org/10.7189/jogh-13-03034>
11. Chavda, V. P., V. Apostolopoulos, and R. Sah. "Langya Henipavirus Outbreak." *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 21, no. 10 (2023): 1021–1024. <https://doi.org/10.1080/14787210.2023.2260561>
12. Choudhary, O. P., Priyanka, M. L. Fahrni, A. A. Metwally, and A. A. Saied. "Spillover Zoonotic 'Langya Virus': Is It a Matter of Concern?" *The Veterinary Quarterly* 42, no. 1 (2022): 172–174. <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2117874>
13. Sah, Ranjit, Abhijit Mohanty, Shaoni Chakraborty, and Kuldeep Dhama. "Langya Virus: A Newly Identified Zoonotic Henipavirus." *Journal of Medical Virology* 94, no. 12 (2022): 5621–5622. <https://doi.org/10.1002/jmv.28095>
14. Choudhary, Om Prakash, Priyanka, Mohammed Abu Salah, and Harpal Chopra. "One Health and Bat-Borne Henipaviruses." *New Microbes and New Infections* 56 (2023): 101195. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2023.101195>
15. Isaacs, A., Y. S. Low, K. L. Macauslane, J. Seitanidou, C. L. Pegg, S. T. M. Cheung, B. Liang, C. A. P. Scott, M. J. Landsberg, B. L. Schulz, K. J. Chappell, N. Modhiran, and D. Watterson. "Structure and Antigenicity of Divergent Henipavirus Fusion Glycoproteins." *Nature Communications* 14, no. 1 (2023): 3577. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39278-8>
16. Mishra, S. K., G. P. Rai, N. Kumar, et al. "An Integrated Bioinformatics and Immunoinformatics Approach to Design a Multi-Epitope-Based Vaccine against Langya Henipavirus." *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 11 (2025): 62. <https://doi.org/10.1186/s43094-025-00815-5>
17. Guo, Y., S. Wu, W. Li, H. Yang, T. Shi, B. Ju, Z. Zhang, and R. Yan. "The Cryo-EM Structure of Homotetrameric Attachment Glycoprotein from Langya Henipavirus." *Nature Communications* 15, no. 1 (2024): 812. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45202-5>
18. Kaza, B., and H. C. Aguilar. "Pathogenicity and Virulence of Henipaviruses." *Virulence* 14, no. 1 (2023): 2273684. <https://doi.org/10.1080/21505594.2023.2273684>
19. Quarleri, J., Galvan, V., and Delpino, M. V. "Henipaviruses: An Expanding Global Public Health Concern?" *GeroScience* 44 (2022): 2447–2459. <https://doi.org/10.1007/s11357-022-00670-9>
20. Yang, G., Wang, D., and Liu, B. "Structure of the Nipah Virus Polymerase Phosphoprotein Complex." *Nature Communications* 15 (2024): 8673. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-52701-y>
21. Wikipedia contributors. "Paramyxoviridae." Wikipedia, The Free Encyclopedia. Last modified April 16, 2025. <https://en.wikipedia.org/wiki/Paramyxoviridae>
22. Spengler, J. R., Lo, M. K., Welch, S. R., and Spiropoulou, C. F. "Henipaviruses: Epidemiology, Ecology, Disease, and the Development of Vaccines and Therapeutics." *Clinical Microbiology Reviews* 38, no. 1 (2025): e0012823. <https://doi.org/10.1128/cmr.00128-23>

23. Caruso, S., and Edwards, S. J. “Recently Emerged Novel Henipa-like Viruses: Shining a Spotlight on the Shrew.” *Viruses* 15, no. 12 (2023): 2407. <https://doi.org/10.3390/v15122407>
24. 2022 Langya Virus Outbreak in China.” *Wikipedia: The Free Encyclopedia*. Last modified May 30, 2025. https://en.wikipedia.org/wiki/2022_Langya_virus_outbreak_in_China
25. Amin, Riaz, Riju Darwin, Harpal Chopra, and Talha Bin Emran. “Langya Virus: Slope of the Iceberg for Unexplored Pathogens.” *International Journal of Surgery (London, England)* 109, no. 2 (2023): 163–164. <https://doi.org/10.1097/JS9.000000000000151>
26. Lawrence, Paul, and Beatriz Escudero-Pérez. “Henipavirus Immune Evasion and Pathogenesis Mechanisms: Lessons Learnt from Natural Infection and Animal Models.” *Viruses* 14, no. 5 (2022): 936. <https://doi.org/10.3390/v14050936>
27. Sugai, Atsushi, Hiroshi Sato, Ikuyo Takayama, Makoto Yoneda, and Chieko Kai. “Nipah and Hendra Virus Nucleoproteins Inhibit Nuclear Accumulation of Signal Transducer and Activator of Transcription 1 (STAT1) and STAT2 by Interfering with Their Complex Formation.” *Journal of Virology* 91, no. 21 (2017): e01136-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01136-17>
28. Keiffer, Thomas R., Monica J. Ciancanelli, Michael R. Edwards, and Christopher F. Basler. “Interactions of the Nipah Virus P, V, and W Proteins across the STAT Family of Transcription Factors.” *mSphere* 5, no. 6 (2020): e00449-20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00449-20>
29. Salladini, Elisa, Fanny Gondelaud, Johan F. Nilsson, Giulia Pesce, Clara Bignon, Maria Grazia Murrall, Romain Fabre, Roberta Pierattelli, Andrey V. Kajava, Béatrice Horvat, Didier Gerlier, Céline Mathieu, and Sophie Longhi. “Identification of a Region in the Common Amino-terminal Domain of Hendra Virus P, V, and W Proteins Responsible for Phase Transition and Amyloid Formation.” *Biomolecules* 11, no. 9 (2021): 1324. <https://doi.org/10.3390/biom11091324>
30. Pesce, Giulia, Fanny Gondelaud, Dmitry Ptchelkine, Clara Bignon, Pascal Fourquet, and Sophie Longhi. “Dissecting Henipavirus W Proteins Conformational and Fibrillation Properties: Contribution of Their N- and C-terminal Constituent Domains.” *The FEBS Journal* 292, no. 3 (2025): 556–581. <https://doi.org/10.1111/febs.17239>
31. Audsley, M. D., G. A. Marsh, K. G. Lieu, M. Tachedjian, D. A. Joubert, L. F. Wang, D. A. Jans, and G. W. Moseley. “The Immune Evasion Function of J and Beilong Virus V Proteins Is Distinct from That of Other Paramyxoviruses, Consistent with Their Inclusion in the Proposed Genus Jeilongvirus.” *The Journal of General Virology* 97, no. 3 (2016): 581–592. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000388>
32. Morisaki, Y., Ohshima, M., Suzuki, H., and Misawa, H. “LAG-3 Expression in Microglia Regulated by IFN- γ /STAT1 Pathway and Metalloproteases.” *Frontiers in Cellular Neuroscience* 17 (2023): 1308972. <https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1308972>
33. Meier, Kristina, Judith Olejnik, Adam J. Hume, and Elke Mühlberger. “A Comparative Assessment of the Pathogenic Potential of Newly Discovered Henipaviruses.” *Pathogens* 13, no. 7 (2024): 587. <https://doi.org/10.3390/pathogens13070587>
34. Avia, M., J. M. Rojas, L. Miorin, E. Pascual, P. A. Van Rijn, V. Martín, A. García-Sastre, and N. Sevilla. “Virus-Induced Autophagic Degradation of STAT2 as a Mechanism for Interferon Signaling Blockade.” *EMBO Reports* 20, no. 11 (2019): e48766. <https://doi.org/10.15252/embr.201948766>
35. “Interferon.” *Wikipedia: The Free Encyclopedia*. Last modified June 26, 2025. https://en.wikipedia.org/wiki/Interferon?utm_source=chatgpt.com
36. Satterfield, Benjamin A., Victoria Borisevich, Stephen L. Foster, et al. “Antagonism of STAT1 by Nipah Virus P Gene Products Modulates Disease Course but Not Lethal Outcome in the Ferret Model.” *Scientific Reports* 9 (2019): 16710. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53037-0>
37. Satterfield, Benjamin, Robert Cross, Kevin Fenton, et al. “The Immunomodulating V and W Proteins of Nipah Virus Determine Disease Course.” *Nature Communications* 6 (2015): 7483. <https://doi.org/10.1038/ncomms8483>
38. Chen, Meng, Marcel Tachedjian, Glenn A. Marsh, Jie Cui, and Lin-Fa Wang. “Distinct Cell Transcriptomic Landscapes Upon Henipavirus Infections.” *Frontiers in Microbiology* 11 (2020): 986. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00986>
39. Ocamonde, B., U. Hasan, C. Mathieu, and H. Dutarte. “Viral-Induced Neuroinflammation: Different Mechanisms Converging to Similar Exacerbated Glial Responses.” *Frontiers in Neuroscience* 17 (2023): 1108212. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1108212>
40. Dhagat, Priya, and Rodney Rohde. “What You Need to Know About Nipah Virus.” *American Society for Microbiology*, April 20, 2023. <https://asm.org/Articles/2023/April/What-You-Need-to-Know-About-Nipah-Virus>
41. Rockx, Barry. “Recent Developments in Experimental Animal Models of Henipavirus Infection.” *Pathogens and Disease* 71, no. 2 (July 1, 2014): 199–206. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12149>
42. Ruedas-Torres, I., S. Findlay-Wilson, E. Kennedy, S. Dowall, and F. J. Salguero. “Pathology and Host-Pathogen Interactions in a Golden Syrian Hamster Model of Nipah Virus Infection.” *Frontiers in Veterinary Science* 12 (2025): 1518358. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1518358>
43. Liu, Jun, Jens H. Kuhn, Xiankun Zeng, et al. “Nipah Virus Persists in the Brains of Nonhuman Primate Survivors.” *JCI Insight* 4, no. 14 (July 25, 2019): e129629. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.129629>
44. Geiselhardt, Franziska, Martin Peters, Sven Kleinschmidt, and Andreas Beineke et al. “Neuropathologic and Molecular Aspects of a Canine Distemper Epizootic in Red Foxes in Germany.” *Scientific Reports* 12, no. 1 (August 2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19023-9>
45. Li, J. D., Y. Q. Liu, R. Q. He, Z. G. Huang, W. Y. Huang, H. Huang, Z. H. Liu, and G. Chen. “Understanding and Addressing the Global Impact: A Systematic Review and Cross-Sectional Bibliometric Analysis of Langya Henipavirus and Pre-Existing Severe Henipaviruses.” *Journal of Infection and Public Health* 18, no. 2 (2025): 102631. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2024.102631>

46. Mbu'u, C. M., W. F. Mbacham, P. Gontao, S. L. Sado Kamdem, A. M. N. Nlôga, M. H. Groschup, A. Wade, K. Fischer, and A. Balkema-Buschmann. "Henipaviruses at the Interface Between Bats, Livestock and Human Population in Africa." *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)* 19, no. 7 (2019): 455–465. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2365>
47. Madera, Shyra, Alexander Kistler, H. Christian Ranaivoson, Vincent Ah Yong, Ando Andrianiana, Sitiraka Andry, Vololoniaiaina Raharinosy, Tojo H. Randriambolamanantsoa, Nomena A. F. Ravelomanantsoa, Carolyn M. Tato, Joseph L. DeRisi, Hector C. Aguilar, Vincent Lacoste, Philippe Dussart, Jean-Michel Heraud, and Cara E. Brook. "Discovery and Genomic Characterization of a Novel Henipavirus, Angavokely Virus, from Fruit Bats in Madagascar." *Journal of Virology* 96, no. 18 (2022): e0092122. <https://doi.org/10.1128/jvi.00921-22>
48. Li, Xiaoyan, Yuhang Yang, and Carolina B. López. "Indiscriminate Activities of Different Henipavirus Polymerase Complex Proteins Allow for Efficient Minigenome Replication in Hybrid Systems." *Journal of Virology* 98, no. 6 (2024): e0050324. <https://doi.org/10.1128/jvi.00503-24>
49. Haas, G. D., S. Kowdle, K. S. Schmitz, K. D. Azarm, K. N. Johnson, W. R. Klain, A. N. Freiberg, R. M. Cox, R. K. Plemper, and B. Lee. "Tetracistronic Minigenomes Elucidate a Functional Promoter for Ghana Virus and Unveils Cedar Virus Replicase Promiscuity for All Henipaviruses." *Journal of Virology* 98, no. 10 (2024): e0080624. <https://doi.org/10.1128/jvi.00806-24>
50. Pigeaud, Declan D., Thomas W. Geisbert, and Courtney Woolsey. "Animal Models for Henipavirus Research." *Viruses* 15, no. 10 (2023): 1980. <https://doi.org/10.3390/v15101980>
51. Badole, Sachin L., Pragma D. Yadav, Dilip R. Patil, and Devendra T. Mourya. "Animal Models for Some Important RNA Viruses of Public Health Concern in SEARO Countries: Viral Hemorrhagic Fever." *Journal of Vector Borne Diseases* 52, no. 1 (January–March 2015): 1–10.

References

1. Adesola R.O., Miranda A.V., Tran Y.S.J., et al. (2023) Langya virus outbreak: current challenges and lesson learned from previous Henipavirus outbreaks in China, Australia, and Southeast Asia. *Bull. Natl. Res. Cent.*, vol. 47, p. 87. <https://doi.org/10.1186/s42269-023-01064-3>
2. Akash S., Rahman M.M., Islam M.R., Sharma R. (2023) Emerging global concern of Langya Henipavirus: pathogenicity, virulence, genomic features, and future perspectives. *J. Med. Virol.*, vol. 95, no. 1, e28127. <https://doi.org/10.1002/jmv.28127>
3. Amin R., Darwin R., Chopra H., Emran T.B. (2023) Langya virus: slope of the iceberg for unexplored pathogens. *Int. J. Surg.*, vol. 109, no. 2, pp. 163–164. <https://doi.org/10.1097/JS9.0000000000000151>
4. Audsley M.D., Marsh G.A., Lieu K.G., Tachedjian M., Joubert D.A., Wang L.F., Jans D.A., Moseley G.W. (2016) The immune evasion function of J and Beilong virus V proteins is distinct from that of other paramyxoviruses, consistent with their inclusion in the proposed genus Jeilongvirus. *J. Gen. Virol.*, vol. 97, no. 3, pp. 581–592. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000388>
5. Avia M., Rojas J.M., Miorin L., Pascual E., Van Rijn P.A., Martín V., García-Sastre A., Sevilla N. (2019) Virus-induced autophagic degradation of STAT2 as a mechanism for interferon signaling blockade. *EMBO Rep.*, vol. 20, no. 11, e48766. <https://doi.org/10.15252/embr.201948766>
6. Badole S.L., Yadav P.D., Patil D.R., Mourya D.T. (2015) Animal models for some important RNA viruses of public health concern in SEARO countries: viral hemorrhagic fever. *J. Vector Borne Dis.*, vol. 52, no. 1, pp. 1–10.
7. Byrne P.O., Blade E.G., Fisher B.E., Ambrozak D.R., Ramamohan A.R., Graham B.S., Loomis R.J., McLellan J.S. (2024) Prefusion stabilization of the Hendra and Langya virus F proteins. *J. Virol.*, vol. 98, no. 2, e01372-23. <https://doi.org/10.1128/jvi.01372-23>
8. Caruso S., Edwards S.J. (2023) Recently emerged novel Henipa-like viruses: shining a spotlight on the shrew. *Viruses*, vol. 15, no. 12, 2407. <https://doi.org/10.3390/v15122407>
9. Chavda V.P., Apostolopoulos V., Sah R. (2023) Langya Henipavirus outbreak. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.*, vol. 21, no. 10, pp. 1021–1024. <https://doi.org/10.1080/14787210.2023.2260561>
10. Chen M., Tachedjian M., Marsh G.A., Cui J., Wang L.F. (2020) Distinct cell transcriptomic landscapes upon Henipavirus infections. *Front. Microbiol.*, vol. 11, 986. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00986>
11. Choudhary O.P., Priyanka, Fahrni M.L., Metwally A.A., Saied A.A. (2022) Spillover zoonotic 'Langya virus': is it a matter of concern? *Vet. Q.*, vol. 42, no. 1, pp. 172–174. <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2117874>
12. Choudhary O.P., Priyanka, Salah M.A., Chopra H. (2023) One Health and bat-borne Henipaviruses. *New Microbes New Infect.*, vol. 56, 101195. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2023.101195>
13. Dhagat P., Rohde R. (2023) What you need to know about Nipah virus. *Am. Soc. Microbiol.* Available at: <https://asm.org/Articles/2023/April/What-You-Need-to-Know-About-Nipah-Virus>
14. Geiselhardt F., Peters M., Kleinschmidt S., Beineke A., et al. (2022) Neuropathologic and molecular aspects of a canine distemper epizootic in red foxes in Germany. *Sci. Rep.*, vol. 12, no. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19023-9>
15. Guo Y., Wu S., Li W., Yang H., Shi T., Ju B., Zhang Z., Yan R. (2024) The Cryo-EM structure of homotetrameric attachment glycoprotein from Langya Henipavirus. *Nat. Commun.*, vol. 15, no. 1, 812. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45202-5>
16. Haas G.D., Kowdle S., Schmitz K.S., Azarm K.D., Johnson K.N., Klain W.R., Freiberg A.N., Cox R.M., Plemper R.K., Lee B. (2024) Tetracistronic minigenomes elucidate a functional promoter for Ghana virus and unveils Cedar virus replicase promiscuity for all Henipaviruses. *J. Virol.*, vol. 98, no. 10, e00806-24. <https://doi.org/10.1128/jvi.00806-24>
17. Isaacs A., Low Y.S., Macauslane K.L., Seitanidou J., Pegg C.L., Cheung S.T.M., Liang B., Scott C.A.P., Landsberg M.J., Schulz B.L., Chappell K.J., Modhiran N., Watterson D. (2023) Structure and antigenicity of divergent Henipavirus fusion glycoproteins. *Nat. Commun.*, vol. 14, no. 1, 3577. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39278-8>

18. Kaza B., Aguilar H.C. (2023) Pathogenicity and virulence of Henipaviruses. *Virulence*, vol. 14, no. 1, 2273684. <https://doi.org/10.1080/21505594.2023.2273684>
19. Keiffer T.R., Ciancanelli M.J., Edwards M.R., Basler C.F. (2020) Interactions of the Nipah virus P, V, and W proteins across the STAT family of transcription factors. *mSphere*, vol. 5, no. 6, e00449-20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00449-20>
20. Lawrence P., Escudero-Pérez B. (2022) Henipavirus immune evasion and pathogenesis mechanisms: lessons learnt from natural infection and animal models. *Viruses*, vol. 14, no. 5, 936. <https://doi.org/10.3390/v14050936>
21. Li J.D., Liu Y.Q., He R.Q., Huang Z.G., Huang W.Y., Huang H., Liu Z.H., Chen G. (2025) Understanding and addressing the global impact: a systematic review and cross-sectional bibliometric analysis of Langya Henipavirus and pre-existing severe Henipaviruses. *J. Infect. Public Health*, vol. 18, no. 2, 102631. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2024.102631>
22. Li X., Yang Y., López C.B. (2024) Indiscriminate activities of different Henipavirus polymerase complex proteins allow for efficient minigenome replication in hybrid systems. *J. Virol.*, vol. 98, no. 6, e00503-24. <https://doi.org/10.1128/jvi.00503-24>
23. Liu J., Kuhn J.H., Zeng X., et al. (2019) Nipah virus persists in the brains of nonhuman primate survivors. *JCI Insight*, vol. 4, no. 14, e129629. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.129629>
24. Madera S., Kistler A., Ranaivoson H.C., Ahyong V., Andrianaina A., Andry S., Raharinosy V., Randriambolamanantsoa T.H., Ravelomanantsoa N.A.F., Tato C.M., DeRisi J.L., Aguilar H.C., Lacoste V., Dussart P., Heraud J.M., Brook C.E. (2022) Discovery and genomic characterization of a novel Henipavirus, Angavokely virus, from fruit bats in Madagascar. *J. Virol.*, vol. 96, no. 18, e00921-22. <https://doi.org/10.1128/jvi.00921-22>
25. May A.J., Pothula K.R., Janowska K., Acharya P. (2023) Structures of Langya virus fusion protein ectodomain in pre- and postfusion conformation. *J. Virol.*, vol. 97, e00433-23. <https://doi.org/10.1128/jvi.00433-23>
26. Mbu'u C.M., Mbacham W.F., Gontao P., Sado Kamdem S.L., Nlôga A.M.N., Groschup M.H., Wade A., Fischer K., Balke-ma-Buschmann A. (2019) Henipaviruses at the interface between bats, livestock and human population in Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, vol. 19, no. 7, pp. 455–465. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2365>
27. Meier K., Olejnik J., Hume A.J., Mühlberger E. (2024) A comparative assessment of the pathogenic potential of newly discovered Henipaviruses. *Pathogens*, vol. 13, no. 7, 587. <https://doi.org/10.3390/pathogens13070587>
28. Mishra S.K., Rai G.P., Kumar N., et al. (2025) An integrated bioinformatics and immunoinformatics approach to design a multi-epitope-based vaccine against Langya Henipavirus. *Future J. Pharm. Sci.*, vol. 11, 62. <https://doi.org/10.1186/s43094-025-00815-5>
29. Morisaki Y., Ohshima M., Suzuki H., Misawa H. (2023) LAG-3 expression in microglia regulated by IFN- γ /STAT1 pathway and metalloproteases. *Front. Cell. Neurosci.*, vol. 17, 1308972. <https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1308972>
30. Nayak S. (2024) Unveiling emerging threats: Langya and Mojiang—a dance with unfamiliar foes. *Infect. Dis. Immun.*, pp. 10–1097. <https://doi.org/10.1097/ID9.0000000000000155>
31. Ocamonde B., Hasan U., Mathieu C., Dutartre H. (2023) Viral-induced neuroinflammation: different mechanisms converging to similar exacerbated glial responses. *Front. Neurosci.*, vol. 17, 1108212. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1108212>
32. Pesce G., Gondelaud F., Ptchelkine D., Bignon C., Fourquet P., Longhi S. (2025) Dissecting Henipavirus W proteins conformational and fibrillation properties: contribution of their N- and C-terminal constituent domains. *FEBS J.*, vol. 292, no. 3, pp. 556–581. <https://doi.org/10.1111/febs.17239>
33. Pigeaud D.D., Geisbert T.W., Woolsey C. (2023) Animal models for Henipavirus research. *Viruses*, vol. 15, no. 10, 1980. <https://doi.org/10.3390/v15101980>
34. Piracha Z.Z., Saeed U., Ahmed R.A., Khan F.N., Nasir M.I. (2023) Global emergence of Langya virus: a serious public health concern. *J. Glob. Health*, vol. 13, 03034. <https://doi.org/10.7189/jogh-13-03034>
35. Quarleri J., Galvan V., Delpino M.V. (2022) Henipaviruses: an expanding global public health concern? *GeroScience*, vol. 44, pp. 2447–2459. <https://doi.org/10.1007/s11357-022-00670-9>
36. Rockx B. (2014) Recent developments in experimental animal models of Henipavirus infection. *Pathog. Dis.*, vol. 71, no. 2, pp. 199–206. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12149>
37. Ruedas-Torres I., Findlay-Wilson S., Kennedy E., Dowall S., Salguero F.J. (2025) Pathology and host-pathogen interactions in a Golden Syrian hamster model of Nipah virus infection. *Front. Vet. Sci.*, vol. 12, 1518358. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1518358>
38. Sah R., Mohanty A., Chakraborty S., Dhama K. (2022) Langya virus: a newly identified zoonotic Henipavirus. *J. Med. Virol.*, vol. 94, no. 12, pp. 5621–5622. <https://doi.org/10.1002/jmv.28095>
39. Salladini E., Gondelaud F., Nilsson J.F., Pesce G., Bignon C., Murali M.G., Fabre R., Pierattelli R., Kajava A.V., Horvat B., Gerlier D., Mathieu C., Longhi S. (2021) Identification of a region in the common amino-terminal domain of Hendra virus P, V, and W proteins responsible for phase transition and amyloid formation. *Biomolecules*, vol. 11, no. 9, 1324. <https://doi.org/10.3390/biom11091324>
40. Satterfield B., Cross R., Fenton K., et al. (2015) The immunomodulating V and W proteins of Nipah virus determine disease course. *Nat. Commun.*, vol. 6, 7483. <https://doi.org/10.1038/ncomms8483>
41. Satterfield B.A., Borisevich V., Foster S.L., et al. (2019) Antagonism of STAT1 by Nipah virus P gene products modulates disease course but not lethal outcome in the ferret model. *Sci. Rep.*, vol. 9, 16710. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53037-0>
42. Spengler J.R., Lo M.K., Welch S.R., Spiropoulou C.F. (2025) Henipaviruses: epidemiology, ecology, disease, and the development of vaccines and therapeutics. *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 38, no. 1, e0012823. <https://doi.org/10.1128/cmr.00128-23>
43. Sugai A., Sato H., Takayama I., Yoneda M., Kai C. (2017) Nipah and Hendra virus nucleoproteins inhibit nuclear accumulation of STAT1 and STAT2 by interfering with their complex formation. *J. Virol.*, vol. 91, no. 21, e01136-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01136-17>

44. Wang C., Li M., Wang Y., Ding Q., Fan S., Lan J. (2024) Structural insights into the Langya virus attachment glycoprotein. *Structure*, vol. 32, no. 8, pp. 1090–1098.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2024.05.003>
45. Wang Z., McCallum M., Yan L., Veisler D. (2024) Structure and design of Langya virus glycoprotein antigens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 121, no. 16, e2314990121. <https://doi.org/10.1073/pnas.2314990121>
46. Wikipedia contributors. (2025) 2022 Langya virus outbreak in China. Last modified May 30, 2025. Available at: https://en.wikipedia.org/wiki/2022_Langya_virus_outbreak_in_China
47. Wikipedia contributors. (2025) Interferon. Last modified June 26, 2025. Available at: <https://en.wikipedia.org/wiki/Interferon>
48. Wikipedia contributors. (2025) Paramyxoviridae. Last modified April 16, 2025. Available at: <https://en.wikipedia.org/wiki/Paramyxoviridae>
49. Wikipedia. (2025) Henipavirus. Last modified June 7, 2025. Available at: <https://en.wikipedia.org/wiki/Henipavirus>
50. Yang G., Wang D., Liu B. (2024) Structure of the Nipah virus polymerase phosphoprotein complex. *Nat. Commun.*, vol. 15, 8673. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-52701-y>
51. Zhang X.A., Li H., Jiang F.C., Zhu F., Zhang Y.F., Chen J.J., Tan C.W., Anderson D.E., Fan H., Dong L.Y., Li C., Zhang P.H., Li Y., Ding H., Fang L.Q., Wang L.F., Liu W. (2022) A zoonotic Henipavirus in febrile patients in China. *N. Engl. J. Med.*, vol. 387, no. 5, pp. 470–472. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2202705>

Авторлар туралы мәлімет:

Абдул Бари Хеджран (корреспондент-автор) – вирусология магистрі, Гильменд университетінің білім беру факультетінің биология кафедрасының асистенті (Гильменд, Ауғанстан, e-mail: abdulbari.hejran94@gmail.com)

Фаридон Ниязай – Анестезиология кафедрасы, Мирвайс аймақтық ауруханасы және Жалпы медицина кафедрасы, Медицина факультеті, Мирвайс Ника университеті (Қандагар, Ауғанстан, e-mail: faridoonniazay@gmail.com)

Барбара Савицка – Ауыл шаруашылығы ғылымдарының профессоры (Өсімдік өндірісі технологиясы және тауартану), Өсімдік өндірісі технологиясы және тауартану кафедрасы, Өмір туралы ғылымдар университеті (Люблин, Польша, e-mail: barbara.sawicka@gmail.com)

Парвиз Ниязи – ботаника магистрі (өсімдіктерді қорғау және нематология), Қандагар университетінің білім беру факультетінің биология кафедрасының оқу ассистенті (Қандагар, Ауғанстан e-mail: parwiz60@gmail.com)

Information about authors:

Abdul Bari Hejran (corresponding author) – Master of Virology, Teaching Assistant at the department of Biology, Faculty of Education, Helmand University (Helmand, Afghanistan e-mail: abdulbari.hejran94@gmail.com)

Faridon Niazay – Department of Anesthesia, Mirwais Regional Hospital, Kandahar, and Department of General Medicine, Faculty of Medical, Mirwise Neeka University (Kandahar, Afghanistan e-mail: faridoonniazay@gmail.com)

Barbara Sawicka – Professor of Agricultural Sciences (Plant Production Technology and Commodities Science), Department of Plant Production Technology and Commodities Science, University of Life Sciences (Lublin, Poland, e-mail: barbara.sawicka@gmail.com)

Parwiz Niazi – Master of Botany (Plant Protection and nematology), Teaching Assistant at the department of Biology, Faculty of Education, Kandahar University (Kandahar, Afghanistan e-mail: parwiz60@gmail.com)

Received February 15, 2025

Accepted May 20, 2025

МРНТИ: 68.35.31

<https://doi.org/10.26577/bb2025103214>

З.Г. Айташева^{1*}, Б.А. Жумабаева¹, Л.П. Лебедева²,
Ж.Ж. Чунетова¹, Н.А. Алтыбаева¹, С.Б. Даулетбаева¹

¹ Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

² Институт генетики и физиологии, Алматы, Казахстан

*e-mail: zaureaitasheva@gmail.com

РАСШИРЕНИЕ, ЭКОЛОГИЗАЦИЯ ПОСЕВОВ И РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АЛГОРИТМА ДЛЯ ЭСПАРЦЕТА В УСЛОВИЯХ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

В обзорной статье рассматривается одна из ключевых проблем растениеводства Алматинской области, а именно необходимость обеспечения качественного и количественного растительного (кормового) белка. Эспарцет (*Onobrychis* spp.) как перспективный источник кормового белка обладает широким спектром агрономических и экологических преимуществ для дальнейшего применения в сельском хозяйстве и медицине. В статье представлены общая характеристика кормовых бобов, биологические и физиологические особенности эспарцета, а также его роль в повышении биотической устойчивости, питательные свойства эспарцета, дана оценка качества кормов и кормовых добавок на основе эспарцета, его вклад в снижение затрат на азотные удобрения и улучшение плодородия земель. Обзор основан на развёрнутой характеристике *Onobrychis* spp., его способности улучшать здоровье человека и животных благодаря незаменимым аминокислотам, ненасыщенным жирным кислотам, микронутриентам и антипитательным соединениям, в том числе таннинам. Особое внимание уделено потенциалу симбиотических взаимосвязей *Onobrychis* spp. с азотфиксирующими бактериями рода *Rhizobium* и поиску новых уникальных штаммов для эспарцета. Ожидается, что изучение эспарцета в условиях Юго-Востока Республики Казахстан может вылиться в создание новых сортоформ, обогащающих ассортимент кормовых бобов. Подчеркивается, что эспарцет применим как белок-обогащенный корма для КРС. Данная культура будет способствовать оздоровлению населения в качестве низкокалорийного питания для борьбы с ожирением и сердечно-сосудистыми патологиями. В заключении обращается внимание на то, что совершенствование исследований эспарцета может привести к обеспечению сбалансированными продуктами и кормами на основе данной культуры, вызывая качественный скачок в растениеводческом и животноводческом производстве.

Ключевые слова: эспарцет, *Onobrychis* spp., кормовые добавки, продовольственная безопасность.

Z.G. Aitasheva^{1*}, B.A. Zhumabayeva¹, L.P. Lebedeva²,
Zh.Zh. Chunetova¹, N.A. Altybayeva¹, S.B. Dauletbayeva¹

¹Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

²Institute of Genetics and Physiology, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: zaureaitasheva@gmail.com

Expansion, Ecologization of Sainfoin Crops, and Development of a Molecular-Genetic Algorithm for Sainfoin in the Almaty Region

This review article addresses a key issue in crop production in the Almaty region: the need to ensure an adequate supply of quality plant (forage) protein. Sainfoin (*Onobrychis* spp.), as a promising source of forage protein, offers a wide range of agronomic and ecological benefits for future applications in agriculture and medicine. The article provides an overview of forage legumes, details the biological and physiological features of sainfoin, and highlights its role in enhancing biotic resistance. Additionally, it assesses the nutritional properties of sainfoin, evaluates feed and feed additive quality based on sainfoin, and examines its contribution to reducing nitrogen fertilizer costs and improving soil fertility. The review is based on a detailed analysis of *Onobrychis* spp., emphasizing its potential to support human and animal health through essential amino acids, unsaturated fatty acids, micronutrients, and antinutritional compounds, including tannins. Special attention is given to the potential of symbiotic interactions between *Onobrychis* spp. and nitrogen-fixing bacteria of the genus *Rhizobium* and the search for new unique strains suited for sainfoin. Research in Southeastern Kazakhstan is anticipated to yield new sainfoin varieties, enriching the forage legume range. Sainfoin is underscored as a valuable protein-enriched

feed for livestock. This crop is also projected to contribute to public health as a low-calorie food option for combating obesity and cardiovascular diseases. In conclusion, the article emphasizes that advancing sainfoin research could provide balanced food and feed products based on this crop, promoting significant quality improvements in crop and livestock production.

Keywords: sainfoin, *Onobrychis* spp., feed additives, food security.

З.Г. Айташева^{1*}, Б.А. Жумабаева¹, Л.П. Лебедева²,
Ж.Ж. Чунетова¹, Н.А. Алтыбаева¹, С.Б. Даулетбаева¹

¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

²Генетика және физиология институты, Алматы, Қазақстан

*e-mail: zaureaitasheva@gmail.com

Алматы облысы жағдайында эспарцеттің егілетін аумағын кеңейту, экологиялық тазалығын қамтамасыз ету және молекулалық-генетикалық алгоритмін жасау

Шолу мақаласында Алматы облысының өсімдік шаруашылығының негізгі мәселелерінің бірі болып табылатын атап айтқанда, сапалы және құнды өсімдік (жеміс) ақуызымен қамтамасыз ету қажеттілігі қарастырылады. Эспарцет (*Onobrychis* spp.) жем-шөп ақуызының құнды көзі ретінде ауыл шаруашылығы мен медицинада қолдануы үшін агрономиялық және экологиялық артықшылықтардың кең спектріне ие. Мақалада мал азығына арналған бұршақтардың жалпы сипаттамасы, эспарцеттің биологиялық және физиологиялық ерекшеліктері, сондай-ақ оның биологиялық тұрақтылықты артырудағы рөлі көрсетілген. Эспарцеттің қоректік қасиеттері қарастырылып, оның негізіндегі мал азығымен қоспалардың сапасына баға берілген, азот тыңайтқыштарына кететін шығынды азайтудағы және жердің құнарлылығын жақсартудағы үлесі таңдалған. Шолу *Onobrychis* spp. (эспарцет) туралы кеңейтілген сипаттамаға негізделген, оның алмастырмайтын аминқышқылдар, қанықпаған май қышқылдары, микроэлементтер, антикоректік қосылыстар соның ішінде таниндер арқылы адам мен жануарлар денсаулығын жақсартуға қабілеті қарастырылған. Ерекше назар *Onobrychis* spp. мен *Rhizobium* туысына жататын азотфиксациялаушы бактериялар арасындағы симботикалық байланыстардың және эспарцетке арналған жаңа бірегей штаммдарды іздеуге арналған. Эспарцетті Оңтүстік-Шығыс Қазақстан Республикасы жағдайында зерттеу жаңа сорттарды шығарып, жемшөп бұршақтарының ассортиментін байытуға мүмкіндік береді. Эспарцеттің ірі қара мал үшін ақуызға бай жемшөп ретінде қолдануға болатынын атап өтеді. Бұл дақыл семіздік және жүрек-қан тамыр ауруларымен күресу үшін төмен калориялы тағам ретінде халықтың денсаулығын жақсартуға ықпал етеді. Қорытындыда эспарцет зерттеулерін жетілдіру осы дақыл негізінде теңдестірілген өнімдер мен жем-шөппен қамтамасыз етуге алып келуі мүмкін екеніне назар аударылады, бұл өсімдік және мал шаруашылығы өндірісінде сапалы серпіліс тудырады.

Түйін сөздер: эспарцет, *Onobrychis* spp., азықтық қоспа, азық-түлік қауіпсіздігі.

1. Введение

Современное сельскохозяйственное производство в Казахстане сталкивается с рядом актуальных проблем. Одна из них – это дефицит растительного (кормового) белка. Эта нехватка, по разным подсчетам, составляет порядка 18-40% от необходимого количества. Низкое содержание белка в кормах ухудшает их качественные параметры, что ведет к меньшей питательности и возрастанию стоимости кормов. Так, дефицит белка в суточном рационе, составляющий 20-22%, повышает себестоимость животноводческой продукции и перерасход кормов в 1,5-2 раза. Второй существенной проблемой становится устойчиво-неблагоприятное состояние окружающей среды, причем, в мировом масштабе. Так, можно отметить повсеместное истощение почв

и загрязнение сельскохозяйственной продукции различными веществами в результате антропогенной деятельности. Решения первой проблемы в стране можно достичь путем расширения посевных площадей, отведенных под зернобобовые культуры. Интерес к кормовым бобам, как культуре, способствующей решению этой проблемы, повсеместно возрос и способствует созданию стабильной кормовой базы животноводства. Помимо этого, увеличение площадей, отведенных под посевы кормовых бобов в Казахстане, позволяет успешно решать и вторую климатическую задачу путем восстановления почвенного формирования в агроэкосистемах [1]. Следует отметить, что эспарцет виколистный (также эспарцет обыкновенный и эспарцет посевной) (*Onobrychis viciifolia* Scrp.) изучен недостаточно с учётом пробелов в исследовании

азотфиксации и симбиоза эспарцета с клубеньковыми бактериями. В связи этим, цель данной статьи состоит в разработке теоретических основ комплексного использования эспарцета для пищевых, кормовых, оздоровительных и почво-восстановительных потребностей казахстанского общества посредством углубления знаний об азотфиксирующем потенциале данной культуры [1].

2. Общая характеристика кормовых бобовых культур

Овощные бобовые культуры издревле служат источником полноценного растительного белка (в зависимости от вида, концентрация белка варьирует от 15 до 52%; при этом до 80% приходится на долю альбуминов и глобулинов) и являются одним из основных компонентов рациона многих народов мира [2-4]. Так, ранее удалось установить, что каждый вид бобового семейства предпочитает определенный вид симбиотического бактериального партнера из семейства *Rhizobiaceae*: *Rhizobium leguminosarum* для гороха, фасоли, вики и чечевицы; *Rhizobium phaseoli* для фасоли обыкновенной; *Rhizobium ciceri* для нута; *Sinorhizobium meliloti* для люцерны, желтого мелилота, пажитника и ряда лекарственных растений; *Rhizobium trifolii* для клевера; *Bradyrhizobium lupini* для люпина; *Mesorhizobium loti* для суллы и трилистника; *Rhizobium vigna* для коровьего гороха, арахиса и других представителей рода *Vigna*; *Bradyrhizobium japonicum* для сои и *Rhizobium simplex* для эспарцета. Отсюда ясно, что распространенность бобовых связана с их уникальной способностью вступать в симбиоз с бактериями рода *Rhizobium* и образовывать корневые клубеньки, в которых происходит расщепление и дальнейшая фиксация атмосферного азота под действием мультиферментного комплекса нитрогеназы (КФ 1.18.6.1) [5].

Аккумулируемый в бобовых растениях азот, как один из четырех органогенных химических элементов, жизненно необходим для осуществления многих ключевых физиологических и биохимических процессов растений на всех этапах их роста и развития, включая дыхание, фотосинтез, сигнальную трансдукцию, деление клеток, биосинтез макромолекул, развитие тканей и органов.

Вместе с тем бобовые синтезируют комплекс вторичных метаболитов (алкалоиды, амины, гликозиды, флавоноиды, кумарины, танины,

тритерпеноидные сапонины, лектиновые пептиды), защищающих их от окислительного стресса, естественных врагов и растений-конкурентов [6].

На сегодняшний день описано около 800 видов бобовых, однако их общее количество составляет 23 000 видов. Семейство *Phabaceae* широко распространено и занимает по численности, насчитывая около 765 родов, видов третье место среди наземных растений после семейств *Orchidaceae* и *Asteraceae*. По наиболее поздней классификации (по данным сайта WFOPL на декабрь 2023 г.) семейство бобовых включает 796 родов и 24 480 ботанических вида. В сельском хозяйстве широко используются овощные бобовые культуры, среди которых следует упомянуть арахис *Arachis hypogaea* L., (Южная Америка), каян *Cajanus cajan* (Индия), нут *Cicer arietinum* (Юго-Восточная Азия, Эфиопия, Индия), соя (Восточная Азия), чечевица *Lens culinaris* (Юго-Восточная Азия, страны Средиземноморья), фасоль обыкновенная *Phaseolus vulgaris* (Мексика, Гватемала), горох посевной *Pisum sativum* L. (Азия, страны Средиземноморья), бобы садовые *Vicia faba* (Азия, страны Средиземноморья), вигна угловатая *Vigna angularis* (Япония), вигна лучистая *Vigna radiata* (Япония), вигна китайская *Vigna unguiculata* (Индия) и кормовые бобовые.

Кормовые бобовые культуры традиционно используются в качестве полноценных кормов или кормовых добавок в рацион сельскохозяйственных животных. К повсеместно культивируемым кормовым сортам относятся люцерна посевная *Medicago sativa* L., клевер луговой *Trifolium pratense* L., клевер ползучий *Trifolium repens* L., лядвенец рогатый *Lotus corniculatus* L., люцерна хмелевидная *Medicago lupulina* L., астрагал нутовый *Astragalus cicer* L., горошек посевной *Vicia sativa* L., горошек мохнатый *Vicia villosa* Roth., люцерна жестковатая *Medicago rigidula* L. (All.) и эспарцет песчаный *Onobrychis arenaria* (Kit.) DC. Данные виды кормовых бобовых характеризуются высокой урожайностью, неприхотливостью, питательностью и поедаемостью и широко культивируется во многих странах мира. Однако посевные площади, занимаемые кормовыми бобами в Республике Казахстан остаются незначительными. Поэтому сбор и расширение сортового материала кормовых зернобобовых культур, изучение их морфогенетических и адаптивных свойств; оценку продуктивности собранного материала и разработку стратегии получения поликроссов можно считать одними из приоритетных задач

для решения проблем продовольственной безопасности, возрождения истощённых и бросовых земель, получения нутрицевтиков и фармакологически активных веществ, пригодных как для животных, так и для человека.

В Казахстане созданы базовые сорта кормовых культур и внедряются новые сорта, богатые белком, с высокой энергетической ценностью и пластичностью в ответ на современные климатические вызовы. Одной из таких важных кормовых культур является эспарцет, так как его культивирование в засушливых условиях обеспечивает получение высококачественных кормов [7].

Исходя из многолетних летних прогнозов погоды на фоне высокой влагоудерживающей способности из-за западных воздушных морских масс, центральные, юго-восточные и восточные районы Казахстана сохраняют значительную влажность. Эти условия позволяют эффективно разводить кормовые бобы в нашей стране несмотря на то, что восьмилетний период 2015–2022 гг. стал самым теплым, в то время как пятилетний период 2023–2027 гг. может оказаться самым жарким в истории мировых синоптических наблюдений [8].

Зарубежные исследователи отмечают, что использование исключительно зеленой массы эспарцета для производства кормов значительно снижает возможности применения других частей растения, в т. ч. семян и цветков. Считается, что эспарцет может выращиваться в качестве медоноса и давать до 400 кг меда на 1 га. Альтернативным направлением использования эспарцета можно добиться дробления семян до самостоятельного мучного продукта или в качестве добавки в пищу и корма животных и человека [9].

2.1. Общие характеристики эспарцета

Эспарцет принадлежит к семейству бобовых, подсемейству мотыльковых. Несмотря на то, что в природе имеется много видов эспарцета, представляющих большой интерес для практического использования, в культуру введены три основных вида: эспарцет виколистный или обыкновенный, эспарцет закавказский или переднеазиатский, эспарцет песчаный. Эти виды принадлежат к роду *Onobrychis*, имеют много общих основных ботанических признаков и свойств. Можно остановиться на ботанической характеристике эспарцета песчаного, который получил в виде всех районированных сортов широкое распространение в Восточном Казах-

стане. Дикорастущие формы песчаного эспарцета встречаются во многих странах Европы и Азии. В естественных условиях наблюдается большое разнообразие форм песчаного эспарцета. Культурная форма была получена в результате долголетнего возделывания и свободного межвидового скрещивания дикого песчаного эспарцета с культурными обыкновенным и закавказским эспарцетами. Окультуривание дикого песчаного эспарцета привело к улучшению ряда морфогенетических характеристик, в том числе к более интенсивному росту, мощному развитию стеблей, листьев, соцветий и семян, скороспелости и увеличению продуктивности. Высокие и устойчивые урожаи сена сочетаются с отменной зимостойкостью и засухоустойчивостью. Отличная зимостойкость песчаного эспарцета объясняется способностью растений отращивать от корневой шейки, в то время как высокая засухоустойчивость обусловлена более мощным развитием корневой системы [10].

В Казахстане в культуре травосеяния более распространён эспарцет песчаный, который по урожайности значительно превосходит эспарцет обыкновенный, а по зимостойкости – эспарцеты обыкновенный и закавказский [11]. Как уже отмечалось выше, эспарцет стал одной из системообразующих многолетних бобовых трав в условиях Восточного Казахстана [12].

Эспарцет используется для полевого травосеяния и залужения склонов и песчаных земель. Практикуется также однолетнее использование эспарцета в качестве перезанимающей культуры – предшественника озимых злаков. Известно, что эспарцет менее требователен к почве, чем люцерна, а по устойчивости и урожаю сена превосходит люцерну на песчаных землях. [13,14]. Интенсивнее других бобовых культур эспарцет осваивает смытые склоны и места оползней с близким залеганием мела и известняков. Растения эспарцета представляют собой ксерофиты с мощной стержневой корневой системой. Различают одноукосные и двухукосные формы эспарцета. Повторный укос обеспечивает ранжирование качеств растительного сырья и увеличение продуктивности корма.

Несмотря на то, что механизмы устойчивости эспарцета к стрессу, обусловленному постоянно меняющимися условиями среды, еще неясны, транскриптомный анализ образцов, собранных на Цинхай-Тибетском нагорье, показал повышенную экспрессию 5387 генов и пониженную – для 2825 генов. Активация части из этих генов приводит к изменению синтеза абсцизовой кис-

лоты, фитогормонов и полифенолов, которые играют жизненно важную роль в адаптации *O. viciifolia* к экстремальным условиям среды [15]. Семеноводством эспарцета занимаются в наиболее развитых странах, среди которых США, Австралия, Испания, Канада, Италия и др. При этом доля экспорта семян эспарцета в стоимости у этих стран, по данным Центра закупок Tridge 2021 г., составляет 50.62%, 14.07%, 12.42%, 6.35% и 3.95% соответственно. Семенное дело в настоящее время находится на более высоком технологическом уровне по сравнению с таковым для люцерны и может быть легко организовано в хозяйствах с различной специализацией для внутреннего потребления и организации экспортной логистики в перспективе.

2.2. Питательные свойства эспарцета

Невзирая на то, что различные растения рода эспарцета *Onobrychis spp.* использовались в качестве корма для жвачных животных в течение столетий, влияние их компонентов на многие биохимические показатели начало изучаться только в последнее время [16].

Согласно ряду данных, содержание белка в сырой массе эспарцета составляет примерно 44,0 г/100 г, то есть находится в пределах 34,95–40,97% от общей массы и сравнима с соей (39,9 г/100 г) и люпином ($37,57 \pm 4,39$ г/100 г). При этом в голозерных образцах (лишенных оболочек) концентрация белка по разным данным варьирует от 30,3 до 38,8%. [17,18].

Одним из показателей качества растительного белка является содержание аминокислот, входящих в состав коллагена (глицина, пролина и лизина). Коллаген как наиболее распространенный белок в организме человека и животных (до 30% от общего количества) обеспечивает прочность и гибкость мышц, сухожилий, связок и хрящей. Во вторичную структуру молекулы коллагена входят три полипептидные цепи в виде тройной спирали. Каждая цепь содержит повторяющиеся триады аминокислот -Гли-Про-Х- (глицин-пролин-Х), где первый аминокислотный остаток представлен глицином, а второй- пролином. В результате посттрансляционных модификаций ферменты проколлаген-гидроксилазы расщепляют пролин и лизин случайным образом, формируя таким образом межмолекулярные водородные связи, характерные для зрелой молекулы коллагена [19].

Относительно недавние исследования показали, что в образцах фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) лизин является до-

минирующей аминокислотой (от 1 до 2 г/100 г сырой массы). [20,21] Проведенный ранее аминокислотный анализ семян эспарцета продемонстрировал схожее соотношение незаменимых аминокислот: лизин (5,9% или 1,59 г/100 г), (изолейцин+лейцин (11% от общего содержания белка), метионин, 4,04%, фенилаланин+тирозин (7,35%), треонин (4,31%), валин (4,75%) [22,23].

Следует подчеркнуть, что в среднем по сортообразцам максимальное содержание лизина приходилось на третий укос второго года возделывания эспарцета, а минимальное- на второй укос того же года. Содержание лизина стабильно возрастало у всех вариантов после предпосевной обработки семян бишофитом [24]. Показано, что клетчатка эспарцета в основном состоит из нерастворимых волокон (37,9 г/100 г сырой массы), что значительно опережает аналогичные показатели у остальных бобовых (от 3 до 30% в зависимости от вида) [25]. Обнаружено, что семена эспарцета содержат в среднем 8,2 г/100 г крахмала и 5,7 г/100 г дисахаридов (сахароза 5,1 г, фруктоза 0,5 г, глюкоза 0,1 г). Данные значения дисахаридов сопоставимы с большинством таких же показателей у бобовых, в то время как содержание крахмала у эспарцета значительно ниже, чем у других видов бобов (чечевица 37–59 г/100 г, горох 30–49 г/100 г, фасоль обыкновенная 18–45 г/100 г, нут 30–56 г/100 г) [26–28].

Несмотря на то, что низкое содержание крахмала делает эспарцет непригодным для включения его в состав экструдированных продуктов (сухие завтраки, снеки, пасты, корм для животных, получаемые при экструзии, т.е. высоких температурах и давлении), применение эспарцета может способствовать снижению гликемического индекса, риска ожирения и сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний [25].

Эспарцет также включает ионы магния, кальция, магния, железа, меди, цинка и фосфора. Фосфор, входящий в структуры нуклеиновых кислот, коферментов и фосфолипидов, составляет от 0,2 до 0,8% сухой биомассы растений [29]. Содержание зольных элементов эспарцета варьирует от 2,75 г до 4,63 г/100 г сырой массы, что несколько ниже, чем у фасоли обыкновенной (5,32 г/100 г) и люпина (3,97 г/100 г), в то время, как содержание железа (64,14 мг/л) сходно с таковым у люпина (65,13 мг/л), ка-яна (63,83 мг/л), лобии (66,86 мг/л), вигны угловатой (51,56 мг/л) и вигны зонтичной (67,65 мг/л). Одновременно эспарцет по данному показателю почти в три раза уступает со-

евым бобам (173,17 мг/1 л), но по содержанию цинка опережает лобия (61,4 мг/1 л и 63,38 мг/1 л, соответственно) [30].

Анализ состава жирных кислот эспарцета указал на то, что семена данной культуры содержат незаменимые линоленовую (41,31%), олеиновую (24,95% от общего количества), линолевую (18,77%), пальмитиновую (7,43%) кислоты. В то же время у соевых бобов и семян подсолнечника содержание олеиновой кислоты составляет 17,7–26,1% и 14,0–39,4%, линолевой 49,8–57,1% и 50,0–75,0%, линоленовой 5,5–9,5% и 0,2%, соответственно. Отмечено, что содержание жирных кислот эспарцета сопоставимо с таковым в арахисе, нуте и люпине, и значительно превосходит средние значения для других видов бобовых [31, 32].

Было выявлено, что содержание каротина в сене эспарцета в 2,5 раза выше (95,8 мг/кг, при нормативных требованиях 25,0 мг/кг корма), чем в сене люцерны, и в 2 раза больше, чем в сене клевера [33].

Интерес представляет и присутствие антипитательных соединений в эспарцете, преимущественно конденсированных танинов. Танины относятся к полифенолам и обладают противовоспалительными, антибактериальными и антиоксидантными свойствами, что значительно повышает срок годности кормов и кормовых добавок, снижает окислительный стресс и повышает качество основного продукта [34].

Конденсированные танины, полученные из эспарцета, обладают высокой способностью ингибировать протеолиз, понижать активность молочнокислых бактерий и плесневых грибов, и уменьшать содержание аммонийного азота (N) во время силосования сена [35].

Инактивация танинов с помощью полиэтиленгликоля (ПЭГ) приводила к существенной потере сухого вещества с 8,32% до 14,15% по истечении 60 дней после начала силосования, а также увеличивало концентрацию молочной и уксусной кислот в полтора и два раза, соответственно. Кроме того, количество молочнокислых бактерий *Pediococcus*, патогенных грибов *Gibellulopsis*, *Vishniacozyma*, *Aspergillus* и *Alternaria* возросло в 2–20 раз [36].

Результаты вышеприведенных исследований компонентного состава и свойств семян и зеленой массы эспарцета, указывают на необходимость использования данной культуры в качестве потенциального источника растительного белка, микроэлементов, жиров, грубых рас-

тительных волокон и танинов, хотя экстракция последних всё еще сопряжена с определенными техническими трудностями.

2.3. Питательные качества кормов и кормовых добавок на основе эспарцета

Качество кормов и кормовых добавок в рационе сельскохозяйственных животных во многом определяет продуктивность животноводства. Оценка качества включает в себя исследование таких параметров, как питательность, т. е. содержание макро- и микронутриентов, клетчатки, воды и других компонентов, энергетическая ценность, вкусовые качества, отсутствие примесей и загрязняющих веществ, поедаемость и кормовой коэффициент.

Основными источниками белка в рационе свиней, выращиваемых на территории Европы, являются бобы садовые *Vicia faba* L. и горох посевной *Pisum sativum* L., а также дорогостоящие добавки на основе соевого жмыха и сухого обезжиренного молока. Однако ввиду дефицита соевого жмыха и нестабильной урожайности гороха правительство ЕС рассматривает альтернативные источники белка, в т.ч. и семена эспарцета. Так, в ходе одного из экспериментов было выяснено, что частичная замена традиционных компонентов органических кормов на эспарцет в диете поросят-отъемышей не влияет на потребление корма, прирост живой массы и кормовой коэффициент. Было обнаружено, что семена эспарцета содержат 279 г/кг сырого белка относительно бобов (252 г/кг) и гороха (276 г/кг) [36–38].

Следующим не менее важным вопросом является: повышается ли кормовая ценность кормов на основе бобовых, не содержащих танинов, в результате введения в рацион эспарцета? Эксперимент проводился на овцах, питавшихся как исключительно свежей люцерной или сырой массой эспарцета, так и комбинированными кормами с различным соотношением этих компонентов. У овец, потреблявших свежий эспарцет, проводили измерения поедаемости, усвояемости органических веществ, потери сухого вещества и задержки азота в организме. Было установлено, что смеси с высоким содержанием эспарцета уменьшали концентрацию аммиачного азота в рубце, что отрицательно сказывалось на биосинтезе белка. Однако присутствие эспарцета в составе кормовой смеси не влияло ни на потребление, ни на усвояемость азота [39].

Сбалансированный корм, обогащённый витаминами и минералами, отвечает не только за рост и набор массы животными, но и оказывает влияние на качество животноводческой продукции. Так, ранее исследовалось влияние травяного силоса с добавлением эспарцета *Onobrychis viciifolia* на соотношение жирных кислот в молоке молочных коров. Результаты показали, что хотя потребление эспарцета было ниже, у экспериментальной группы оказались более высокие соотношения ($P \leq 0,0179$) таких омега-3–6-ненасыщенных жирных кислот, как линолевая и альфа-линолевая кислоты [40]. Аналогичный эксперимент позже позволил установить, что протоантоцианидины, входящие в состав эспарцета, также положительно изменяют профиль жирных кислот в составе молока дойных овец. В результате было констатировано повышение уровня накопления стеариновой, линолевой и альфа-линолевых кислот и одновременное снижение концентрации олеиновой кислоты [41]. Так как линолевая кислота участвует в синтезе медиаторов простагландинов и входит в состав клеточных мембран, а также регулирует активность Т-клеток иммунной системы, но содержится в основном в растительных маслах, увеличение ее накопления в коровьем молоке является достаточной аргументом для введения доли эспарцета в кормовой рацион КРС [42].

Включение от 20 до 40% эспарцета в рацион ягнят-откормышей продемонстрировало значительный сдвиг пропорций олеиновой и стеариновой кислот в мясе животных, причем, максимальная концентрация олеиновой кислоты была зарегистрирована при наивысшем содержании эспарцета в составе корма [43]. Увеличение доли эспарцета в рационе свиней не оказывало отрицательного влияния на показатели роста или характеристики туши. Помимо этого, наблюдения показали, что животные проводили более длительный период у кормушки и потребляли большее количество корма за одно посещение. Неожиданными побочными эффектами введения 15% эспарцета в рацион свиней-самцов были зафиксированы уменьшение концентрации андростерона, нарушение развития половых желез и снижение специфического запаха, характерного для хряков [44].

Суммируя имеющиеся данные, можно с уверенностью утверждать, что частичная или полная замена традиционных кормовых бобовых на сено эспарцета, как минимум, не влияет на качество корма, рост и развитие животных.

2.4. Повышение плодородия бросовых земель

Интенсификация сельского хозяйства приводит к деградации пастбищных угодий и пахотных земель. В связи с этим остро встал вопрос об обогащении почв, используемых для производства сельскохозяйственной продукции.

Повышение плодородия почвы и урожайности сельскохозяйственных культур может быть достигнуто путем внесения неорганических и органических удобрений. Однако серьезной проблемой, ограничивающей использование неорганических удобрений, являются их высокая стоимость, сроки транспортировки, недостаточный цифровой логистический уровень и отсутствие складских помещений с соблюдением всех требований производителей и дистрибьюторов [45]. Органические удобрения, несмотря на их эффективность, дешевизну и простоту в применении, могут содержать патогенные бактериальные, грибковые и одноклеточные организмы, яйца и личинки паразитов, представляя тем самым опасность для жизни и здоровья человека и животных. Известно, что в помете кур, являющемся одной из самых популярных органических добавок, обнаружены следы бактерий *Actinobacillus*, *Salmonella*, *Eschericia coli* и других [46]. Другие авторы утверждают, что коммерческие органические удобрения в более чем половине случаев содержат жизнеспособные яйца и личинки таких кишечных паразитов, как власоглава *Trichuris sp.*, человеческой аскариды *Ascaris sp.* и токсокары *Toxocara sp.* [47]. Еще одним потенциально опасным агентом является одноклеточная бластоциста *Blastocystis* spp., вызывающая острую кишечную инфекцию или т.н. диарейный синдром. Было выявлено, что 2 из 17 подтипов встречаются в свином помете, используемом как компонент органического удобрения [48, 49].

Применение кормовых зернобобовых культур в севооборотах может иметь решающее экологическое значение, поскольку даёт возможность существенно повысить физико-механические свойства посевных площадей, повысить плодородие почв при одновременном снижении норм расхода азотных удобрений [50, 51]. Кроме того, предварительный высеv бобовых поможет фермерам не только частично снизить потребность в азотных удобрениях, но и предотвратит рост и распространение опасных инфекций.

2.5. Антигельминтный эффект эспарцета

Ещё одним полезным свойством гранулированного дегидратированного эспарцета в составе биоактивных кормов может считаться его антигельминтный эффект [52]. Несмотря на многообразие коммерческих антигельминтных препаратов, направленных на борьбу с нематодами желудочно-кишечного тракта мелких жвачных животных, эффективность этих лекарственных средств снижается в связи с резистентностью паразитов к токсическим агентам (которые являются мажорными компонентами в составе большинства препаратов). Более того, неясность влияния вторичных метаболитов антигельминтиков на физиологические процессы животного стимулирует поиск новых подходов к выходу фермеров и ветеринарных служб из зависимости от использования синтетических химических лекарств. Данная проблема особенно актуальна для коз, у которых наблюдается максимальная устойчивость к антигельминтикам ввиду их физиологических и метаболических особенностей [53].

Исследования показали, что у коз, зараженных паразитическими нематодами *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* и *Trichostrongylus colubriformis*, которые в течение 7 дней получали зеленую массу эспарцета в качестве основного кормового компонента, было зарегистрировано меньшее количество яиц, а количество взрослых паразитов в ЖКТ снизилось на 50% по сравнению с контрольной группой. Кроме того, сами животные поглощали больше эспарцета, что могло свидетельствовать о его питательной ценности и удовлетворительном состоянии животных [54].

Аналогичный эксперимент, проведенный на ягнятах, свидетельствовал о схожих результатах. Добавление 600 г сухого эспарцета к суточному рациону ягнят, зараженных *Haemonchus contortus*, показало уменьшение количества червей в сычуге животных по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Также было зафиксировано повышение активности фермента глутатионпероксидазы в крови ($p < 0,022$), катализирующей восстановление гидроперекисей липидов до спиртов и перекиси водорода до воды. Несмотря на то, что самки нематод, изъятые из ЖКТ для анализа, не отличались морфологически и физиологически, одним из возможных объяснений сокращения червей отнесено за счёт активации антиоксидантной защитной системы, повышающей устойчивость животных к инфекции [55].

Исследования *in vivo* показали также снижение количества яиц в помёте лошадей, зараженных паразитическими нематодами цистостоминами, после добавления в их рацион добавок на основе гранулированного эспарцета. Авторы предполагают, что танины эспарцета ингибировали скорость образования яиц и развития личинок гельминта [56]. Другие авторы подтвердили и дополнили данные о том, что у лошадей, получавших от 8,5 до 17% от общей кормовой массы гранул эспарцета в течение 7–28 дней, подвижность личинок по сравнению с контролем замедлялась. Интересно, что последующая обработка лошадей 5-фенил-тио-2-бензимидазол карбаматом, широко распространенным антигельминтиком, не повлияла на качество и количество личинок, но позволяет рассматривать гранулы эспарцета как полноценный и самостоятельный антигельминтный препарат [57].

2.6. Потенциальное использования эспарцета в качестве биологически активной добавки в рацион человека

Несмотря на то, что и семена эспарцета, и зеленая масса используются в качестве добавок к традиционным кормам сельскохозяйственных животных, практически нет данных о потенциале использования эспарцета человеком. В то же время известно, что введение 5 и 10% семян эспарцета в рацион крыс позволило снизить уровни креатина, аланинтрансаминазы, ЛПНП, ионов фосфора, кальция и магния в крови в пределах референтных значений, что свидетельствует о потенциальной пользе данной растительной культуры. Концентрация сывороточного креатина, освобождающегося в кровь в результате мышечного распада, позволяет оценить состояние почек. Референтный диапазон креатина у крыс составлял 0,2–0,8 мг/дл, однако его концентрация у контрольной группы была в пределах 0,71 мг/дл, то есть ближе к верхней границе нормы, и 0,54 и 0,52 мг/дл для 5% и 10% групп, соответственно, что совпадало со средним значением [58].

Еще одним важным параметром, по которому можно определить степень повреждения и разрушения гепатоцитов или ЖКТ, является концентрация фермента аланинтрансаминазы (обычно вследствие воздействия на эти клетки и органы токсических агентов; хотя заболевания сосудов, гемохроматоз и вирусные инфекции также могут рассматриваться как возможные причины) [59, 60]. У крыс референтный диапазон для аланинтрансаминазы находится в интервале 16–89 ед/л, причём у контрольной группы

среднее значение составляло 69,29 ед/л, в то время как у экспериментальных животных – 44,57 и 47,43 ед/л, соответственно.

Снижение уровня липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) также оказывает положительный эффект на общее состояние организма. Холестерин ЛПНП ассоциирован с развитием атеросклероза и сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой системы [61].

По сравнению с контрольной группой, концентрация ЛПНП у крыс, получавших эспарцет, снижалась на 8,3% и 33%, соответственно [18].

Бобовые играют важную роль в профилактике и лечении таких хронических заболеваний, как диабет 2 типа, ожирения и болезни сердечно-сосудистой системы [62].

Многочисленные исследования выявили, что присутствие бобовых в рационе модулирует деятельность микробиоты кишечника, способствует перистальтике кишечника и обеспечивает поддержание гомеостаза глюкозы, что, в свою очередь, ведёт к улучшению качества жизни человека [63, 64].

Как сказано выше, нерастворимые волокна клетчатки составляют большую часть сырой массы эспарцета. Только в США до 90% женщин и 97% мужчин испытывают дефицит клетчатки в своём рационе. Такой дефицит коррелирует с развитием ожирения и сопутствующих заболеваний [65]. Несмотря на то, что данные по Республике Казахстан отсутствуют, можно

предположить похожие значения, т. к. традиционная диета казахов включает существенное количество белка и быстрых углеводов на фоне растущей популярности сетей быстрого питания, предлагающих блюда на основе тех же ингредиентов. Следовательно, семена эспарцета могут быть рекомендованы для потребления животными с однокамерным желудком, в т. ч. и человеком для диверсификации источника белка и восполнения дефицита клетчатки.

2.7. Азотфиксация и симбиоз эспарцета с клубеньковыми бактериями

Во многом свойства овощных и кормовых бобовых культур определяются их взаимодействиями с азотфиксаторами.

Бактерии рода *Rhizobium* являются палочковидными бактериями длиной 1,0–2,5 мкм. Эти микроорганизмы не образуют спор, однако при неблагоприятных условиях, таких как низкие температуры, засуха и пр., переходят в состояние длительного покоя. Хотя некоторые штаммы бактерий могут существовать в почве и при отсутствии растений-хозяев, их численность, как правило, резко возрастает вблизи корней бобовых растений [66].

Два из наиболее стандартных методов классификации штаммов бактерий основаны на их скорости роста на искусственных средах и их влиянии на образование клубеньков у различных видов бобовых (табл. 1).

Таблица 1 – Сравнительная скоростная характеристика

штаммов азотфиксирующих бактерий (по Гэхэну) [67]

Характеристика	Быстрорастущие	Медленнорастущие
Скорость роста (оценивается по диаметру колонии, культивируемой на питательном агаре).	> 1 мм через 3–5 дней	< 1 мм через 10 дней
Биосинтез смолы из полисахаридов	Много	Мало
Биосинтез индолилуксусной кислоты (ИУК)	Да	Нет
Потребление сахарозы	Да	Нет
Устойчивость к антибиотикам (нг/мл)		
Тетрациклин	0.01-0.1	50-150
Вибрамицин	0.1-1.0	20-60
Виомицин	10-40	500-1500
Засухоустойчивость	Высокая	Низкая
Устойчивость к кислым почвам	Низкая	Высокая

Хотя видам и штаммам симбиотических азотфиксирующих бактерий посвящено большое количество научных статей и публикаций, в международной базе Pubmed размещено только четыре статьи с описанием микроорганизмов, специфичных именно для эспарцета.

Известно, что несколько представителей бактерий, выделенных из других бобовых (*Coronilla* spp., *Hedysarum* spp., *Petalostemon* spp., *Oxytropis* spp. и *Astragalus alpinus*), могут образовывать клубеньки и на корневой системе эспарцета, хотя их эффективность во многом зависит от условий среды [68]. Кроме того, описано пять штаммов *Rhizobium* sp., характерных для эспарцета, произрастающего в США и Канаде: USDA 3736, 116A15, SM2, USDA 3172, USDA 3173 [69].

Недавние исследования выявили два новых вида азотфиксирующих бактерий в корневых клубеньках, что позволяет прояснить роль бактерий в росте и развитии растений эспарцета. *Mesorhizobium onobrychidis* sp. nov. активно индуцирует клубеньки для ускорения фиксации атмосферного азота и углекислого газа. Предполагается, что данный вид содержит гены, контролирующие скорость роста растений. В то же время вид *Onobrychidicola muellerharveyae* gen. nov. sp. nov. обладает генами, способствующими повышению устойчивости к биотическому стрессу [70].

Другие авторы при исследовании арктического штамма укрепились во мнении, что делеция плазмиды у этого штамма *Rhizobium* N31 не повлияла на устойчивость организмов к антибиотикам, эффективность потребления углеводов и органических кислот и скорость роста при низкой температуре, однако существенно усилила активность фермента нитрогеназы и, следовательно, «постегивала» образование клубеньков по сравнению с диким типом [71].

Современные методы молекулярно-генетического анализа позволят более эффективно проводить поиск, идентификацию и паспортизацию штаммов и видов бактерий, специфичных для эспарцета, что позволит повысить устойчивость этих бобовых растений и их продуктивность, а также попутно обогатить сортимент неспецифичных азотфиксаторов для семейства Phabaceae в целом.

Заключение

Статья написана в соответствии с проектом AP23488711: «Интеграция селективного

молекулярного маркирования и совместного микробиологического культивирования для формирования оптимальной коллекции эспарцета на Юго-Востоке Казахстана». Для достижения цели проекта предусмотрены основные подходы, среди которых: сбор и расширение сортового материала эспарцета, изучение морфогенетических и адаптивных свойств данной культуры; оценка продуктивности собранного материала; разработка поликроссов для получения новых генетически-устойчивых популяций с повышенной урожайностью и комбинативной гибкостью, определяемой путем гибридизации с контрольными тестерными образцами. Данная работа приведет к созданию гибридных семян и установлению взаимосвязи хозяйственно-ценных признаков, а также к анализу полученных гибридных популяций методами молекулярного маркирования усвоения азота, продуктивности и анализа аминокислот в ряду сортообразцов. Оригинальность поставленных задач вселяет оптимизм, поскольку предусматривает сбор массива междисциплинарных данных на стыке генетики, молекулярной генетики, микробиологии и биоинформатики для развития культуры эспарцета и других кормовых бобов на Юго-Востоке Казахстана.

В настоящем обзоре рассмотрены теоретические предпосылки комплексного изучения и применения эспарцета для удовлетворения кормовых и почвовосстановительных потребностей страны, а также обеспечения пищевых и оздоровительных запросов казахстанского общества в будущем.

В статье подчеркивается, что семеноводство эспарцета продвигается в наиболее развитых странах, включая Австралию, Испанию, Италию, Канаду, США и др. При этом доля экспорта эспарцета в стоимостном выражении составляет 14.07%, 12.42%, 3.95%, 6.35% и 50.62%, соответственно. Семеноводство эспарцета в мировом масштабе сейчас находится на взлёте относительно люцерны и может быть широко распространено в многопрофильных хозяйствах как для внутреннего потребления, так и для экспорта в будущем.

Эспарцет стал одной из системообразующих многолетних бобовых культур в условиях Восточного Казахстана. В нашей стране эта культура применима для полевого травосеяния, залужения склонов и песчаных земель, однолетнего использования в севообороте озимых злаков. Поэтому в наших условиях необходимы как одноукосные, так и двухукосные формы эспарцета.

Хотя различные виды эспарцета *Onobrychis spp.* использовались в качестве корма для жвачных животных на протяжении многих веков, влияние их составляющих компонентов на многие биохимические показатели начало изучаться в наше время

Согласно ряду данных, содержание белка в сырой массе эспарцета составляет примерно 44,0 г/100 г, сопоставима с белком сои (39,9 г/100 г) и люпина ($37,57 \pm 4,39$ г/100 г). При этом в семенах без оболочки уровень белка достигает 30,3–38,8%. [17, 18].

Отсюда видно, что эспарцет необходим в качестве белок-обогащенного корма КРС. Более того, несмотря на низкое содержание крахмала, эспарцет может способствовать снижению риска ожирения и сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний человека в обход созданию дорогостоящих экструдированных продуктов. Таким образом, обеспечение страны на основе эспарцета сбалансированными продуктами и кормами, обогащёнными витаминами и минера-

лами, будет способствовать не только росту и контролируемому набору массы, но и оказывает существенное воздействие на качество растениеводческой и животноводческой продукции. Современные методы молекулярно-генетического анализа дают возможность выполнять идентификацию и паспортизацию азотфиксаторов, специфичных для эспарцета, что позволит повысить устойчивость данной культуры и её продуктивность, а также параллельно с этим позволит расширить перечень менее специфичных азотфиксаторов, полезных для бобового семейства в целом.

Источник финансирования

Данная работа выполнена в рамках проекта АР 23488711 «Интеграция селективного молекулярного маркирования и инокуляции растений азотфиксаторами для формирования оптимального генофонда эспарцета на Юго-Востоке Казахстана».

Литература

1. Стратегия “Казахстан2050”, (2012) https://www.akorda.kz/ru/official_documents/strategies_and_programs
2. Singh N., Jain P., Ujinal M., Langyan S. Escalate protein plates from legumes for sustainable human nutrition // *Front Nutr.* – 2022. – Vol. 9. – P. 1–19
3. Hughes J., Pearson E., Grafenauer S. Legumes-A Comprehensive Exploration of Global Food-Based Dietary Guidelines and Consumption // *Nutrients.* – 2022. – Vol. 14(15). – P. 3080.
4. Zhong Y., Tian J., Li X., Liao H. Cooperative interactions between nitrogen fixation and phosphorus nutrition in legumes // *New Phytol.* – 2023. – Vol. 237(3). – P. 734-745.
5. Yang J., Lan L., Jin Y., Yu N., Wang D., Wang E. Mechanisms underlying legume-rhizobium symbioses // *J Integr Plant Biol.* – 2022. – Vol. 64(2). – P. 244-267.
6. Wink M. Evolution of secondary metabolites in legumes (*Fabaceae*) // *South African Journal of Botany.* – Vol. 89(2013). – P. 164–175.
7. Епифанов В.С. Эспарцет засухоустойчивая культура // *Кормопроизводство.* – 2000. – Т. 4. – С. 31-32.
8. State of the Global Climate (2024) <https://wmo.int/publication-series/state-of-global-climate-2024>
9. Kells A. Sainfoin: An alternative forage crop for bees // *Bee World.* – 2015. – Vol. 82. – P. 192-194.
10. Рябинина О.В. Эспарцет песчаный – резерв кормовой базы Иркутской области // *Аграрная наука.* – 2002. – Т. 2. – С. 10-11.
11. Корнилов, А. А. Эспарцет песчаный в степи // *Зернобобовые культуры.* – 1965. – Т. 11. – С. 24-25
12. Филиппова Н.И., Парсаев Е.И., Коберницкая Т.М., Островский В.А., Рукавицына И.В., Дашкевич С.М., Утебаев М.У. Направления и результаты селекции многолетних бобовых трав в Северном Казахстане // *Кормопроизводство.* – 2020. – Т. 7. – С. 33-38.
13. Верещагина А. С., Воскобулова Н. И., Ураскулов Р. III. Влияние покровной культуры, способа посева и нормы высева на засорённость посевов эспарцета // *Животноводство и кормопроизводство.* – 2016. – Т.1(93). – пС. 135-138.
14. Дедов А. В., Несмеянова М. А. Влияние многолетних трав на плодородие почв // *Агрохимический вестник.* – 2012. – Т. 4. – С. 1–3.
15. Yin H, Zhou H, Wang W., Tran L. P., Zhang B. Transcriptome Analysis Reveals Potential Roles of Abscissic Acid and Polyphenols in Adaptation of *Onobrychis viciifolia* to Extreme Environmental Conditions in the Qinghai-Tibetan Plateau // *Biomolecules.* – 2020. – Vol. 10(6). – P. 967
16. Karabulut E., Erkoç K., Aci M. Aydın M., Barriball S., Braley J., Cassetta E., Craine E. B., Diaz-Garcia L., Hershberger J., Meyering B., Miller A. J., Rubin M. J., Tesdell O., Schlautman B., Şakiroğlu, M. Sainfoin (*Onobrychis spp.*) crop ontology: supporting germplasm characterization and international research collaborations // *Front Plant Sci.* – 2023. – Vol. 15. – P. 1177406.

17. Baldinger L., Hagmüller W., Minihuber U., Matzner M., Zollitsch W. Sainfoin seeds in organic diets for weaned piglets—Utilizing the protein-rich grains of a long-known forage legume // *Renewable Agriculture and Food Systems*. – 2016. – Vol. 31(1). – P. 2–21
18. Craine E.B., Makav M., Dağ S., Yıldız A., Eroğlu H. A., Kuru B. B., Bektaşoğlu F., Barriball S., Schlautman B., Şakiroğlu M. Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) seed-based diet on rats: A comprehensive evaluation of hemogram, biochemistry, and histopathology // *Food Sci Nutr*. – 2024. – Vol. 12(7). – P. 4692–4701
19. Brodsky B., Persikov A.V. Molecular structure of the collagen triple helix // *Adv Protein Chem*. – 2005. – Vol. 70. – P. 301–39.
20. Carbas B., Machado N., Oppolzer, D., Ferreira L., Queiroz M., Brites C., Rosa E. A., Barros, A. I. Nutrients, Antinutrients, Phenolic Composition, and Antioxidant Activity of Common Bean Cultivars and their Potential for Food Applications // *Antioxidants*. – 2020. – Vol. 9(2). – P. 186.
21. Kan L., Nie S., Hu J., Wang S., Bai Z., Wang J., Zhou Y., Jiang J., Zeng Q., Song K. Comparative study on the chemical composition, anthocyanins, tocopherols and carotenoids of selected legumes // *Food Chem*. – 2018. – Vol. 260. – P. 317–326.
22. Tarasenko N., Butina E., Gerasimenko E. Peculiarities of Chemical Composition of Sainfoin Seeds Powder // *Oriental Journal of Chemistry*. – 2015. – Vol. 35. – P. 1673–1682.
23. Kaldy M., Hanna M., Smoliak S. Amino-acid composition of Sainfoin forage // *Grass and Forage Science*. – 2006. – Vol. 34. – P. 145–148.
24. Земляничина С. В. Динамика незаменимых аминокислот в биомассе эспарцета песчаного в зависимости от предпосевной обработки семян бишофитом // *Известия НВ АУК*. – 2012. – Т. 4. – С. 1–6.
25. Cotacallapa-Sucarpa M., Vega E.N., Maieyes H.A., Morales P., Fernández-Ruiz V., Cámara M. Extrusion Process as an Alternative to Improve Pulses Products Consumption. A Review // *Foods*. – 2021. Vol. 10(5). – P. 1096.
26. Hall C., Hillen C., Robinson J.G. (2017). Composition, nutritional value, and health benefits of pulses // *Cereal Chemistry*. – 2017. – Vol. 94. – P. 11–31
27. Kudelka W., Kowalska M., Popis M. Quality of Soybean Products in Terms of Essential Amino Acids Composition // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26(16). – P. 5071.
28. Paredes M., Becerra V., Tay J. Inorganic nutritional composition of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes race Chile // *Chil. J. Agric. Res*. – 2009. – Vol. 69. – P. 486–495.
29. Kalayu G. Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers // *Int J Agron*. – 2019. – Vol. 20. – P. 1–7
30. Grande F., Stadlmayr B., Filon M., Dahdouh S., Rittenschober D., Longvah T., Charrondiere U. FAO/INFOODS Databases FAO/INFOODS Global database for pulses on dry matter basis. Version 1.0 -PulsesDM1.0 (user guide) // Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. – 2017. – P. 26.
31. Choi Y.-M., Yoon H., Shin M.-J., Lee Yo., Hur O.S., Lee B.C., Ha B.-K., Wang, X.H. Desta K.T. Change in protein, oil and fatty acid contents in soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.) of different seed coat colors and seed weight // *bioRxiv*. – 2021. – Vol. 10. – P. 430590
32. Guiguitant J., Vile D., Ghanem M. E., Wery J., Marrou H. Evaluation of pulse crops functional diversity supporting food production // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10. – P. 3416.
33. Кушенов Б.М. Питательная ценность многолетних трав в процессе вегетации. // *Кормопроизводство*. – 2000. – Т. 5. – С. 27–28.
34. Molnar M., Jakovljević Kovač M., Pavić V. A Comprehensive Analysis of Diversity, Structure, Biosynthesis and Extraction of Biologically Active Tannins from Various Plant-Based Materials Using Deep Eutectic Solvents // *Molecules*. – 2024. – Vol. 11. – P. 2615
35. Theodoridou K., Aufrère J., Andueza D., Le Morvan A., Picard F., Pourrat J., Baumont R. Effects of condensed tannins in wrapped silage bales of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on *in vivo* and *in situ* digestion in sheep // *Animal*. – 2012. – Vol. 6. – P. 245–53.
36. Huang R., Zhang F., Wang T., Zhang Y., Li X., Chen Y., Ma, C. Effect of Intrinsic Tannins on the Fermentation Quality and Associated with the Bacterial and Fungal Community of Sainfoin Silage // *Microorganisms*. – 2022. – Vol. 5. – P. 844.
37. Macarulla M., Medina C., Diego M., Chávarri M., Zulet M. A., Martínez J. A., Noël-Suberville C., Higuera P., Portillo, M. P. Effects of whole seed and a protein isolate of faba bean (*Vicia faba*) on the cholesterol metabolism of hypercholesterolaemic rats // *The British journal of nutrition*. – 2001. – Vol. 85. – P. 607–614
38. Thavarajah D., Lawrence T., Boatwright L., Windsor N., Johnson N., Kay J., Shipe E., Kumar S., Thavarajah P. Organic dry pea (*Pisum sativum* L.): A sustainable alternative pulse-based protein for human health // *PLoS One*. – 2023. – Vol. 4. – P. e0284380
39. Aufrère J., Dudillieu M., Andueza D., Poncet C., Baumont R. Mixing sainfoin and lucerne to improve the feed value of legumes fed to sheep by the effect of condensed tannins // *Animal*. – 2023. – Vol. 1. – P. 82–92
40. Huyen N.T., Verstegen M.W.A., Hendriks W.H., Pellikaan W.F. Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage in dairy cow rations reduces ruminal biohydrogenation and increases transfer efficiencies of unsaturated fatty acids from feed to milk // *Anim Nutr*. – 2020. – Vol. 3. – P. 333–341.
41. Baila C., Joy M., Bertolin J.R., Blanco M., Casasús I., Lobón S. Effect of sainfoin proanthocyanidins on milk fatty acids from ewes rearing suckling lambs // *Animal*. – 2023. – Vol. 6. – P. 100862
42. Nava Lauson C. B., Tiberti S., Corsetto P. A., Conte F., Tyagi P., Machwirth M., Ebert S., Loffreda A., Scheller L., Sheta D., Mokhtari Z., Peters T., Raman A. T., Greco F., Rizzo A. M., Beilhack A., Signore G., Tumino N., Vacca P., McDonnell L. A.,

- Manzo T. Linoleic acid potentiates CD8⁺ T cell metabolic fitness and antitumor immunity // Cell metabolism. –2023. – Vol. 35(4). – P. 633–650.e9.
43. Baila C., Joy M., Bertolín J.R., Alves S., Bessa R., Blanco M., Lobón S. Inclusion of Sainfoin in the Concentrate of Finishing Lambs: Fatty Acid Profiles of Rumen, Plasma, and Muscle.” J Agric Food Chem. – 2023. – Vol. 46. – P. 17947-17958
44. Seoni E., Battacone G., Kragten S., Dohme-Meier F., Bee G. Impact of increasing levels of condensed tannins from sainfoin in the grower–finisher diets of entire male pigs on growth performance, carcass characteristics, and meat quality // Animal. – 2020. – Vol. 15. – P. 100-110
45. Toomsan B., Limpinuntana V., Jogloy S. Role of Legumes in Improving Soil Fertility and Increasing Crop Productivity in Northeast Thailand // Patancheru: ICRISAT. – 2012.
46. Kyakuwaire M., Olupot G., Amoding A., Nkedi-Kizza P., Basamba T. A. How Safe is Chicken Litter for Land Application as an Organic Fertilizer? A Review // Int J Environ Res Public Health. – 2019. – Vol. 19. – P. 3521
47. Figura A., Cencek T., Żbikowska E. Parasitic threat in commercial organic fertilizers // Parasitol Res. – 2022. – Vol. 3. – P. 945-949.
48. Малеев В. В., Токмалаев А. К., Кожевникова Г. М., Цветкова Н. А., Половинкина Н. А., Голуб В. П., Максимова М. С., Барышева И. В., Коннов В. В., Харламова Т. В. Клинические формы, диагностика и лечение инфекции, вызванной *Blastocystis species* // Терапевтический архив. – 2020. – Т. 11. – С. 86-90.
49. Ruang-Areerate T., Piyaraj P., Suwannahitatorn P. Ruang-areerate P, Thita T, Naaglor T, Witee U, Sakboonyarat B, Leelayoova S, Munghin M. Zoonotic Transmission of Blastocystis Subtype 1 among People in Eastern Communities of Thailand: Organic Fertilizer from Pig Feces as a Potential Source.” Microbiol Spectr. – 2021. – Vol. 2. – P. e0036221
50. Вишнякова М.А. Генофонд зернобобовых культур и адаптивная селекция как факторы биологизации и экологизации растениеводства // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – Т. 3. – С. 3-23.
51. Frame J. Charlton F. L., Laidlaw A. S. Temperate Forage Legumes // Wallingford: CAB INTERNATIONAL. –1998.
52. Hoste H., Martinez-Ortiz-De-Montellano C., Manolaraki F., Brunet S., Ojeda-Robertos N., Fourquaux I., Torres-Acosta J. F., Sandoval-Castro C. A. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections // Veterinary Parasitology. – 2012. – Vol. 186. – P. 18–27
53. Waller P.J. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock // International Journal for Parasitology. – 1999. – Vol 29. – P. 155-164
54. Paolini V., De La Farge F., Prevot F., Dorchies P., Hoste, H. Effects of the repeated distribution of sainfoin hay on the resistance and the resilience of goats naturally infected with gastrointestinal nematodes // Vet Parasitol. – 2005. – Vol. 28(127). – P. 277-83.
55. Komáromyová M., Petrič D., Kucková K., Battányi D., Babják M., Dolinská M. U., Königová A., Barčák D., Dvorožňáková E., Čobanová K., Váradyová Z., Várady M. Impact of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) Pellets on Parasitological Status, Antibody Responses, and Antioxidant Parameters in Lambs Infected with *Haemonchus contortus* // Pathogens. – 2022. – Vol. 11(3). – P. 301.
56. Malsa J., Courtot É., Boisseau M., Dumont B., Gombault P., Kuzmina T. A., Basiaga M., Lluch J., Annonay G., Dhorne-Pollet S., Mach N., Sutra J. F., Wimmel L., Dubois C., Guégnard F., Serreau D., Lespine A., Sallé G., Fleurance G. Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on cyathostomin eggs excretion, larval development, larval community structure and efficacy of ivermectin treatment in horses // Parasitology. –2022. – Vol. 149(11). – P. 1439–1449.
57. Grimm P., Laroche N., Julliard S., Sorci G. Inclusion of Sainfoin in the Diet Might Alter Strongyle Infection in Naturally Infected Horses // Animals. – 2022. – Vol. 12. – P. 955
58. Hrapkiewicz K., Colby L.A., Denison P. Clinical laboratory animal medicine: An introduction // New Jersey: John Wiley & Sons. – 2013. – P. 449.
59. Adali Y., Eroğlu H.A., Makav M., Guvendi G.F. Efficacy of ozone and selenium therapy for alcoholic liver injury: An experimental model // In Vivo. – 2019. – Vol. 33. – P. 763–769.
60. Moriles K.E., Azer S.A. Alanine amino transferase // Treasure Island: StatPearls Publishing. – 2022. – P. 232.
61. Guijarro C., Cosín-Sales J. LDL cholesterol and atherosclerosis: The evidence // Clin Investig Arterioscler. –2021. – Vol. 1. – P. 25-32.
62. Jenkins, D. J., Kendall, C. W., Augustin, L. S., Mitchell, S., Sahye-Pudaruth, S., Blanco Mejia, S., Chiavaroli, L., Mirrahimi, A., Ireland, C., Bashyam, B., Vidgen, E., de Souza, R. J., Sievenpiper, J. L., Coveney, J., Leiter, L. A., Josse, R. G. Effect of legumes as part of a low glycemic index diet on glycemic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial // Archives of internal medicine. – 2012. – Vol. 172(21). – P. 1653–1660.
63. Clemente A., Olias R. Beneficial effects of legumes in gut health // Current Opinion in Food Science. – 2017. – Vol. 14. – P. 32–36
64. Zinöcker M.K., Lindseth I.A. The Western diet–microbiome–host interaction and its role in metabolic disease // Nutrients. – 2018. – Vol. 10(3). – P. 365
65. Thompson H.J. The dietary guidelines for Americans (2020–2025): Pulses, dietary fiber, and chronic disease risk—A call for clarity and action // Nutrients. – Vol. 13(11). – P. 4034.
66. Hamdi Y.A. Soil-water tension and the movement of rhizobia // Soil Biology and Biochemistry. – 1971. – Vol. 3. – P. 121-126.
67. Gahan C.G.M., O’Driscoll B., Hill C. Acid adaptation of *Listeria monocytogenes* can enhance survival in acidic foods and during milk fermentation // Appl Environ Microbiol. – 1996. – Vol. 62. – P. 3128–3132.
68. Prévost D., Bordeleau L.M., Antoun H. Symbiotic effectiveness of indigenous arctic rhizobia on a temperate forage legume: sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) // Plant Soil. – 1987. – Vol. 104. – P. 63–69.

69. Laguerre G., van Berkum P., Amarger N., Prévost D. Genetic diversity of rhizobial symbionts isolated from legume species within the genera Astragalus, Oxytropis, and Onobrychis // *Appl Environ Microbiol.* – 1997. – Vol. 63. – P. 4748-4758.
70. Ashrafi S., Kuzmanović N., Patz S., Lohwasser U., Bunk B., Spröer C., Lorenz M., Elhady A., Frühling A., Neumann-Schaal M., Verburg S., Becker M., Thünen T. Two New Rhizobiales Species Isolated from Root Nodules of Common Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) Show Different Plant Colonization Strategies // *Microbiol Spectr.* – 2022. – Vol. 10(5). – P. e0109922.
71. Jain D.K., Bordeleau L.M. Enhanced N₂-fixing ability of a deletion mutant of arctic rhizobia with sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) // *Theor Appl Genet.* – 1990. – Vol. 80. – P. 795-800.

References

1. Adali Y., Eroğlu H.A., Makav M., Guvendi G.F. (2019). Efficacy of ozone and selenium therapy for alcoholic liver injury: An experimental model. *In Vivo*, vol. 33, pp. 763–769.
2. Ashrafi S., Kuzmanović N., Patz S., Lohwasser U., Bunk B., Spröer C., Lorenz M., Elhady A., Frühling A., Neumann-Schaal M., Verburg S., Becker M., Thünen T. (2022) Two New Rhizobiales Species Isolated from Root Nodules of Common Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) Show Different Plant Colonization Strategies. *Microbiol Spectr.*, vol. 26, p. e0109922.
3. Aufrère J., Dudilleu M., Andueza D., Poncet C., Baumont R. (2023) Mixing sainfoin and lucerne to improve the feed value of legumes fed to sheep by the effect of condensed tannins. *Animal*, vol. 1, pp. 82-92.
4. Baila C., Joy M., Bertolín J.R., Blanco M., Casasús I., Lobón. (2023) Effect of sainfoin proanthocyanidins on milk fatty acids from ewes rearing suckling lambs. *Animal*, vol. 6, p. 100862.
5. Baila C., Joy M., Bertolín J.R., Alves S., Bessa R., Blanco M., Lobón S. (2023) Inclusion of Sainfoin in the Concentrate of Finishing Lambs: Fatty Acid Profiles of Rumen, Plasma, and Muscle. *J Agric Food Chem.*, vol. 46, pp. 17947-17958.
6. Baldinger L., Hagmüller W., Minihuber U., Matzner M., Zollitsch W. (2016) Sainfoin seeds in organic diets for weaned piglets—utilizing the protein-rich grains of a long-known forage legume. *Renewable Agriculture and Food Systems*, vol. 31, pp. 12–21.
7. Brodsky B., Persikov A.V. (2005) Molecular structure of the collagen triple helix. *Adv Protein Chem.*, vol. 70, pp. 301-39.
8. Carbas B., Machado N., Oppolzer D., Ferreira L., Queiroz M., Brites C., Rosa E. A., Barros, A. I. (2020) Nutrients, Antinutrients, Phenolic Composition, and Antioxidant Activity of Common Bean Cultivars and their Potential for Food Applications. *Antioxidants*, vol. 9, p. 186.
9. Choi Y.-M., Yoon H., Shin M.-J. Lee Yo., Hur O.S., Lee B.C., Ha B.-K., Wang, X.H. Desta K.T. (2021) Change in protein, oil and fatty acid contents in soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.) of different seed coat colors and seed weight. *bioRxiv.*, vol. 10, p. 430590.
10. Clemente A., Olias R. (2017) Beneficial effects of legumes in gut health. *Current Opinion in Food Science*, vol. 14, pp. 32–36.
11. Cotacallapa-Sucapuca M., Vega E.N., Maieyes H.A., Morales P., Fernández-Ruiz V., Cámara M. (2021) Extrusion process as an alternative to improve pulses products consumption. A review. *Food*, vol. 10, p. 1096.
12. Craine E.B., Makav M., Dağ S., Yıldız A., Eroğlu H. A., Kuru B. B., Bektaşoğlu F., Barriball S., Schlautman B., Şakiroğlu M. (2024) Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) seed-based diet on rats: A comprehensive evaluation of hemogram, biochemistry, and histopathology. *Food Sci Nutr.*, vol. 12, pp. 4692-4701.
13. Dedov A. V., Nesmejanova M. A. (2012) Vlijanie mnogoletnih trav na plodorodie pochv [The influence of perennial grasses on soil fertility]. *Agrohimicheskij vestnik*, vol. 4, pp. 1–3.
14. Epifanov B.C. (2000) Jesparcet zasuhoustojchivaja kul'tura [Sainfoin is a drought-resistant crop]. *Kormoproizvodstvo*, vol. 4, pp. 31–32.
15. Figura A., Cencek T., Żbikowska E. (2022) Parasitic threat in commercial organic fertilizers. *Parasitol Res.*, vol. 3, pp. 945-949.
16. Filippova N.I., Parsaev E.I., Kobernickaja T.M., Ostrovskij V.A., Rukavicyna I.V., Dashkevich S.M., Utebaev M.U. (2020) Napravlenija i rezul'taty selekcii mnogoletnih bobovyh trav v Severnom Kazahstane [Directions and results of breeding perennial legumes in Northern Kazakhstan]. *Kormoproizvodstvo*, vol. 7, pp. 33-38.
17. Frame J. Charlton F. L., Laidlaw A. S. (1998) Temperate Forage Legumes. *Wallingford: CAB INTERNATIONAL*
18. Gahan C.G.M., O'Driscoll B., Hill C. (1996) Acid adaptation of *Listeria monocytogenes* can enhance survival in acidic foods and during milk fermentation. *Appl Environ Microbiol.*, vol. 62, pp. 3128–3132.
19. Grande F., Stadlmayr B., Filon M., Dahdouh S., Rittenschober D., Longvah T., Charrondiere U. (2017) FAO/INFOODS Databases FAO/INFOODS Global database for pulses on dry matter basis. Version 1.0 -PulsesDM1.0 (user guide). *Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations*
20. Grimm P., Laroche N., Julliard S., Sorci G. (2022) Inclusion of Sainfoin in the Diet Might Alter Strongyle Infection in Naturally Infected Horses. *Animals*, vol. 12, p. 955.
21. Guiguitant J., Vile D., Ghanem M. E., Wery J., Marrou H. (2020) Evaluation of pulse crops functional diversity supporting food production. *Scientific Reports*, vol. 10, p. 3416.
22. Guijarro C., Cosin-Sales J. (2021) LDL cholesterol and atherosclerosis: The evidence. *Clin Investig Arterioscler.*, vol. 1, pp. 25-32.
23. Hall C., Hillen C., Robinson, J.G. (2017). Composition, nutritional value, and health benefits of pulses. *Cereal Chemistry*, vol. 94, pp. 11–31.

24. Hamdi Y.A. (1971) Soil-water tension and the movement of rhizobia. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 3, pp. 121-126.
25. Hoste H., Martinez-Ortiz-De-Montellano C., Manolaraki F., Brunet S., Ojeda-Robertos N., Fourquaux I., Torres-Acosta J. F., Sandoval-Castro C. A. (2012) Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. *Veterinary Parasitology*, vol. 186, pp. 18–27.
26. Hrapkiewicz K., Colby L.A., Denison P. (2013) Clinical laboratory animal medicine: An introduction. *New Jersey: John Wiley & Sons*
27. Huang R., Zhang F., Wang T., Zhang Y., Li X., Chen Y., Ma, C. (2022) Effect of Intrinsic Tannins on the Fermentation Quality and Associated with the Bacterial and Fungal Community of Sainfoin Silage. *Microorganisms*, vol. 5, p. 844.
28. Hughes J., Pearson E., Grafenauer S. (2022) Legumes-A Comprehensive Exploration of Global Food-Based Dietary Guidelines and Consumption. *Nutrients*, vol. 14(15), p. 3080.
29. Huyen N.T., Verstegen M.W.A., Hendriks W.H., Pellikaan W.F. (2020) Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage in dairy cow rations reduces ruminal biohydrogenation and increases transfer efficiencies of unsaturated fatty acids from feed to milk. *Anim Nutr.*, vol. 3, pp. 333-341.
30. Jain D.K., Bordeleau L.M. (1990) Enhanced N₂-fixing ability of a deletion mutant of arctic rhizobia with sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). *Theor Appl Genet.*, vol. 80, pp. 795-800.
31. Jenkins D.J.A., Kendall C.W.C., Augustin, L. S., Mitchell, S., Sahye-Pudaruth, S., Blanco Mejia, S., Chiavaroli, L., Mirrahimi, A., Ireland, C., Bashyam, B., Vidgen, E., de Souza, R. J., Sievenpiper, J. L., Coveney, J., Leiter, L. A., Josse, R. G. (2012) Effect of legumes as part of a low glycemic index diet on glycemic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled trial. *Archives of Internal Medicine*, vol. 172, pp. 1653–1660.
32. Kalayu G. (2019) Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers. *Int J Agron.*, vol. 20, pp. 1-7.
33. Kaldy M., Hanna M., Smoliak S. (2006) Amino-acid composition of Sainfoin forage. *Grass and Forage Science.*, vol. 34, pp. 145-148.
34. Kan L., Nie S., Hu J., Wang S., Bai Z., Wang J., Zhou Y., Jiang J., Zeng Q., Song K. (2018) Comparative study on the chemical composition, anthocyanins, tocopherols and carotenoids of selected legumes. *Food Chem.*, vol. 260, pp. 317–326.
35. Karabulut E., Erkoç K., Aci M., Aydın M., Barriball S., Braley J., Cassetta E., Craine E. B., Diaz-Garcia L., Hershberger J., Meyering B., Miller A. J., Rubin M. J., Tesdell O., Schlautman B., Şakiroğlu, M. (2023) Sainfoin (*Onobrychis spp.*) crop ontology: supporting germplasm characterization and international research collaborations. *Front Plant Sci.*, vol. 15, p. 1177406.
36. Kells A. (2015) Sainfoin: An alternative forage crop for bees. *Bee World*, vol. 82, pp. 92-194.
37. Komáromyová M., Petrič D., Kucková K., Battányi D., Babják M., Dolinská M. U., Königová A., Barčák D., Dvorožňáková E., Čobanová K., Váradyová Z., Várady M. (2022) Impact of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) Pellets on Parasitological Status, Antibody Responses, and Antioxidant Parameters in Lambs Infected with *Haemonchus contortus*. *Pathogens*, vol. 27, p.301.
38. Kornilov A. A. (1965) Jesparcet peschanyj v stepi [Sandy sainfoin in the steppe]. *Zernobovyye kul'tury*, vol. 11, pp. 24-25.
39. Kudelka W., Kowalska M., Popis M. (2021) Quality of Soybean Products in Terms of Essential Amino Acids Composition. *Molecules*, vol. 26, p. 5071.
40. Kushenov B.M. (2000) Pitatel'naja cennost' mnogoletnih trav v processe vegetacii [Nutritional value of perennial herbs during the growing season]. *Kormoproizvodstvo*, vol. 5, pp. 27–28.
41. Kyakuwaire M., Olupot G., Amoding A., Nkedi-Kizza P., Basamba T. A. (2019) How Safe is Chicken Litter for Land Application as an Organic Fertilizer? A Review. *Int J Environ Res Public Health.*, vol. 19, p. 3521.
42. Laguerre G., van Berkum P., Amarger N., Prévost D. (1997) Genetic diversity of rhizobial symbionts isolated from legume species within the genera *Astragalus*, *Oxytropis*, and *Onobrychis*. *Appl Environ Microbiol.*, vol. 63, pp. 4748-4758.
43. Macarulla M., Medina C., Diego M., Chávarri M., Zulet M. A., Martínez J. A., Noël-Suberville C., Higuieret P., Portillo, M. P. (2001) Effects of whole seed and a protein isolate of faba bean (*Vicia faba*) on the cholesterol metabolism of hypercholesterolaemic rats. *The British journal of nutrition*, vol. 85, pp. 607-14.
44. Maleev V., Tokmalaev A., Kozhevnikova G., Cvetkova N. A., Polovinkina N. A., Golub V. P., Maksimova M. S., Barysheva I. V., Konnov V. V., Harlamova T. V. (2021) Klinicheskie formy, diagnostika i lechenie infekcii, vyzvannoj Blastocystis species [Current view on Blastocystis species: clinical forms, diagnosis and treatment]. *Terapevticheskie arkhiv*, vol. 11, pp. 86-90.
45. Malsa J., Courtot É., Boisseau M., Dumont B., Gombault P., Kuzmina T. A., Basiaga M., Lluch J., Annonay G., Dhorne-Pollet S., Mach N., Sutra J. F., Wimmel L., Dubois C., Guégnard F., Serreau D., Lespine A., Sallé G., Fleurance G. (2022) Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on cyathostomin eggs excretion, larval development, larval community structure and efficacy of ivermectin treatment in horses. *Parasitology*, vol. 11, pp. 1439-1449.
46. Molnar M, Jakovljević Kovač M, Pavić V. (2024) A Comprehensive Analysis of Diversity, Structure, Biosynthesis and Extraction of Biologically Active Tannins from Various Plant-Based Materials Using Deep Eutectic Solvents. *Molecules*, vol. 11, p. 2615.
47. Moriles K.E., Azer S.A. (2022) Alanine amino transferase. *Treasure Island: StatPearls Publishing*, p. 232.
48. Nava Lauson C.B., Tiberti S., Corsetto P.A., Conte F., Tyagi P., Machwirth M., Ebert S., Loffreda A., Scheller L., Sheta D., Mokhtari Z., Peters T., Raman A. T., Greco F., Rizzo A. M., Beilhack A., Signore G., Tumino N., Vacca P., McDonnell L. A., Manzo T. (2023) Linoleic acid potentiates CD8+ T cell metabolic fitness and antitumor immunity. *Cell Metab.*, vol. 4, pp. 633-650.
49. Rjabina O.V. (2002) Jesparcet peschanyj – rezerv kormovoj bazy Irkutskoj oblasti [Sand sainfoin – a reserve forage base of the Irkutsk region]. *Agrarnaja nauka*, vol. 2, pp. 10-11.
50. Paolini V., De La Farge F., Prevot F., Dorchie P., Hoste, H. (2005) Effects of the repeated distribution of sainfoin hay on the resistance and the resilience of goats naturally infected with gastrointestinal nematodes. *Vet Parasitol.*, vol. 127, pp. 277-283.

51. Paredes M., Becerra V., Tay J. (2009) Inorganic nutritional composition of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes race Chile. *Chil. J. Agric. Res.*, vol. 69, pp. 486–495.
52. Prévost D., Bordeleau L.M., Antoun H. (1987) Symbiotic effectiveness of indigenous arctic rhizobia on a temperate forage legume: sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). *Plant Soil*, vol. 104, pp. 63–69.
53. Ruang-Areerate T., Piyaaraj P., Suwannahitatorn P., Ruang-areerate P., Thita T., Naaglor T., Witee U., Sakboonyarat B., Leelayoova S., Mungthin M. (2021) Zoonotic Transmission of Blastocystis Subtype 1 among People in Eastern Communities of Thailand: Organic Fertilizer from Pig Feces as a Potential Source. *Microbiol Spectr.*, vol. 2, p. e0036221.
54. Seoni E., Battacone G., Kragten S., Dohme-Meier F., Bee G. (2020) Impact of increasing levels of condensed tannins from sainfoin in the grower–finisher diets of entire male pigs on growth performance, carcass characteristics, and meat quality. *Animal*, vol. 15, pp. 100–110.
55. Singh N., Jain P., Ujainwal M., Langyan S. (2022) Escalate protein plates from legumes for sustainable human nutrition. *Front Nutr.*, vol. 9, pp. 1–19.
56. State of the Global Climate (2024) <https://wmo.int/publication-series/state-of-global-climate-2024>
57. Strategy “Kazakhstan2050”. https://www.akorda.kz/ru/official_documents/strategies_and_programs (accessed December. 14th, 2012).
58. Tarasenko N., Butina E., Gerasimenko E. (2015) Peculiarities of Chemical Composition of Sainfoin Seeds Powder. *Oriental Journal of Chemistry*, vol. 31, pp.1673-1682.
59. Thavarajah D., Lawrence T., Boatwright L., Windsor N., Johnson N., Kay J., Shipe E., Kumar S., Thavarajah P. (2023) Organic dry pea (*Pisum sativum* L.): A sustainable alternative pulse-based protein for human health. *PLoS One*, vol. 4, p.e0284380.
60. Theodoridou K., Aufrère J., Andueza D., Le Morvan A., Picard F., Pourrat J., Baumont R. (2012) Effects of condensed tannins in wrapped silage bales of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on *in vivo* and *in situ* digestion in sheep. *Animal*, vol. 2, pp. 245–53.
61. Thompson H.J. (2021) The dietary guidelines for Americans (2020–2025): Pulses, dietary fiber, and chronic disease risk—A call for clarity and action. *Nutrients*, vol. 11, p. 4034.
62. Toomsan B., Limpinuntana V., Jogloy S. (2012) Role of Legumes in Improving Soil Fertility and Increasing Crop Productivity in Northeast Thailand. *Patancheru: ICRISAT*
63. Vereshhagina A.S., Voskobulova N.I., Uraskulov R.Sh. (2016) Vliyanie pokrovnoj kul'tury, sposoba poseva i normy vyseva na zasorjonnost' posevov jesparceta [The influence of cover crop, sowing method and seeding rate on weed infestation of sainfoin crops]. *Vestnik mjasnogo skotovodstva*, vol. 93, pp. 135–138.
64. Vishnjakova M.A. (2008) Genofond zernobobovyh kul'tur i adaptivnaja selekcija kak faktory biologizacii i jekologizacii rastenievodstva [The gene pool of grain legumes and adaptive selection as factors of biologization and ecologization of plant growing]. *Sel'skhozjajstvennaja biologija*, vol. 3, pp. 3–23.
65. Waller P.J. (1999) International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock.” *International Journal for Parasitology*, vol. 29, pp. 155–164.
66. Wink M. (2013) Evolution of secondary metabolites in legumes (*Fabaceae*). *South African Journal of Botany*, vol. 89, pp. 164–175.
67. Yang J., Lan L., Jin Y., Yu N., Wang D., Wang E. (2022) Mechanisms underlying legume-rhizobium symbioses. *J Integr Plant Biol.*, vol. 64, pp. 244–267.
68. Yin H., Zhou H., Wang W., Tran L. P., Zhang B. (2020) Transcriptome Analysis Reveals Potential Roles of Abscissic Acid and Polyphenols in Adaptation of *Onobrychis viciifolia* to Extreme Environmental Conditions in the Qinghai-Tibetan Plateau. *Biomolecules*, vol. 10, p. 967.
69. Zhong Y., Tian J., Li X., Liao H. (2023) Cooperative interactions between nitrogen fixation and phosphorus nutrition in legumes. *New Phytol.*, vol. 237(3), pp. 734–745.
70. Zemljanicyna C.V. (2012) Dinamika nezamenimyh aminokislot v biomasse jesparceta peschanogo v zavisimosti ot predposevnoj obrabotki semjan bishofitom [Dynamics of essential amino acids in the biomass of sandy sainfoin depending on pre-sowing seed treatment with bischofite]. *Izvestija Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professional'noe obrazovanie*, vol. 4, pp. 73–79.
71. Zinöcker M.K., Lindseth I.A. (2018). The Western diet–microbiome–host interaction and its role in metabolic disease. *Nutrients*, vol. 3, p. 365.

Information about authors:

Aitasheva Zaura (corresponding author) – Doctor of Biological Sciences, Professor at the Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Biology and Biotechnology, al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, email: zaureaitasheva@gmail.com)

Zhumabayeva Beibytgul – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Biology and Biotechnology, al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, email: beibytgul.zhumabaeva@kaznu.kz)

Lebedeva Lina – Master of Agricultural Sciences, Researcher at Institute of Genetics and Physiology (Almaty, Kazakhstan, email: lebedevaleena@gmail.com)

Chunetova Zhanar – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Biology and Biotechnology, al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, email: chanar-79-16-06@mail.ru)

Altybayeva Nazgul – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Biology and Biotechnology, al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, email: chanar-79-16-06@mail.ru)

Dauletbayeva Saniya – Candidate of Biological Sciences, Senior Lecturer at the Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Biology and Biotechnology, al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, email: ds.bolatovna@gmail.com)

Авторлар туралы мәлімет:

Айташева Зауре Гайнетдиновна (корреспонденттік автор) – биология ғылымдарының докторы, Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ биология және биотехнология факультеті молекулалық биология және генетика кафедрасының профессоры (Алматы, Қазақстан, email: zaureaitasheva@gmail.com)

Жумабаева Бейбитгуль Акималиевна – биология ғылымдарының кандидаты, Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ биология және биотехнология факультеті молекулалық биология және генетика кафедрасының доценті (Алматы, Қазақстан, email: beibytgul.zhumabaeva@kaznu.kz)

Лебедева Лина Павловна – ауыл шаруашылығы ғылымдарының магистрі, Генетика және физиология институтының ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан, email: lebedevaleena@gmail.com)

Чунетова Жанар Жумабековна – биология ғылымдарының кандидаты, Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ биология және биотехнология факультеті молекулалық биология және генетика кафедрасының доценті (Алматы, Қазақстан, email: chanar-79-16-06@mail.ru)

Алтыбаева Назгуль Абдуллаевна – биология ғылымдарының кандидаты, Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ биология және биотехнология факультеті молекулалық биология және генетика кафедрасының доценті (Алматы қ., Қазақстан, email: gulnazai1977@mail.ru)

Даулетбаева Сания Болатовна – биология ғылымдарының кандидаты, Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ биология және биотехнология факультеті молекулалық биология және генетика кафедрасының аға оқытушысы (Алматы, Қазақстан, электрондық пошта: Сания Даулетбаева ds.bolatovna@gmail.com)

Информация об авторах:

Айташева Зауре Гайнетдиновна (автор-корреспондент) – д.б.н., профессор кафедры молекулярной биологии и генетики факультета Биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, email: zaureaitasheva@gmail.com)

Жумабаева Бейбитгуль Акималиевна – к.б.н., доцент кафедры молекулярной биологии и генетики факультета Биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, email: beibytgul.zhumabaeva@kaznu.kz)

Лебедева Лина Павловна – магистр сельскохозяйственных наук, научный сотрудник Института Генетики и физиологии (Алматы, Казахстан, email: lebedevaleena@gmail.com)

Чунетова Жанар Жумабековна – к.б.н., доцент кафедры молекулярной биологии и генетики факультета Биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, email: chanar-79-16-06@mail.ru)

Алтыбаева Назгуль Абдуллаевна – к.б.н., доцент кафедры молекулярной биологии и генетики факультета Биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, email: gulnazai1977@mail.ru)

Даулетбаева Сания Болатовна – к.б.н., старший преподаватель кафедры молекулярной биологии и генетики факультета Биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, email: ds.bolatovna@gmail.com)

Поступило 4 ноября 2024 года

Принято 20 мая 2025 года

АВТОРЛАРҒА АРНАЛҒАН АҚПАРАТ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ INFORMATION FOR AUTHORS

Требования к научной статье для опубликования в журнале «Вестник КазНУ. Серия биологическая»:

✓ Редакционная коллегия принимает ранее неопубликованные экспериментальные статьи по научным направлениям журнала. Статья представляется в электронном формате (в форматах .doc, .docx, .rtf) ТОЛЬКО посредством ее загрузки через функционал сайта журнала (Open Journal System или Editorial Manager).

✓ Кегль шрифта – 12 (аннотация, ключевые слова, литература – 10, текст таблиц – 9-11), шрифт – Times New Roman, выравнивание – по ширине текста, интервал – одинарный, абзацный отступ – 0,8 см, поля: верхнее и нижнее – 2 см, левое и правое – 2 см.

✓ Объем статьи (без учета названия, сведений об авторах, аннотации, ключевых слов, библиографического списка) должен составлять не менее 1 500-7 000 слов для естественнонаучных и технических направлений.

✓ При подаче статьи авторы должны отправить заполненную заявку, сопроводительное письмо и рукопись статьи, оформленную по нижеуказанным правилам.

✓ Авторы в ОБЯЗАТЕЛЬНОМ порядке должны указать в сопроводительном письме в системе Open Journal System или Editorial Manager о том, что направляемая статья/рукопись нигде ранее не публиковалась, и что в статье отсутствуют заимствованные фрагменты текста из других работ без ссылок на них.

✓ Порядок оплаты и стоимость за публикацию статьи устанавливается издательским домом «Қазақ университеті» и производится автором после одобрения внешними рецензентами и научным редактором.

Структура статьи:

Работы, оформленные без соблюдения этих правил, возвращаются без рассмотрения.

Первая страница:

Первая строка – номер МРНТИ

Название статьи (Заголовок)

Автор(ы) статьи

Орсид ID номера авторов

Сокращения и обозначения

Аннотация

Ключевые слова/словосочетания

Первая строка – номер МРНТИ (в исключительных случаях УДК), выравнивание – по левому краю, шрифт – полужирный. Номер МРНТИ необходимо найти на сайте <http://grnti.ru/>.

Название статьи (Заголовок) должно отражать суть и содержание статьи и привлекать внимание читателя. Название должно быть кратким, информативным и не содержать жаргонизмов или аббревиатур. Оптимальная длина заголовка – 5-7 слов (в некоторых случаях 10-12 слов). Название статьи должно быть представлено на русском, казахском и английском языках. Название статьи представляется полужирным шрифтом строчными буквами, выравнивание – по центру.

✓ **Автор(ы) статьи** – количество авторов не ограничено. В список должны входить данные авторов, которые имеют прямое отношение к написанию статьи, те кто выполнял эксперименты и получил данные и результаты, отраженные в статье, те кто является автором основной идеи публикации.

Сведения об авторах представляются обычным шрифтом строчными буквами, выравнивание – по центру. Принадлежность авторов к определенному месту работы указывается в виде надстрочных индексов до фамилии^{1,2,3}. Авторы из одной и той же организации указываются под одинаковой надстрочной цифрой. Для авторов КазНУ обязательное указание ID номеров ORCID с использованием гиперссылки в значке , для авторов сторонних организаций по желанию. Корреспондентный автор отмечается надстрочным знаком*.

¹Инициалы и фамилия, ²Инициалы и фамилия*

¹место работы (аффилиация), страна, город

²место работы (аффилиация), страна, город

*Корреспондентный автор – e-mail

Корреспондентным автором является тот автор, который ведет переписку с редакцией до и после печати и отвечает на все замечания и исправления по статье. Важно указать действующий электронный адрес и контактные данные при подачи статьи.

1. **Сокращения и обозначения** – если имеются.

✓ **Аннотация** объемом **не менее 150 слов, не более 300 слов** на русском, казахском и английском языках.

○ Структура аннотации включает в себя следующие **ОБЯЗАТЕЛЬНЫЕ пункты**:

1. Вступительное слово о теме исследования.

2. Цель, основные направления и идеи научного исследования.

3. Краткое описание научной и практической значимости работы.

4. Краткое описание методологии исследования.

5. Основные результаты и анализ, выводы исследовательской работы.

6. Ценность проведенного исследования (внесенный вклад данной работы в соответствующую область знаний).

7. Практическое значение итогов работы.

✓ **Ключевые слова/словосочетания** – количеством 3-5 на русском, казахском и английском языках.

Последующая страница (новая):

Введение

Материалы и Методы

Результаты и Обсуждение

Заключение, выводы

Благодарности

Источник финансирования

Конфликт интересов

Литература

Введение состоит из следующих основных элементов:

✓ Обоснование выбора темы; актуальность темы или проблемы. В обосновании выбора темы на основе описания опыта предшественников сообщается о наличии проблемной ситуации (отсутствие каких-либо исследований, появление нового объекта и т.д.). Актуальность темы определяется общим интересом к изученности данного объекта, но отсутствием исчерпывающих ответов на имеющиеся вопросы, она доказывается теоретической или практической значимостью темы.

✓ В секции должны быть охвачены фундаментальные и новые труды по исследуемой тематике зарубежных авторов на английском языке (не менее 15 трудов), анализ данных трудов с точки зрения их научного вклада, а также пробелы в исследовании, которые Вы дополняете в своей статье.

✓ Определение объекта, предмета, целей, задач, методов, подходов, гипотезы и значения вашей работы. Цель исследования связана с доказательством тезиса, то есть представлением предмета исследования в избранном автором аспекте.

Материалы и Методы – должны состоять из описания материалов и хода работы, а также полного описания использованных методов.

✓ Характеристика или описание материала исследования включает его представление в качественном и количественном отношении. Характеристика материала – один из факторов, определяющий достоверность выводов и методов исследования.

✓ В этом разделе описывается, как проблема была изучена: подробная информация без повторения ранее опубликованных установленных процедур; используется идентификация оборудования (программного обеспечения) и описание материалов, с обязательным внесением новизны при использовании материалов и методов.

✓ Научная методология должна включать в себя:

✓ - исследовательский вопрос(-ы);

✓ - выдвигаемую гипотезу (тезис);

✓ - этапы исследования;

✓ - методы исследования;

✓ - результаты исследования.

✓ НЕДОПУСТИМО наличие множества ссылок, не имеющих отношения к работе, или неуместные суждения о ваших собственных достижениях, ссылки на Ваши предыдущие работы.

Результаты и Обсуждение – приводится анализ и обсуждение полученных вами результатов исследования. Приводятся выводы по полученным в ходе исследования результатам, раскрывается основная суть. И это один из самых важных разделов статьи. В нем необходимо провести анализ результатов своей работы и обсуждение соответствующих результатов в сравнении с предыдущими работами иностранных и отечественных авторов, анализами и выводами.

Заключение, выводы

Обобщение и подведение итогов работы на данном этапе; подтверждение истинности выдвигаемого утверждения, высказанного автором, и заключение автора об изменении научного знания с учетом полученных результатов. Выводы не должны быть абстрактными, они должны быть использованы для обобщения результатов исследования в той или иной научной области, с описанием предложений или возможностей дальнейшей работы.

Структура заключения должна содержать следующие вопросы: Каковы цели и методы исследования? Какие результаты получены? Каковы выводы? Каковы перспективы и возможности внедрения, применения разработки?

Конфликт интересов – желательно указать имеющиеся конфликты интересов со стороны авторов и соавторов касательно материалов статьи. Если нет никаких конфликтов к опубликованию материалов в статье, указать, что авторы не имеют конфликта интересов.

Благодарности – Перечислите людей, которые оказали помощь во время исследования (например, предоставили помощь в переводе, письменную помощь или предоставили материал/оборудование для работы и т.д.)

Источник финансирования – Следует указать в рамках какого проекта или программы была выполнена работа, указать год и номер договора по проекту/программе.

Литература

Список используемой литературы, или Библиографический список состоит из не менее 25 наименований литературы для естественнонаучных и технических направлений и из общего числа наименований на английском языке должно быть не менее 50%.

Для естественнонаучных статей ссылки оформляются в квадратных скобках с указанием нумерации по мере появления цитируемых работ в тексте. Стиль оформления списка литературы согласно ГОСТ 7.1-2003 «Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления» (требование к изданиям, входящих в перечень ККСОН).

Далее следует второй список литературы (**References**, который должен быть предоставлен в другой форме, то есть – романизированным алфавитом (транслитерация). **References** ТОЛЬКО те работы, которые цитируются в тексте. Reference оформляется в алфавитном порядке!

Романизированный список литературы должен выглядеть в следующем виде для источников на кириллице: автор(-ы) (транслитерация) → (год в круглых скобках) → название статьи в транслитерированном варианте [перевод названия статьи на английский язык в квадратных скобках], название русскоязычного источника (транслитерация, либо английское название – если есть), выходные данные с обозначениями на английском языке.

Например: Gokhberg L., Kuznetsova T. (2011) *Strategiya-2020: novye kontury rossiiskoi innovatsionnoi politiki* [Strategy 2020: New Outlines of Innovation Policy]. *Foresight-Russia*, vol. 5, no 4, pp. 8–30.

Стиль оформления Романизированного списка литературы из источников на английском (другом иностранном) языке для естественнонаучных и технических направлений – Chicago Style (www.chicagomanualofstyle.org).

Cramer W., Bondeau A., Woodward F.I., Prentice I.C., Betts R.A., Brovkin V., Cox P.M., Fisher V., Foley J.A., Friend A.D., Kucharik C., Lomas M.R., Ramankutty N., Sitch S., Smith B., White A., Young-Molling C. (2001) Global response of terrestrial ecosystem structure and function to CO₂ and climate change: Results from six dynamic global vegetation models. *Glob. Change Biol.*, vol. 7, pp. 357–373.

В данном разделе необходимо учесть:

- Цитируются основные научные публикации, передовые методы исследования, которые применяются в данной области науки и на которых основана работа автора.
- Избегайте чрезмерных самоцитирований.
- Избегайте чрезмерных ссылок на публикации авторов СНГ/СССР, используйте мировой опыт (Pubmed, Web of Science). Не следует ссылаться на энциклопедии, монографии, диссертации и материалы, на которые нет общего доступа.
- Библиографический список должен содержать фундаментальные и наиболее актуальные труды, опубликованные известными зарубежными авторами и исследователями по теме статьи.

Стоимость публикации – 2000 тенге/страница

Реквизиты:

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный университет имени Аль-Фараби»

Индекс 050040

адрес: г. Алматы, пр. аль-Фараби 71

БИН 990140001154

КБЕ 16

АО «First Heartland Jýsan Bank»

ИИК KZ19998CTB0000567141 – тенге

ИИК KZ40998CTB0000567151 – USD

БИК TSESKZKA

МАЗМҰНЫ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

1-бөлім Ботаника	Section 1 Botany	Раздел 1 Ботаника
А.А. Алиханова, Б.Б. Осмонали, Е.К. Турусбеков, Ш.С. Альмерекова Особенности распространения редкого вида <i>Iris kuschakewiczii</i> B. Fedtsch. на территории Казахстана 4		
Ә.Ж. Жұманиязова, Б.М. Силыбаева, Ж.Т. Букабаева, Н.С. Кунанбаева, А.Н. Ануарбекова Семейдің қарағайлы орманында өсетін қыналардың таксономиялық бірліктерін зерттеу 17		
2-бөлім Молекулалық биология	Section 2 Molecular biology	Раздел 2 Молекулярная биология
T.S. Kazanbassov, B.K. Isakov, A.V. Zhigailov Cloning, mutation and expression of <i>PiORF4</i> cDNA gene in <i>Escherichia coli</i> cells and purification of <i>PiORF4</i> (E9d)-6His recombinant protein 34		
З. Мейрманова, С. Кожахметов, Н. Муханбетжанов, Е. Виноградова, Ж. Джармуханов, С. Кожахметова, М. Моренко, К. Шнайдер, А. Дуйсебаева, А. Кушугулова Продольное исследование микробиома обнаруживает раннее преобладание <i>Bacteroides</i> в качестве потенциального биомаркера аутизма: клинический случай у ребенка с последствиями для метаболизма витамина B12 44		
N.M. Kerimbek, R.T. Kenzhebekova, A.I. Kapytina, D.A. Gritsenko Detection of grapevine fanleaf virus by new gRNAs 53		
З.Б.Сапахова, З.Б.Стамгалиева, Р.Канат, Д.Дауров, А.Даурова, К.Жамбакин, М.Шамекова Өсімдік геномын өндеуге арналған вирустық векторға негізделген CRISPR/Cas..... 62		
Б.С. Усербаев, К.Т. Султанкулова, Б.Н. Жұмаділ, О.В. Червякова, Г.О. Шыныбекова, Н.С. Кожабергенов Разработка праймеров, зонда и положительного контроля для диагностики COVID-19 75		
4-бөлім Зоология	Section 4 Zoology	Раздел 4 Зоология
B.T. Berdikulov, Y.V. Akentyeva, A.E. Tashimova, A.E. Gavrilo Post-fledging behaviour of a juvenile eastern imperial eagle (<i>Aquila heliaca</i>) tracked by GPS in the Taukum desert, southern Balkhash region in Kazakhstan..... 90		
Н.А. Бижанова, А.Ю. Олейников, С.С. Кантарбаев Млекопитающие в экосистеме поймы реки Иртыш: экосистемные услуги, экономическое значение и антропогенная нарушенность 105		
5-бөлім Биотехнология	Section 5 Biotechnology	Раздел 5 Биотехнология
Г.К. Кайырманова, Ә.Е Асылбек, А.К. Ерназарова, Ү.Т. Шаймерденова, А.Ж. Нурканова Изучение микробного и физико-химического статуса пластовых вод нефтяного месторождения «Терен-Узек» 126		
N. Akmukhanova, S. Seilbek, R. Bakytzhan, G. Domash, S. Amin Biodiversity of microalgae and cyanobacteria in cotton field ecosystems of the Turkestan region 137		

6-бөлім
Адам мен жануарлар
физиологиясы

Section 6
Humans and
animals physiology

Раздел 6
Физиология человека
и животных

G.R. Smagul, Yu.A. Sinyavskiy, D.N. Tuigunov, Y.N. Omarov

Assessment of antioxidant status of rats at the background of consumption of specialized chocolate with lead acetate exposure 150

Шолу мақалалар

Review articles

Обзорные статьи

Abdul Bari Hejran, Faridon Niazay, Barbara Sawicka, Parwiz Niazi

Mechanisms of Langya henipavirus (LayV) pathogenesis: genome function, host cell infection, and strategies of immune evasion 160

З.Г. Айташева, Б.А. Жумабаева, Л.П. Лебедева, Ж.Ж. Чунетова, Н.А. Алтыбаева, С.Б. Даулетбаева

Расширение, экологизация посевов и разработка молекулярно-генетического алгоритма для эспарцета в условиях Алматинской области 179

Авторларға арналған ақпарат 194