

Основан 22.04.1992 г.
Регистрационное
свидетельство № 766.
Перерегистрирован
Министерством культуры,
информации и общественного
согласия Республики Казахстан
25.11.99 г.
Регистрационное
свидетельство №956-Ж

Редакционная коллегия:
Шалахметова Т.М., д.б.н., проф.,
(научный редактор)
Гончарова А.В., к.б.н., доцент
(ответственный секретарь)
тел.: 377-33-29
Мухитдинов Н.М., д.б.н., проф.,
Айдосова С.С., д.б.н.,
Карпенюк Т.А., д.б.н., проф.,
Иващенко А.Т., д.б.н., проф.,
Айташева З.Г. д.б.н.,
Бисенбаев А.К., к.б.н., доц.,
Шулембаева К.К., д.б.н., проф.,
Нуртазин С.Т., д.б.н., проф.,
Сапаров К.А., д.б.н., проф.,
Олжабекова К.Б., к.б.н., доцент,
Шигаева М.Х., д.б.н., проф.,
Жубанова А.А., д.б.н., проф.,
Мукашева Т.Ж., д.б.н.,
Тулеуханов С.Т., д.б.н., проф.

Вестник КазНУ
Серия биологическая
№ 1 (43) 2010 г.
ИБ № 4756

Подписано в печать 26.03.2010.
Формат 90x110 1/8.
Бумага офсетная № 1.
Печать офсетная. Уч.-изд.л. 16.
Тираж 500 экз. Заказ № 053
Цена договорная.
Издательство «Қазақ
университеті» Казахского
национального университета
имени аль-Фараби.
050038, г. Алматы,
пр. аль-Фараби, 71, КазНУ.
Отпечатано в типографии
издательства
«Қазақ университеті»

СОДЕРЖАНИЕ:

БОТАНИКА

- Кайсағалиева Г.С.** Динамика содержания азота и зольных элементов в лиманных сообществах Урало-Кушумского междуречья3
Нұрмаханова А.С., Айдарбаева Д.Қ. Күршім жотасындағы дәрілік өсімдіктердің таралуы7
Тыныбеков Б.М., Мухитдинов Н.М., Бегенов А.Б., Курбатова Н.В., Литвиненко Ю.А. Фитохимическое исследование корней щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.) выращенного в условиях культуры12

БИОТЕХНОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

- Бейсева Г.Б.** Техногенді ластанған риддер кен орнының ландшафтарында өсетін өсімдіктердің құрамындағы ауыр металдар14
Бейсембаева Р.У., Бедарева Т.Е., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В. Исследование каталитических свойств PGN-синтазы простагландинсинтазной системы клеток крови и мышц овец21
Бейсембаева Р.У., Карпенюк Т.А., Бедарева Т.Е., Гончарова А.В. Влияние факторов среды на каталитические свойства PGN-синтазы клеток крови овец26
Берилло О.А., Хайленко В.А., Иващенко А.Т. Свойства генов, участвующих в развитии рака пищевода.....30
Иващенко А.Т., Хайленко В.А., Берилло О.А., Исабекова А.С., Атамбаева Ш.А., Кабдуллина А.А. Проблемы ранней молекулярной диагностики онкологических заболеваний.....34
Кабдуллина А.А., Тауасарова М.К., Иващенко А.Т. Связь числа интронов в гене с долей генов с интронами в геномах низших и высших эукариот41
Сартбаева И.Ә., Амирова А.К., Бишимбаева Н.Қ. Бидайдың суспензиялы культурасының өсу динамикасы және клеткалар популяциясының құрамы ...46
Ырғынбаева Ш.М., Кузовлев В.А., Фурсов О.В. Локализация, свойства и регуляция β-амилазы зерна пшеницы.....49
Джокебаева С.А. Влияние биологически активных препаратов из цианобактерий на устойчивость сельскохозяйственных культур к пониженным температурам и перегреву53
Богуспаев К.К. Индукция процессов морфогенеза в культуре изолированных пыльников у гибридов и родительских форм твердой пшеницы *Triticum durum*.....56
Мусалдинов Т.Б. Влияние культуральной суспензии микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijr., UA-1-20 на продуктивность и индукцию устойчивости огурцов к корневой гнили в защищенном грунте61

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

- Есимбекова М.А.** Скорость развития до колошения в различных эколого-географических зонах возделывания мягкой пшеницы в казахстане – система Vrn генов.....66
Жангазиев А.С. Селекция озимой пшеницы на устойчивость к желтой ржавчине в условиях Алматинской области.....71

Колумбаева С.Ж. Влияние биологически активных веществ природного происхождения на частоту хромосомных aberrаций, индуцированных сульфатом кадмия.....	73
Губицкая Е.Г. Репликативный синтез ДНК в клетках крови человека предоблученных дозами 1-4 Гр.....	77
Турилова В.И. Динамика структуры кариотипа клеточных линий множественной миеломы человека в условиях их длительного существования in vitro.....	80

ГИСТОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ

Абдрешов С.Н., Ахметбаева Н.А. Адренегрическая иннервация кровеносных сосудов конечности у крыс в условиях микрогравитации.....	87
Есимситова З.Б., Нуртазин С.Т., Синявский Ю.А., Манкибаева С.А. Гистологическое изучение желудка крыс при действии гамма - облучения и специализированных продуктов	89
Супниязова Т.А., Перфильева Ю.В., Тлеулиева Р.Т., Беляев Н.Н. Разработка метода обогащения фракции мононуклеаров периферической крови человека CD34 ⁺ гемопоэтическими стволовыми/прогениторными клетками (ГС/ПК).....	92
Шарипов И.К., Сарсекеева Г.Ж., Жомартов А.М., Жапбасов Р., Тойшибеков Е.М., Буленова А.С., Всеволодов Э.Б., Латыпов И.Ф., Мусаева А.С. Некоторые характерные признаки ягнят четырех аборигенных пород и отродий овец Казахстана, включенных в коллекцию сохраняемых генотипов.....	96

ЗООЛОГИЯ

Акоев М.Т., Есенбекова П.А. Алтынемел ұлттық бағының жартылай қаттықанаттылары (<i>Heteroptera</i>) фаунасына.....	102
Әбділдаев М.Ә., Губайдулин Н.А., Мамитов Н.Ш., Бакқожа Н., Сапарбаева А.А. <i>Hypseleotris cinctus</i> (Dabry de Thiersant) – қансорғыш масалардың табиғи жыртқыштарының бірі.....	105
Кикимов Н.Н., Карпов Ф.Ф. К зимней орнитофауне Восточной оконечности Заилийского Алатау.....	107
Крупа Е. Г., Амиргалиев Н. А., Лопарева Т.Я., Исаева А. К., Биманбаева Б. Б. Зоопланктон озера Алаколь и его распределение в зависимости от минерализации и химического состава воды.....	111
Сапарбаева А.А., Есенбекова П.А. Солтүстік Тянь-Шань тау етегі су қоймаларының қансорғыш масалары (<i>Diptera, Culicidae</i>).....	116
Смирнова Д.А. Веснянки (<i>Plecoptera</i>) Заилийского Алатау: изученность и перспективы исследований...	118

МИКРОБИОЛОГИЯ

Гибдилова А.М., Темирбеков Ж.Т. Мониторинг распространения сальмонеллезных культур в объектах внешней среды Акмолинской области.....	123
Низамдинова Г.К. Бактериальный рак томата в условиях Алматинской области.....	126
Goma M.A.E., Ayad E., Soda M., Darwish S. Isolation and identification of novel human-probiotic cultures.....	129

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ, БИОФИЗИКА

Ағаділова Ә.Б., Мухамедьярова Ә.С., Парманбекова М.Х. Қорғасын тұзымен уланғандағы күйіс қайыратын малдардың ағзасындағы азоттық алмасуға цеолиттің әсері.....	134
Төлеуханов С.Т., Атанбаева Г.Қ., Бақтыбаева Л.Қ., Ургалиев Ж.Ш. Егеуқұйрықтардың қанының лейкограммасына ауыр металдардың әсері.....	136

ЮБИЛЕИ

Выдающийся ботаник-ресурсовед Казахстана. К 70-летию со дня рождения члена - корреспондента НАН РК Мадениета Каратаевича Кукенова.....	142
--	-----

БОТАНИКА

УДК 911.2:581.9:581.52

Кайсағалиева Г.С.

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ АЗОТА И ЗОЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ЛИМАННЫХ СООБЩЕСТВАХ УРАЛО-КУШУМСКОГО МЕЖДУРЕЧЬЯ

(Западно-Казахстанский государственный университет им. М.Утемисова)

*В статье приводятся результаты исследования биологического круговорота азота и зольных элементов в бекманиево-осоково-пырейном (*Elytrigia repens-Carex melanostachya-Beckmania eruciformis*) сообществе лиманов Урало-Кушумского междуречья. В этом сообществе кремниевозотный тип биологического круговорота с ведущими элементами калием и кальцием, что указывает на то, что это сообщество может поддерживать высокое плодородие почвы. Пятое место иона хлора говорит о фитомелиоративном воздействии этого сообщества, так как при сенокосении хлор уносится с сеном с данной экосистемы и его содержание в почве медленно уменьшается.*

Биологический круговорот зольных элементов и азота – один из важнейших вопросов проблемы взаимоотношений между растительностью и почвой. Именно они, являясь главной составляющей биогеоценоза, наиболее ясно очерчивают его границы и выражают его сущность [1].

Под биологическим круговоротом понимается поступление элементов из почвы и атмосферы в живые организмы, биохимический синтез с образованием новых сложных соединений и возвращение элементов в почву и атмосферу с ежегодным опадом части органического вещества или с полностью отмершими организмами входящими в состав биогеоценоза [2].

Почва является основным источником азота и зольных элементов, которую растительность накапливает в своей фитомассе в процессе вегетации. В ходе биологического круговорота осуществляется обогащение почвы перегноем, азотом, элементами минерального питания, что в сочетании с другими изменениями среды создает благоприятные условия для жизни растительного сообщества.

Материалы и методы

Объектом наших исследований являлось изучение поступления в растительный организм азота и зольных элементов, поступление в почву отмерших растений или их частей (как надземной так и подземной), разложение их и освобождения заключенных в них элементов. По количеству вовлекаемых зольных элементов и азота это самая существенная часть биологического круговорота [3,4,5,6,7].

Методы исследований приведены в методических пособиях Л.Е. Родина, Н.П. Ремезова, Н.М.Базилевич и других [8-11]. Описанные методы позволили выявить закономерности функционирования биогеоценозов, движение химического вещества в системе «растение-почва», установить доминирующий тип биологического круговорота для основных сообществ Урало-Кушумского междуречья, что представляет возможность прогнозирования изменений в функционировании этих сообществ.

Результаты и их обсуждение

Результаты этих исследований выявили характерные особенности биологического круговорота азота и зольных элементов каждого растительного сообщества и вместе с тем их общность. В результате проводимых исследований выявлено следующее:

- содержание азота и калия уменьшается к концу вегетации доминирующих видов сообщества, а содержание кальция и кремния, наоборот увеличивается к осени. В период цветения и плодоношения доминирующих видов содержание фосфора и магния максимально;
- надземные однолетние органы богаты калием, по сравнению с подземными;
- надземная и подземная мортмасса содержит значительное количество кальция;
- в живых корнях велико содержание алюминия и железа;
- во всех сообществах Урало-Кушумского междуречья содержание количества фосфора выше содержания серы.

Изучение химического состава сообщества проводилось и во внутрисезонной динамике, что позволяет с достаточной полнотой изучить биологический круговорот элементов в фитоценозах.

Динамику концентрации азота и зольных элементов в подземных и надземных органах бекманиево-осоково-пырейного (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya*-*Beckmania eruciformis*) сообщества можно проследить в таблицах 1-7. Из всех элементов в надземной фитомассе больше всего содержится азота, концентрация которого высокая в начале вегетации растительности сообщества, а осенью содержание его в зеленой массе понижается (таблица 1).

Типичную динамику содержания мы наблюдаем таких элементов, как магний, фосфор и калий. В надземной фитомассе концентрация кремния, кальция и хлора в сентябре выше, чем в мае.

Таблица 1 - Динамика содержания азота и зольных элементов в зеленой фитомассе бекманиево-осоково-пырейного (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya*-*Beckmania eruciformis*) сообщества, в % на абс. сухое вещество

Месяцы	Химические элементы										
	N	S i	Ca	K	M g	P	Fe	S	Na	Cl	Сумма
Май	1,64	1,12	0,37	0,98	0,13	0,20	0,03	0,12	0,09	0,20	4,88
Июнь	1,60	1,23	0,42	1,10	0,14	0,16	0,04	0,11	0,08	0,35	5,23
Июль	1,53	1,42	0,49	1,00	0,13	0,16	0,03	0,13	0,14	0,29	5,32
Август	1,37	1,69	0,53	0,99	0,10	0,13	0,04	0,10	0,07	0,30	5,32
Сентябрь	1,22	2,00	0,57	0,93	0,12	0,15	0,03	0,10	0,08	0,28	5,48

Живые корни обогащены азотом в меньшей степени, но по содержанию этот элемент стоит на первом месте (таблица 2).

Таблица 2 - Динамика содержания азота и зольных элементов в живых корнях бекманиево-осоково-пырейного (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya*-*Beckmania eruciformis*) сообщества, в % на абс. сухое вещество

Месяцы	Химические элементы										
	N	Si	Ca	K	Mg	P	Fe	S	Na	Cl	Сумма
Май	1,48	0,92	0,28	0,85	0,08	0,12	0,04	0,14	0,04	0,18	4,13
Июнь	1,52	1,05	0,30	0,94	0,09	0,10	0,03	0,16	0,07	0,20	4,46
Июль	1,51	1,11	0,33	0,90	0,10	0,11	0,04	0,10	0,08	0,23	4,51
Август	1,54	1,18	0,30	0,90	0,09	0,10	0,03	0,12	0,06	0,20	4,52
Сентябрь	1,36	1,24	0,37	0,87	0,12	0,10	0,06	0,11	0,05	0,22	4,5

В мае концентрация азота чуть меньше, чем в летние месяцы, но к осени содержание его резко уменьшается. В начале вегетации кремний содержится в незначительном количестве, затем постепенно содержание его увеличивается и в сентябре достигает максимума (1,24). Содержание алюминия, натрия, магния и хлора минимально в мае, в течение летней вегетации постепенно увеличивается. У железа наблюдается тенденция увеличения в осеннее время.

Сравнивая концентрацию азота и зольных элементов в надземной и подземной фитомассе (таблица 3) видим, что надземная фитомасса обогащена кремнием, калием, натрием, хлором, фосфором и кальцием. Железа и серы в корнях чуть больше, чем в зеленой массе. Содержание азота, магния почти равны.

Таблица 3 - Отношение содержания азота и зольных элементов в бекманиево-осоково-пырейном (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya*-*Beckmania eruciformis*) сообществе

Блок	Химические элементы										
	N	Si	Ca	K	Mg	P	Fe	S	Na	Cl	Сумма
KG/KR	0,99	1,35	1,5	1,12	1,2	2,66	0,75	1	1,5	1,3	1,18
KD/KG	0,65	1,42	1,06	0,54	0,83	0,37	2,3	0,64	2,4	1,28	0,96
KL/KD	1,26	0,79	0,61	1,20	0,8	1,33	0,71	1,28	0,41	0,5	0,88
KV/KR	0,5	1,78	0,81	0,20	0,9	0,54	2,25	0,91	1	0,33	0,83

Сезонная динамика концентрации азота и зольных элементов в ветоши заметно варьирует, так как она определяется процессом отмирания живых зеленых частей растения и переходом их в ветошь. Для азота максимальное значение характерно в конце июля, в начале августа, так как в этот засушливый период значительная часть зеленых органов отмирает (таблица 4). Калий содержится в максимальном количестве в сентябре.

Таблица 4 - Динамика содержания азота и зольных элементов в ветоши бекманиево-осоково-пырейного (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya*-*Beckmania eruciformis*) сообщества, в % на абс. сухое вещество

Месяцы	Химические элементы										
	N	Si	Ca	K	Mg	P	Fe	S	Na	Cl	Сумма
Май	0,93	1,94	0,40	0,48	0,09	0,07	0,07	0,05	0,17	0,30	4,59
Июнь	0,94	1,97	0,49	0,50	0,10	0,06	0,12	0,07	0,19	0,32	4,76
Июль	0,98	2,10	0,54	0,52	0,11	0,05	0,08	0,08	0,22	0,36	5,04
Август	1,00	2,20	0,60	0,58	0,09	0,05	0,05	0,07	0,24	0,40	5,28
Сентябрь	0,97	2,40	0,52	0,60	0,10	0,06	0,04	0,09	0,29	0,42	5,48

Содержание кремния, натрия и калия также увеличивается к осени. Отношение концентрации химических элементов в ветоши и надземной фитомассе (D/G), показывает, что содержание многих химических элементов в ветоши ниже, за исключением кремния, железа и натрия (таблица 3).

Содержание кремния, кальция и железа чуть ниже в подстилке, чем в ветоши. Содержание азота, калия и фосфора в подстилке превышает концентрацию таковых в ветоши. Остальные элементы содержатся примерно в одинаковых количествах (таблица 5).

Таблица 5 - Динамика содержания азота и зольных элементов в подстилке бекманиево-осоково-пырейного (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya*-*Beckmania eruciformis*) сообщества, в % на абс. сухое вещество

Месяцы	Химические элементы										
	N	Si	Ca	K	Mg	P	Fe	S	Na	Cl	Сумма
Май	1,15	1,60	0,32	0,64	0,08	0,09	0,04	0,07	0,08	0,18	4,25
Июнь	1,19	1,64	0,36	0,68	0,09	0,07	0,06	0,08	0,09	0,17	4,43
Июль	1,20	1,66	0,41	0,70	0,08	0,07	0,05	0,10	0,07	0,21	4,56
Август	1,25	1,72	0,41	0,71	0,09	0,07	0,06	0,09	0,09	0,20	4,70
Сентябрь	1,28	1,80	0,34	0,62	0,08	0,09	0,05	0,12	0,12	0,21	4,76

Концентрация химических элементов в мертвых корнях намного ниже, чем в живых. Содержание азота, кремния, кальция к осени повышается (таблица 6). Фосфор в течение вегетационного периода изменяется незначительно. Железа в мертвых корнях больше чем в живых.

Таблица 6 - Динамика содержания азота и зольных элементов в мертвых корнях бекманиево-осоково-пырейного (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya*-*Beckmania eruciformis*) сообщества, в % на абс. сухое вещество

Месяцы	Химические элементы										
	N	Si	Ca	K	Mg	P	Fe	S	Na	Cl	Сумма
Май	0,70	1,90	0,28	0,18	0,10	0,06	0,08	0,09	0,07	0,08	3,54
Июнь	0,71	1,94	0,29	0,20	0,08	0,07	0,08	0,10	0,08	0,07	3,62
Июль	0,73	1,97	0,31	0,17	0,10	0,06	0,10	0,11	0,05	0,19	3,79
Август	0,74	1,99	0,33	0,18	0,11	0,04	0,09	0,12	0,07	0,07	3,74
Сентябрь	0,80	2,01	0,34	0,20	0,06	0,05	0,10	0,08	0,06	0,06	3,70

Химический состав надземной фитомассы бекманиево-осоково-пырейного (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya*-*Beckmania eruciformis*) сообщества определяется доминирующими видами. Фитомасса *Elytrigia repens* содержит много кремния, азота, хлора и фосфора. У *Carex stenophylla* содержание этих элементов намного ниже. Но максимальное количество азота, кремния и калия сосредоточено в фитомассе *Beckmania eruciformis*.

По концентрации азота и зольных элементов в фитомассе (таблица 7) бекманиево-осоково-пырейного (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya-Beckmania eruciformis*) сообщества можно представить следующий ряд:

Si	N	K	Ca	Cl	P	Mg	S	Na	Fe
1,49	1,47	1	0,48	0,28	0,16	0,12	0,11	0,09	0,03

Таблица 7 - Динамика содержания азота и зольных элементов в блоках бекманиево-осоково-пырейного (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya-Beckmania eruciformis*) сообщества, в % на абс. сухое вещество

Блок	Химические элементы										
	N	Si	Ca	K	Mg	P	Fe	S	Na	Cl	Сумма
G	1,47	1,49	0,48	1	0,12	0,16	0,03	0,11	0,09	0,28	5,23
D	0,96	2,12	0,51	0,54	0,10	0,06	0,07	0,07	0,22	0,36	5,01
L	1,21	1,68	0,31	0,65	0,08	0,08	0,05	0,09	0,09	0,20	4,44
R	1,48	1,10	0,32	0,89	0,10	0,11	0,04	0,11	0,06	0,21	4,42
V	0,74	1,96	0,26	0,18	0,09	0,06	0,09	0,10	0,06	0,07	3,61

В этом сообществе кремниевно-азотный тип биологического круговорота с ведущими элементами калием и кальцием, что указывает на то, что это сообщество может поддерживать высокое плодородие почвы. Пятое место иона хлора говорит о фитомелиоративном воздействии этого сообщества, так как при сенокосении хлор уносится с сеном с данной экосистемы и его содержание в почве медленно уменьшается.

Литература

- 1 Базилевич Н.И. Малый биологический круговорот зольных веществ и азота при лугово-степном и степном почвообразовании // Почвоведение.- 1958.- № 12. – С. 9-27
- 2 Базилевич Н.И. Обмен минеральных элементов в различных типах степей и лугов на черноземных каштановых почвах и солончаках. – В кн.: Проблемы почвоведения.- М.: Изд-во АН СССР.- 1962. – С.148-207
- 3 Родин Л.Е., Базилевич Н.И. Биологическая продуктивность основных типов растительности. – Докл. АН СССР.- 1964.- т.157.- №1.- С. 215 – 218
- 4 Родин Л.Е., Базилевич Н.И. Об биологической продуктивности растительного покрова. – В кн.: Проблемы современной ботаники.- Т.1. – Л.- 1965. – С. 237-242
- 5 Першина М.Н., Яковлева М.Е. Особенности биологического круговорота зольных элементов и азота в связи с почвообразованием в зоне сухих и пустынных степей. В кн.: Доклады VII конгресса почвоведов – 1964.-с.5-14
- 6 Фартушина М.М. Биологический круговорот в комплексной степи. – В кн.: Материалы межвузовского симпозиума «Изучение природы степей». – Одесса.- 1968.- С. 145-146.
- 7 Мирошниченко Ю.М. Содержание химических элементов в основных частях растений степной и пустынной зон МНР // Растительные ресурсы.-1977.- Т. XIII, вып. 3.- С. 541-553.
- 8 Краткое руководство для геоботанических исследований. – М.- 1952. – С. 17-150
- 9 Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.- 1961 – С. 116-348
- 10 Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во МГУ.- 1970. – С. 203-487
- 11 Гришина Л.А., Самойлова Е.М. Учет биомассы и химический анализ растений. – М.: Изд-во Московского университета. 1971. – С. 29-73.
- 12 Родин Л.Е. Ремезов Н.П. Базилевич Н.М. Методические указания к изучению динамики и биологического круговорота в фитоценозах. – Л.: Наука.- 1968. – С. 25-101.

Тұжырым

Мақалада Жайық-Көшім өзенаралығында субидайық-қиякөлең-бидайық (*Elytrigia repens* – *Carex melanostachya-Beckmania eruciformis*) көлтабан қауымдастығындағы азотпен күлді элементтердің биологиялық айналымының зерттеу нәтижелері келтірілген. Бұл қауымдастықта биологиялық айналымының кремний-азотты типі, калий, кальций негізгі элементтерімен, яғни бұл қауымдастық топырақтың жоғарғы құнарлығын қарастырады. Хлордың бесінші орында орналасуы бұл қауымдастықтың фитомелиоративті әсерін көрсетеді, себебі пішенді орган кезде экожүйеден хлор пішенмен бірге кетіп, топырақтағы мөлшері азаяды.

Summary

The results of the study of the biological rotation of the nitrogen happen to in article and zol element (Elytrigia repens-Carex melanostachya-Beckmania eruciformis) community estuary Ural-Kushum interfluve. In this community silicon-nitric type of the biological rotation with leading elements potassium and calcium that points of this community can support the high fertility of ground. The fifth place of the ion of chlorine speaks of phyto land-reclamatati on this community, since under haymaking ecosystem and its contents in ground slowly decreases.

УДК 581.5:633.88

Нұрмаханова А.С.,¹ Айдарбаева Д.Қ.²

КҮРШІМ ЖОТАСЫНДАҒЫ ДӘРІЛІК ӨСІМДІКТЕРДІҢ ТАРАЛУЫ

(¹әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, ²Ботаника және фитоинтродукция институты)

Мақалада Күршім жотасында кездесетін пайдалы өсімдіктер, соның ішінде дәрілік өсімдіктердің таралуы және қазіргі кездегі өсу жағдайлары туралы мәліметтер берілген.

Қазақстанның кең байтақ территориясы өсімдіктер түрлеріне бай. Оның ішінде маңызды болып саналатын медицинаға аса қажетті өсімдіктер тобы – дәрілік өсімдіктер. Пайдалы өсімдіктер, соның ішінде дәрілік өсімдіктер құрамындағы биологиялық белсенді қосылыстардың: дәрумендер, микроэлементтер, алкалоидтар, флавоноидтар және т.б. республикамыздың енді ғана дамып келе жатқан фитотерапиясы үшін маңызы зор. Дәрілік қасиеттері бар өсімдіктерді зерттеу барысында тек бұрыннан белгілі түрлердің ғана емес басқа да перспективті дәрілік өсімдіктердің емдік қасиеттерін анықтау кезек күттірмейтін мәселелердің бірі. Қазіргі таңда Қазақстан территориясында өсетін 6000-нан аса жоғары сатыдағы өсімдіктердің ішінде, дәрілік өсімдіктердің 216-дан астам түрі отандық ғылыми медицинада пайдаланылатыны белгілі [1].

Зерттеу жұмысының мақсаты: Қазақстанның Алтай таулары мен Күршім жотасына ресурстық зерттеулер жүргізу, осы өңірдің пайдалы және дәрілік өсімдіктерінің қазіргі жағдайын анықтау.

Зерттеу жұмысының міндеттері: Күршім жотасындағы «Қызыл-ағаш», «Қайыңды – бұлақ» шатқалының территориясында өсетін және «Марқакөл» көлінің маңында таралған өсімдіктер жамылғысымен дәрілік өсімдіктердің таралуын және осы шатқалдарында сирек кездесетін эндемикті, сондай-ақ, реликті және “Қызыл кітапқа” енген түрлерді зерттеу.

Жалпы еліміздің флорасының таралу ареалына келетін болсақ, Қазақстанның шығыс бөлігі соның ішінде Қазақстандық Алтай таулары мен Күршім жотасының өсімдіктер жамылғысы пайдалы өсімдік түрлеріне бай. Бұл Қазақстандық Алтай тау жүйелерінің өсімдіктер жамылғысы мен олардың таралуына әсер ететін негізгі маңызды факторлардың бірі осы аймақтың климаты болып табылады. Әрбір таулы аймақтың климаттық ерекшелігі оның тұрған орны мен аталмыш тау жүйесінің географиялық ерекшеліктеріне, биіктігіне байланысты. Яғни, беткейлердің экспозициясы мен абсолюттік биіктігі, құламалығы, сондай-ақ, топырақ және өсімдік жамылғысына айтарлықтай әсер етеді [1].

Күршім жотасы Алтай таулары сияқты үштік дәуірдің соңы мен төрттік дәуірдің алғашқы кезеңдерінде бірқатар тау жүйелерінің құрылуынан пайда болған. Жотадағы орташа таулардың биіктігі (2000-2500 м), ал тауаралық қазаншұңқырлардың биіктігі 600-1000 м. Күршім жотасының геологиялық құрылымы өте күрделі болғандықтан, ондағы қалыптасқан тектоникалық және экзогендік процесстердің әсерінен: биік таулы альпілік тік беткейлер, үстірттер, орта және аласа таулы алқаптар, сондай-ақ тауаралық жазықтар жиі кездеседі.

Жотаның ауа райы айтарлықтай континенттілігімен және ылғалдың мол түсуімен ерекшеленеді. Суық қаңтар айының температурасы 16-20⁰С, ал жылы шілде айларында температура 18-20⁰С төмен, ал жоғары 2000 м биікте 7-13⁰С, кейде 10⁰С аралығында ауытқып отырады. Жылдық жауын-шашын мөлшері 400-500 мм, ал жотаның биік таулы бөлігінде жауын-шашын мөлшері 1000 мм. Жауын-шашынның мөлшері шілде және тамыз айларында ең көп түседі, ал қыс айларында аз [2,3,4].

Күршім жотасы әкімшілік тұрғыдан Шығыс Қазақстан облысының толықтай дәрілік Күршім ауданын алып жатыр.

Күршім жотасындағы өсімдіктер жамылғысы жотаның географиялық ерекшелігіне қарай таралған. Аймақтағы өсімдіктер түрлерінің құрамы мен таралу ерекшеліктері биіктік белдеулер бойынша айтарлықтай өзгеріп отырады [5,6,7,8,9,10,11,12].

Күршім жотасына жүргізілген зерттеулер негізінде, аймақта жоғары сатыдағы өсімдіктердің 131 тұқымдас 693 туысқа қарасты 2450 түрі және дәрілік өсімдіктердің 60-тан астам түрі кездесетіндігі анықталды [5,6,7,8,9,10,11,12]. Жотаның тауалды жазықтарында әртүрлі-шөптесінді өсімдіктер арасында бұталы өсімдіктер жамылғысы жалпы өсімдіктер жамылғысының 75%-ын құрайды. Зерттеу ауданында пайдалы өсімдіктердің 45 түрінің кәсіптік маңызы бар екендігі анықталды. Олар: ақезу бәрпі (*Aconitum leucostomum* Worosch.), шегіршін лабазнигі (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.), орал миясы (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.), Лобель тамыр дәрісі (*Veratrum lobelinum* L.) және т.б. өсімдік түрлері.

Нәтижелері және оларды талдау

Күршім жотасына жүргізілген ресурстық зерттеулер нәтижесінде, аталмыш аймақтың солтүстік беткейіндегі «Маралды» елді-мекені маңындағы (теңіз деңгейінен 1108 м биіктікте) анықталған бұталы өсімдік түрлері: раушан (*Rosa* sp.), алтай қасқыржидегі (*Daphne altaica* Pall.), шэйкурайжапырақты тобылғы (*Spiraea hypericifolia* L.), үшсалалы тобылғы (*S. trilobata* L.), қара жемісті ырғай (*Cotoneaster melanocarpa* Lodd.), алтай үшқаты (*Lonicera altaica* Pall. ex DC.), татар үшқаты (*L. tatarica* L.) және т.б. өсімдік түрлері кең таралған. Сондай-ақ, жотадағы әртүрлі - шөптесінді өсімдіктер арасындағы кездесетін пайдалы өсімдіктердің құрылымы 45-түрді құрайды.

Күршім жотасындағы «Қызыл-ағаш» шатқалының территориясында өсетін алтай қасқыржидегінің (*Daphne altaica* Pall.) 3 га аумақты алып жатқан шоғырлары тау қыраттарының ашық далалы жерлерінде анықталды. Күршім жотасының «Қызыл-ағаш» шатқалы пайдалы өсімдіктерге соның ішінде дәрілік өсімдік түрлеріне бай. Жота шатқалдарындағы жоғарыда қарастырылған өсімдіктерден басқа, жиі кездесетін дәрілік өсімдік түрлері: ақезу бәрпі (*Aconitum leucostomum* Worosch.), биік тегеурінгүл (*Delphinium elatum* L.), кәдімгі таушымылдық (*Paeonia anomala* L.), орал миясы (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.), Лобель тамыр дәрісі (*Veratrum lobelinum* L.) және т.б. өсімдік түрлері.

Күршім жотасының оңтүстік беткейлерінде 3 шақырым қашықтықтағы (теңіз деңгейінен 1170 м) биіктікте орналасқан Майтерек елді-мекенінің солтүстік бөлігінде пайдалы өсімдіктердің бірқатар түрлері анықталды. Бұл аймақта пайдалы өсімдіктердің 45-тей түрі кездеседі. Солардың ішіндегі көптеп таралған түрлер: ақезу бәрпі (*Aconitum leucostomum* Worosch.), шегіршін лабазнигі (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) және т.б. түрлер. Ақезу бәрпі (*Aconitum leucostomum* Worosch.) орманды алқаптарда, өзен жағалауларында және қайыңды ағаштардың арасында кең таралған. Шатқалда ақезу бәрпінің (*Aconitum leucostomum* Worosch.) 1-1,5 га жер көлеміндегі бірнеше жолақ түрінде кездесетін және топтасып өскен шоғырлары анықталды. Бәрпінің (*Aconitum leucostomum* Worosch.) Майтерек ауылының солтүстік бөлігіне қарай «Қайыңды-бұлақ» өзенінің аңғарында айтарлықтай шоғырлары анықталды.

Төменде Күршім жотасының шатқалдары мен өзен аңғарларында кездесетін дәрілік өсімдіктердің флоралық түр құрамы қарастырылған:

I. Маралды елді-мекенінен 5 шақырым қашықтықта орналасқан «Қызыл-ағаш» шатқалының өсімдіктер жамылғысы: 1) раушанның бірнеше түрлері: *Rosa* sp: аран раушан (*R. spinosissima* L.), Альберт раушан (*R. alberti* Regel.), тікенді раушан (*R. acicularis* Lindl.), қотыр раушан (*R. laxa* Retz.) (cop); 2) қызыл тамыр қылша (*Ephedra intermedia* Schrenk et C. A. Mey.), татар үшқаты (*Lonicera tatarica* L.), қожақат таңқурайы (*Rubus caesius* L.), кәдімгі таңқурай (*Rubus idaeus* L.), қой бүлдірген таңқурайы (*Rubus saxatilis* L.), ақезу бәрпі (*Aconitum leucostomum* Worosch.), жуа (*Allium* sp.) (sol); 3) қотыр қайың (*Betula pendula* Retz.), үлпек қайың (*Betula pubescens* Ehrh.), алқызыл долана (*Crataegus sanguinea* Pall.), лавр жапырақты терек (*Populus laurifolia* Ledeb.), көктерек (*Populus tremula* L.), қаракөк тал (*Salix pentandra* L.), сабау тал (*Salix viminalis* L.), үшсалалы тобылғы (*Spiraea trilobata* L.), шэйкурайжапырақты тобылғы (*Spiraea hypericifolia* L.), кәдімгі шәңкіш (*Viburnum opulus* L.), кәдімгі мыңжапырақ (*Achillea millefolium* L.), сібір теңгежапырағы (*Alchemilla sibirica* Zam.) (sp); 4) Ледебур бадамы (*Amygdalus ledebouriana* L.), қара жемісті ырғай (*Cotoneaster melanocarpa* Lodd.), дарагүлді ырғай (*Cotoneaster uniflorus* Bunge.), кәдімгі сныть (*Aegopodium padagrari* L.) (sp – sol); 5) алтай қасқыржидегі (*Daphne altaica* Pall.) (sp-cop) және т.б.

II. Майтерек елді-мекенінен 3 шақырым қашықтықта орналасқан «Қайыңды – бұлақ» шатқалының өсімдіктер жамылғысы: 1) көктерек (*Populus tremula* L.) (cop); 2) Ледебур бадамы (*Amygdalus ledebouriana* L.), қотыр қайың (*Betula pendula* Retz.), үлпек қайың *Betula pubescens* Ehrh.), дарагүлді ырғай (*Cotoneaster uniflorus* Bunge.), алқызыл долана (*Crataegus sanguinea* Pall.), қожақат

таңқурайы (*Rubus caesius* L.), кәдімгі таңқурай (*Rubus idaeus* L.), қой бүлдірген таңқурайы (*Rubus saxatilis* L.), кәдімгі шәңкіш (*Viburnum opulus* L.), кәдімгі мыңжапырақ (*Achillea millefolium* L.), кәдімгі сныть (*Aegopodium podagraria* L.), сібір теңгежапырағы (*Alchemilla sibirica* Zam.) (sol); 3) ағашты қараған (*Caragana arborescens* Lam.), татар үшқаты (*Lonicera tatarica* L.), раушанның бірнеше түрлері (*Rosa* sp: *R. spinosissima* L., *R. alberti* Regel. , *R. acicularis* Lindl. , *R. laxa* Retz.), тал ағашының түрлері: (*Salix pentandra* L., *Salix viminalis* L.), үшсалалы тобылғы (*Spiraea trilobata* L.), азия ошағаны (*Agrimonia asiatica* Jus.) (sp); 4) жуа (*Allium* sp) (sol-sp); 5) шәйқурай жапырақты тобылғы (*Spiraea hypericifolia* L.), акезу бәрпі (*Aconitum leucostomum* Worosch.) (sp-cop) және т.б.

III. Ұрұнхай елді-мекенінен 50 шақырым қашықтықта орналасқан «Марқакөл» көлінің маңында таралған өсімдіктер жамылғысы: 1) сібір теңгежапырағы (*Alchemilla sibirica* L.) (cop); 2) сібір майқарағайы (*Abies sibirica* Ledeb.), алқызыл долана (*Crataegus sanguinea* Pall.), қара арша (*Juniperus pseudosabina* Fisch. et C. A. Mey.), татар үшқаты (*Lonicera tatarica* L.), сібір шыршасы (*Picea obovata* Ledeb.), қара қарақат (*Ribes nigrum* L.), кәдімгі таңқурай (*Rubus idaeus* L.), қой бүлдірген таңқурайы (*Rubus saxatilis* L.), кәдімгі мыңжапырақ (*Achillea millefolium* L.), Ледебур жуасы (*Allium ledebourianum* Schult. et Schult. fil.), жуа (*Allium* sp), азия ошағаны (*Agrimonia asiatica* Jus.) (sol); 3) қотыр қайың (*Betula pendula* Retz.), үлпек қайың (*Betula pubescens* Ehrh.), дарагүлді ырғай (*Cotoneaster uniflorus* Bunge.), қотыр қайың (*Populus tremula* L.), күрең қарақат (*Ribes atropurpureum* C. A. Mey.), раушанның түрлері: *Rosa* sp: (*R. spinosissima* L., *R. alberti* Regel. , *R. acicularis* Lindl. , *R. laxa* Retz.), тал ағашының түрлері: (*Salix pentandra* L., *Salix viminalis* L.), кәдімгі шәңкіш (*Viburnum opulus* L.) (sp); 4) іріжемісті ырғай (*Cotoneaster melanocarpa* Lodd.) (sol-sp); 5) сібір майқарағайы (*Larix sibirica* Ledeb.), акезу бәрпі (*Aconitum leucostomum* Worosch.) (sp-cop) және т.б.

Күршім жотасының зерттелген шатқалдарындағы сирек кездесетін және эндемикті, сондай-ақ, реликтті және “Қызыл кітапқа” енген түрлер анықталды. Олар: Ледебур бадамы (*Amygdalus ledebouriana* L.), кәдімгі таушымылдық (*Paeonia anomala* L.), алтай қасқыржидегі (*Daphne altaica* Pall.), мақсыр рапонтикум (*Rhaponticum carthamoides* Willd.) [13,14,15,16,17].

Шығыс Қазақстан облысының аралас орманды алқаптарында (теңіз деңгейінен 500-1500 м биіктікте) ресми тізімдегі дәрілік өсімдіктердің айтарлықтай бірқатар түрлері кездесетіндігі анықталды. Жотада таралған 60-қа жуық дәрілік өсімдіктердің басым бөлігі шатқалдардың оңтүстік және солтүстік беткейлерінде кең таралған және осы өңірлерде жиі кездеседі. Төменде Күршім жотасында кездесетін дәрілік өсімдіктердің тізімі берілген (кесте 1).

Кесте 1 - Күршім жотасындағы анықталған дәрілік өсімдіктердің тізімі

Өсімдіктердің аталуы	Таралу ортасы	«Қызыл-ағаш» шатқалы	«Қайыңды-бұлақ» шатқалы	«Марқакөл» көлінің жағалауы
1	2	3	4	5
<i>Achillea millefolium</i>	Шөптесін өсімдіктер ортасы	+	+	+
<i>Aconitum leucostomum</i>	Өзен аңғарлары	+	+	+
<i>Agrimonia asiatica</i>	Әртүрлі шөптесін өсімдіктер ортасы	+	+	
<i>Alchemilla sibirica</i>	Шабындықты жайылымдар		+	+
<i>Angelica decurrens</i>	Тау баурайлары	+	+	+
<i>Artemisia absinthium</i>	Қыраттардың төменгі бөлігі	+	+	+
<i>Artemisia dracuncululus</i>	Тау қыраттары	+	+	+
<i>Berteroa incana</i>	Орманды алқаптар	+	+	+
<i>Bidens tripartita</i>	Өзен аңғарлары	-	+	-
<i>Bupleurum aureum</i>	Өзен жағалауы	-	+	-
<i>Bupleurum longifolium</i>	Орманды алқаптар	-	-	+
<i>Bupleurum multinerve</i>	Шабындықты жайылымдар	+	+	-
<i>Caltha palustris</i>	Өзен жағалаулары	-	+	+
<i>Carum carvi</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Chamaenerium angustifolium</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Clematis integrifolia</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Crataegus sanguinea</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+

Кесте 1 жалғасы

1	2	3	4	5
<i>Daphne altaica</i>	Тау беткейлері	+	+	-
<i>Delphinium elatum</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Delphinium cyananthum</i>	Шалғындықтар	+	+	+
<i>Echinops ritro</i>	Тау беткейлері	+	+	-
<i>Echinops sphaerocephalus</i>	Тау шалғындықтары	+	+	-
<i>Equisetum palustre</i>	Шалғындықтар	+	+	+
<i>Filipendula ulmaria</i>	Тау шалғындықтары	+	+	+
<i>Gallium verum</i>	Тау беткейлері	+	+	+
<i>Geranium affine</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Өзен жағалаулары	+	+	-
<i>Heracleum dissectum</i>	Тау шалғындықтары	+	+	+
<i>Hypericum perforatum</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Hypericum scabrum</i>	Тау шалғындықтары		-	+
<i>Mentha arvensis</i>	Тау шалғындықтары	+	+	
<i>Mentha longifolia</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Nepeta pannonica</i>	Альпілік шалғындықтар	+	+	
<i>Orchis militaris</i>			+	+
<i>Paeonia anomala</i>		+	+	+
<i>Paeonia hybrida</i>		+	-	-
<i>Patrinia intermedia</i>	Альпілік шалғындықтар	+	+	-
<i>Peucedanum morisonii</i>	Тау беткейлері	+	+	+
<i>Phlomoide tuberosa</i>	Орманды алқаптар	+	+	+
<i>Plantago major</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Polemonium caeruleum</i>	Өзен жағалаулары		+	-
<i>Polygonum aviculare</i>	Тау шалғындықтары	+	+	+
<i>Polygonum undulatum</i>	Тау шалғындықтары	+	+	+
<i>Polygonum viviparum</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Rhaponticum carthamoides</i>	Әртүрлі шөптесін өсімдіктер ортасы		+	+
<i>Rosa sp. (R. laxa, R. spinosissima, R. alberti, R. acicularis)</i>	Тау шалғындықтарындағы бұталы өсімдіктер ортасы	+	+	+
<i>Rumex acetosa</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Rumex confertus</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Sanguisorba officinalis</i>	Шабындықты жайылымдар	+	+	+
<i>Scabiosa austroaltaica</i>	Өзен жағалаулары	+	-	
<i>Scabiosa ochroleuca</i>	Өзен жағалаулары	+	-	
<i>Sedum hybridum</i>	Тау беткейлері	+	+	+
<i>Sedum purpureum</i>	Өзен жағалаулары	-	-	+
<i>Senecio jacobaea</i>	Өзен жағалаулары	-	+	+
<i>Serratula coronata</i>	Өзен жағалаулары	-	+	+
<i>Tanacetum boreale</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Tanacetum vulgare</i>	Өзен жағалаулары	-	+	+
<i>Taraxacum officinale</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Thalictrum flavum</i>	Тау беткейлері	-	+	+
<i>Thalictrum foetidum</i>	Тау беткейлері	+	+	+
<i>Thermopsis alpina</i>	Тау шалғындықтары	-	+	+
<i>Thymus marschallianus</i>	Тау шалғындықтары	+	+	-
<i>Tussilago farfara</i>	Өзен аңғарлары	+	+	-
<i>Urtica dioica</i>	Өзен жағалаулары	+	+	+
<i>Veratrum lobelianum</i>	Өзен жағалаулары	+	-	-
<i>Viola tricolor</i>	Тау шалғындықтары	-	-	+
<i>Ziziphora bungeana</i>	Тау беткейлері	+	+	-

Қорыта келе Күршім жотасының солтүстік және оңтүстік беткейлеріне жүргізілген ресурстық зерттеулер негізінде, осы өңірдің пайдалы және дәрілік өсімдіктерінің қазіргі жағдайы анықталды. Жоғарыда келтірілген ғалымдардың жүргізген зерттеулерінің негізіне (Куминова А. В., Огуреева Г. Н., Котухов Ю.А., Ревушкин А.С., Шишкин Б.К., Попов М.Г., Крылов Г.В.) сүйене отырып біздің жүргізген зерттеулер нәтижесінде өсетін дәрілік өсімдіктердің 60-тан аса түрлері белгілі болды.

Зерттеу ауданындағы анағұрлым кең таралған және шоғырланып өскен, сондай-ақ, шикізаттық қоры мол кездесетін перспективті дәрілік өсімдіктер: орал миясы (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) («Қызыл ағаш» шатқалы). «Марқакөл» көлі маңы мен «Урұнхайка» елді-мекендері аралығындағы тауаралық субальпілік шалғындықтарда кең таралған түрлер: ақезу бәрпі (*Aconitum leucostomum* Worosch.), Лобель тамыр дәрісі (*Veratrum lobelianum* L.), сібір кәдісі (*Crepis sibirica* L.), жіңішке жапырақты иван-шәй (*Chaetmaenerium angustifolium* (L.) Scop.), жіңішке жапырақты володушка (*Vipleurum longifolium* L.).

Күршім жотасының зерттелген шатқалдарындағы сирек кездесетін және эндемикті, сондай-ақ, реликтті және «Қызыл кітапқа» енген түрлер анықталды. Олар: Ледебур бадамы (*Amygdalus ledebouriana* L.), кәдімгі таушымылдық (*Paeonia anomala* L.), алтай қасқыржидегі (*Daphne altaica* Pall.), мақсыр рапонтикум (*Rhaponticum carthamoides* Willd.).

Әдебиеттер

- 1 Қазақстанның дәрілік өсімдіктері және оның қолданылуы. - Алматы. - 1998. - 286 б.
- 2 Физическая география Республики Казахстан. - Алматы. - 1998. - С.56-104.
- 3 Физическая география Восточного Казахстана. Усть-Каменогорск: «Альфа-пресс». - 2002. - 182 с.
- 4 Агроклиматические ресурсы Восточно-Казахстанской Новосибирск. - 1960. - 450 с.
- 5 Куминова А. В. Растительный покров Алтая. - Алма-Ата. - 1962. - 150 с.
- 6 Огуреева Г. Н. Ботаническая география Алтая. М. - 1980. - 189 с.
- 7 Котухов Ю.А. Список сосудистых растений Казахского Алтая // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. - Выпуск 11. - Барнаул. - 2005. - С.11-83.
- 8 Ревушкин А.С. Высокогорная флора Алтая. - Томск. - 1988. - С.3-26.
- 9 Шишкин Б.К. Растительность Алтая. В кн.: «Ойротия». М.-Л. - 1937.-201 с.
- 10 Попов М.Г. Растительный покров Казахстана. Тр. Казахского филиала АН СССР. - М.- вып. 18. - 1940.-С.11
- 11 Крылов Г.В. Классификация типов горных лесов Алтая – Саян // Научная конференция по рационализации лесного хозяйства и агролесомелиорации Казахстан. Картпредприятие МСХ КазССР. - Алма-Ата. - 1959. - С. 143-149.
- 12 Флора Восточного Казахстана. – Алма-Ата: Ғылым. - 1991. - С.250.
- 13 Утяшева Т.Р. К вопросу о растительных раритетах Маркакольской котловины и проблемах их охраны. //Изучение растительного мира Казахстана и его охрана. - Материалы 1 молодежной ботанической конференции. -2001.-С.212-215.
- 14 Михеева Н.Н. Об эндемичных и редких видах Южного Алтая // Охрана растительного мира Казахстана. - Алма-Ата. - 1979. -С. 85-87.
- 15 Степанова Е.Ф. Ценные и эндемичные растения Алтая, Саура и Тарбагатая // Охрана растительного мира Казахстана. -Алма-Ата.- 1979.- С.101-105.
- 16 Атлас лекарственных растений СССР. - М.-1962.- С.374-382.
- 17 Красная книга Казахской ССР. Алма-Ата.-1981.- Ч.2.- С. 205.

Резюме

В статье приведены современные данные о распространении лекарственных растений Куршумского хребта.

Summary

It is given modern spreading dates of medicinal plants of Kurshum ridge.

Тыныбеков Б.М., Мухитдинов Н.М., Бегенов А.Б., Курбатова Н.В., Литвиненко Ю.А.
ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРНЕЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО
(*Rumex confertus* Willd.) ВЫРАЩЕННОГО В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ
(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Республика Казахстан обладает богатейшими растительными ресурсами, но лишь малая их часть используется медициной и народным хозяйством. В настоящее время более 30% лекарственных средств производится из растений, при этом для лечения ряда заболеваний многие растительные средства оказываются незаменимыми. По прогнозам специалистов, XXI век будет веком фитотерапии, щадящего лечения с помощью трав.

В связи с тем, что ресурсы лекарственных растений с каждым годом из-за ряда причин претерпевают сокращение своих запасов или ограничены, то возникает необходимость создания собственной сырьевой базы.

Согласно современным воззрениям, устойчивую сырьевую базу фармацевтической промышленности может обеспечить, прежде всего, введение в культуру официальных видов. В связи с этим была проведена работа по выращиванию такого лекарственного растения, как *Rumex confertus* Willd. в предгорьях хребта Заилийский Алатау в условиях Алматинской области на территории Учебно-производственного комплекса «Экос» при КазНУ им. аль-Фараби. После завершения полевого возделывания были собраны корни исследуемого вида лекарственного растения, которые в дальнейшем подверглись более тщательному химическому изучению с целью проведения сравнительного анализа компонентного состава растений произрастающих в естественных условиях и выращенных в культуре.

Химический анализ лекарственного растительного сырья (корневище) исследуемого вида был проведен в Центре физико-химических методов исследования и анализа.

В этом плане большой теоретический и практический интерес представляют культивируемые растения семейства *Polygonaceae* Juss. (Гречишные), которые широко распространены в Казахстане, некоторые из них являются эндемиками, произрастающими только на территории нашей страны. Род *Rumex* L. (Щавель) в мировой флоре насчитывает около 150 видов растений, из них 49 видов описаны во Флоре СССР и 23 вида произрастают в Казахстане [1-3]. Из 49 видов щавелей Флоры СССР только один вид, щавель конский, используется официальной медициной. Еще четыре вида щавелей: тьяншанский, пирамидальный, русский и Маршалловский введены в медицину по результатам работ кафедры органической химии и химии природных соединений. Все щавели могут служить источником дубильных веществ из групп пирокатехина и пирогаллола. Кроме того, многие виды щавелей содержат флавоноиды, производные антрахинона и другие биологически активные вещества, поэтому они перспективны как источники препаратов кровоостанавливающего, мочегонного, вяжущего, противовоспалительного, антисептического, желчегонного, слабительного, болеутоляющего, потогонного, седативного, противогнилостного и другого действия [4].

Rumex confertus Willd. входит в состав микстуры Здренко, применяемой при папилломатозе мочевого пузыря и антоцидных гастритах [5].

В народной медицине *Rumex confertus* Willd. популярен как витаминное, пищевое, лекарственное растение, употребляется при цинге, им лечат подагру, ревматизм, наружно применяют при чесотке, лишаях, экземах, ожогах. Олиственные верхушки этого вида щавеля, собранные в период цветения, используются как вяжущее, кровоостанавливающее, противогнилостное средство при колите, энтероколите, геморрое [6-9].

Лейкоантоцианы и катехины, выделенные из корней и корневищ, в эксперименте на животных показали противоопухолевое действие [6; 8].

Экстракты снижают артериальное давление при гипертонии I и II стадии и оказывают успокаивающее действие [10-11].

Настойку корневищ и корней на водке в виде капель применяют при хрипоте и ревматизме [12].

Сухой экстракт из корней, содержащий дубильные вещества, обладает выраженной Р-витаминной, капилляроукрепляющей активностью [13].

Корневища используют для дубления кожи. Экстракт из корней, корневищ и листьев – для получения желтой и черной красок для тканей по железной протраве [14].

По литературным данным в корнях щавеля конского обнаружены и выделены в индивидуальном виде антрахиноны, флавоноиды и их гликозиды катехины, дубильные вещества, углеводы (глюкоза, фруктоза, сахароза), фенолокислоты (кофейная, хлорогеновая, лимонная,

молочная, галловая), витамины К и С, макро- и микроэлементы, эфирное масло, смолы, стероиды, каротиноиды, аминокислоты, фенолы [14].

Исследования химического состава растений рода *Rumex* и опыт использования различных видов этого растения в официальной и народной медицине разных стран свидетельствуют о перспективности и целесообразности данного исследования.

Как было указано выше, объектом исследования являлись корни и корневища щавеля конского *Rumex confertus Willd.* описанные во флоре Казахстана.

Одним из аспектов данной проблемы явилось химическое исследование изучаемого вида. Как известно, лекарственные растения, взятые из одних почвенно-климатических природных условий, и выращенные в других могут претерпеть изменения в фитохимическом составе.

В работе использовали общепринятые фитохимические методы исследования растительного сырья [15-20].

Оптимальными экстрагентами для изучаемого видов явились 50% водный ацетон, 50% этиловый и 50% изопропиловый спирты. Наиболее оптимальным экстрагентом оказался 50% водный ацетон, так как он извлекает до 30 % всех биологически активных веществ (БАВ) из сырья. Оценка основных групп БАВ была проведена на основе качественных специфических реакций на основные группы БАВ.

В сырье обнаружено 12 групп БАВ: антрахиноны, флавоноиды, дубильные вещества, углеводы, полисахариды, фенолы, amino- и фенолокислоты, катехины, сапонины, кумарины и алкалоиды.

Липофильные компоненты, представленные каротинами, хлорофиллами, смолами, являются минорными компонентами исследуемых корней и корневищ растения, поэтому их количественное содержание не определялось.

Изучение состава компонентов осуществляли методом одномерной бумажной хроматографии в сравнении с метчиками известных соединений по величине их подвижности в системе *n*-бутиловый спирт - уксусная кислота-вода (40:12,5:29) с применением специфических проявителей.

Количественное определение содержания основных групп БАВ в корнях щавеля конского определено по общепринятым методикам [15-20] (таблица 1).

В таблице 1 представлены сводные данные по количественному содержанию основных групп БАВ.

Таблица 1 - Количественное содержание основных групп БАВ, в корнях *Rumex confertus Willd.*, собранных в культуре, %

название вида	влажность сырья	экстрактивные вещества 50%-ным ацетоном	дубильные вещества	антрахиноны	аминокислоты	флавоноиды	углеводы	полисахариды	фенолокислоты	фенолы
<i>Rumex confertus Willd</i>	8,96	28,78	22	2,86	1,56	2,96	1,65	0,32	4,29	2,10

Таким образом, как видно из приведенной таблицы, полученные результаты свидетельствуют о незначительной разнице экспериментальных и литературных данных количественного состава *Rumex confertus Willd.*, что дает основание для введения данного вида в культуру.

Также было проведено исследование макро- и микроэлементного состава зольного остатка изучаемого вида методом атомно-адсорбционной спектроскопии на приборе «ASSIN» фирмы «Карл Цейс» [21]. В зольном остатке определены макро- и микроэлементы. Данные представлены в таблице 2.

Таким образом, из таблицы 2 следует, что на микроэлементный состав растений оказывают непосредственное влияние естественные и антропогенные факторы зон произрастания, то есть места произрастания (ареалы почвы), что следует учитывать при культивировании растений и заготовки сырья [21-22].

В настоящее время, необходимыми для жизнедеятельности, признаны 14 макро-микроэлементов: железо, медь, марганец, цинк, кобальт, йод, фтор, молибден, ванадий, никель, стронций, кремний и селен. Они повышают активность ферментов, катализируют биохимические процессы, способствуют синтезу углеводов, белков и витаминов, а также участвуют в обмене веществ.

Таблица 2 – Содержание макроэлементов и микроэлементов, в корнях *Rumex confertus* Willd., собранных в условиях культуры, мг/г

Название вида	Макроэлементы					Микроэлементы					
	Калий (K)	Натрий (Na)	Магний (Mg)	Кальций (Ca)	Железо (Fe)	Цинк (Zn)	Никель (Ni)	Марганец (Mn)	Медь (Cu)	Свинец (Pb)	Кадмий (Cd)
<i>Rumex confertus</i> Willd.	396.90	42.52	130.356	2818.44	30.545	1.7539	0.1909	1.5701	0.9341	0.2023	0.0475

Кроме того, полученные результаты согласуются с общей закономерностью, согласно которой минеральный состав сказывается на накоплении определенных групп биологически активных соединений.

Так, растения, продуцирующие сердечные гликозиды, избирательно поглощают марганец, молибден и хром; продуцирующие алкалоиды – медь, марганец и кобальт; сапонины – молибден и ванадий; терпеноиды – марганец; кумарины, витамины и полифенольные соединения – медь, цинк и марганец; полисахариды – марганец и хром; углеводы – цинк соответственно [22].

Накопление микроэлементов в растениях происходит в зависимости от вида почвы, ее физических свойств и химического состояния, географического расположения района, климатических условий, от вида, сорта и стадии вегетации растений, источников орошения и других факторов [23].

По-видимому, в растениях рода щавель, действующим началом являются полифенольные соединения, кумарины, витамины, углеводы, полисахариды, так как они в большом количестве из почвы извлекают медь, цинк, марганец и железо, что хорошо согласуется с литературными данными о биосинтезе и свойствах полифенолов.

Из таблицы 1 и 2 видно, что качественный состав и количественное содержание основных групп БАВ корней щавеля конского, выращенных в культуре и заготовленных как дикорастущее растение в Алматинской области значительно не отличаются по содержанию.

Таким образом, проведенная работа помогла решению следующих вопросов: проведено фитохимическое исследование качественного состава и количественного содержания основных групп БАВ корней щавеля конского, выявлена дальнейшая перспектива практического внедрения этого вида в культуру и использования его с целью получения фармацевтических препаратов, обладающих широким спектром биологической активности.

Литература

- 1 Micael Z. *Flora Palestina the Israel*. – Jerusalem, 1966. – Part. 1. – P. 51-59
- 2 Флора СССР / под ред. В.А. Комарова. – М.-Л.: АН СССР, 1936. – Т.5. – С. 444-482.
- 3 Флора Казахстана / под ред. Н.В. Павлова. – Алма-Ата: АН КазССР, 1960. – Т. 3. – С. 92-102.
- 4 Шретер А.И. *Лекарственная флора Советского Дальнего Востока*. – М.: Медицина, 1975. – С. 78-83.
- 5 Курамысова И.И., Аксенова В.Ф., Татимова Н.Г. *Лекарственные растения (заготовка, хранение, переработка, применение)*. – Алма-Ата: Кайнар, 1998. – С. 183-186.
- 6 Минаева В.Г. *Лекарственные растения Сибири*. – Новосибирск: Наука, 1991. – С. 214-216.
- 7 Музычкина Р.А. *Противоопухолевые препараты некоторых высших растений // Физиолого-биологические аспекты изучения лекарственных растений*. – Новосибирск, 1998. – С. 135-136.
- 8 Максютин Н.П., Комиссаренко Н.Ф., Прокопенко А.П. *Растительные лекарственные средства / под ред. Н.П. Максютинной*. – Киев: Здоровье, 1985. – С. 239-240.
- 9 *Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / под ред. П.С. Чикова*. – М.: Наука, 1976. – С. 332.
- 10 *Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / под ред. П.С. Чикова*. – М.: Наука, 1976. – С. 332.
- 11 Кукунов М.К. *Лекарственные растения Казахстана и их использование*. – Алматы: Гылым, 1996. – С. 217-218.
- 12 Зюзук Б.М., Куцик Р.В., Федущак Н.К. *Щавель густой Rumex confertus Willd (Аналитический обзор) // Провизор*. – 2004. - №2. – С. 32-37.
- 13 Бензель Л.В., Грицык А.Р., Романюк О.И. *Применение растений рода щавель в медицине*. – Львов, 1996. – 19с.

- 14 Растительные ресурсы СССР / под ред. А.А. Федорова. – Л.: Наука, 1985. – С. 277-290.
- 15 Государственная фармакопея СССР, XI изд. – М.: Медицина, 1987. – Ч. 1. – С. 283, 286, 295.
- 16 Государственная фармакопея СССР, XI изд. – М.: Медицина, 1990. – Ч. 2. – С. 24-25, 296, 307, 337, 367.
- 17 Есимова О.А., Бурашева Г.Ш. Фитохимическое определение аминокислот в растительном сырье // Химия природ. соед. – 1991. - №3. – С. 453.
- 18 Колева М.Н. Количественное определение углеводов в растительном сырье // Фармация. – 1981. – Т.31, вып. 1. – С. 32-36.
- 19 Пашина Л.Т. Методические указания к практикуму по качественному и количественному анализу природных полифенолов и углеводов. – Алма-Ата: КазГУ, 1979. – 47с.
- 20 Гринкевич Н.И., Сафронич Л.И. Химический анализ лекарственных растений. – М.: Наука, 1983. – С. 51, 148.
- 21 Ермаченко Л.А. Атомно-абсорбционный анализ в санитарно-гигиенических исследованиях / под ред. Л.Г. Подуновой. – М.: Чувашия, 1997. – 208с.
- 22 Гринкевич Н.И., Сорокина А.А. Роль геохимических факторов среды в продуцировании растениями биологически активных веществ. // Биологическая роль микроэлементов. – М.: Наука, 1983. – С. 283.
- 23 Рахметова А.А., Мельдеханов Т.Т., Мухаметгалиев А.Г. Современные проблемы фармации. – Алма-Ата: Наука, 1989. – С. 102.

УДК 630.160.26

Бейсеева Г.Б.

**ТЕХНОГЕНДІ ЛАСТАНҒАН РИДДЕР КЕН ОРНЫНЫҢ ЛАНДШАФТАРЫНДА
ӨСЕТІН ӨСІМДІКТЕРДІҢ ҚҰРАМЫНДАҒЫ АУЫР МЕТАЛДАР**
(Ө.О.Оспанов атындағы Қазақ топырақтану және агрохимия ғылыми-зерттеу институты)

Тақырыптың өзектілігі. XXI – ғасыр— бұл бүкіл әлемде өнеркәсіптік өндірістің қарқынды дамуы және қоршаған ортаның экологиялық-геохимиялық жағдайының қарқынды өзгеріске ұшырау ғасыры. Кейбір техникалық үдерістерді басқаруды үйренгенімен адам қоршаған ортаны, өзі тұрып жатқан мекенін, осы үрдістердің физикалық-химиялық лақтауының әсерінен қорғау қажеттігін ескермеді. Көптеген пайдалы қазбаларды өндіру нәтижесінде қоршаған ортаны лақтау, Чернобыль, Семей ядролық полигоны, Азғыр, Байқоңыр және т.б., сондай-ақ бүкіл Әлемдегі бірқатар химиялық лақтаулар, оның нақты мысалдары бола алады. Соңғы жылдары биосфераның жағдайын жақсарту және сақтауға, табиғат байлықтарын тиімді пайдалануға өте көп назар аударылуда. Өндіріс дамыған сайын экожүйенің тепе-теңдігі көптеп бұзылуда, сондықтан да қоршаған немесе табиғи ортаға технологиялық үрдістердің әсерін жүйелі түрде зерттеп отыру қажет, соның нәтижесінде күтілетін өзгерістерге болжам жасалынып, қажет болған жағдайда биосфераға антропогендік әсер етудің салдарын түзету үшін нұсқаулар беру қажет.

Топырақтың, табиғи сулардың және өсімдіктердің, тіптен аз мөлшерде болса да ластануы, биохимиялық үрдістердің белсенділенуіне әкеледі. Техногенді таралу салдарынан биосфераға ауыр металдардың түсуі әр түрлі жолдармен жүзеге асады. Олардың ішінде ең маңыздысы қара және түсті металлургияның жоғары температуралық үрдістері кезіндегі, цемент шикізатын жаққан кезде, әр түрлі рудаларды ашық әдіспен өндіру, минералды отынды жаққан кездегі шығарылым болып табылады. Одан басқа, құрамында ауыр металдардың мөлшері жоғары сулармен өсімдіктерді суару, тұрмыстық ақаба суларды топыраққа тыңайтқыш ретінде енгізу биоценоздарды лақтаушылардың көздері болуы мүмкін. Қайталап ластану, сондай-ақ рудниктер үйінділерінен немесе металлургиялық кәсіпорындардан су немесе ауа ағындарымен ауыр металдардың шығарылуы салдарынан, құрамында ауыр металдар бар органикалық, минералды тыңайтқыштардың өте жоғары мөлшерін тұрақты түрде енгізген кезде, топыраққа ауыр металдардың көп мөлшерде түсуінен болады.

Ауыр металдар топырақтағы органикалық заттармен күрделі қосылыстар кешенін түзеді, сондықтан гумустың мөлшері жоғары топырақтарда олардың сіңірілуі оңай емес. Топырақтағы ылғалдың мол болуы ауыр металдардың еритін түрлерге және тотығудың төменгі дәрежесіне өтуіне жағдай жасайды. Анаэробтық жағдайлар ауыр металдарды өсімдіктердің сіңіруін арттырады. Сондықтан су режимін реттейтін кәріздік жүйелер ауыр металдардың тотыққан формаларының басым болуына жағдай жасайды да, сөйтіп олардың ауысуын төмендетеді. Өсімдік топырақтан микроэлементтерді, соның ішінде ауыр металдарды сіңіре алады, оларды жапырақтардың ұлпаларына немесе беткі қабаттарына жинақтайды да «топырақ-өсімдік-жануар-адам» тізбегіндегі аралық буын болады.

Металлургия кәсіпорны жыл сайын жер бетіне 150 мың тоннадан астам мыс, 120 мың тонна мырыш, 90 мың тоннаға жуық қорғасын, 12 мың тонна никель, 1,5 мың тонна молибден, 800 тоннаға жуық кобальт және 30 тоннаға жуық сынапты шығарады. Мыс балқытатын өнеркәсіптің қалдықтарындағы 2,09 тонн шаң болады, оның құрамында 15% мыс, 60% темір тотығы және 4% күшәла, сынап, мырыш және қорғасын болады. Машина жасау және химия өнеркәсіптерінің қалдықтарында 1 мың мг/кг дейін қорғасын, 3 мың мг/кг дейін мыс, 10 мың мг/кг дейін хром мен темір, 100 г/кг фосфор және 10 г/кг марганец және никель болады.

Көптеген ғалымдармен Алтай өңіріндегі топырақтардың құрамындағы ауыр металдар зерттелген. Топырақтағы ауыр металдардың көпшілігінің шоғырлануы ластанбаған аумақтарға тән деңгейлерден өзгешеленетіндігі анықталды. Топырақ түзуші жыныстар, олардың құрамындағы мыстың 34-68 есе, мырыштың – 25-170 есе, кобальттың – 2000 есе, марганецтің 20 есе, молибденнің - 35 есе орташа мөлшері бойынша өзгешеленеді [1]. Кейбір жағдайларда топырақ түзуші жыныстар топырақтың химиялық құрамына әсер етеді. Топырақ эволюциясы топырақ түзуші жыныстардың кейбір элементтерін жинақтаумен бірге, жоғалтуымен де қатар жүруі мүмкін. Топырақ құрамының өзгеруінде биологиялық және климаттық факторлардың рөлі зор. Топырақтың құрамындағы химиялық элементтердің айырмашылықтары өте үлкен. Н.Г. Зыриннің [2] деректері бойынша

топырақтағы мыстың орташа мөлшері 30 мг/кг болса, оның деңгейі әр түрлі топырақтарда шамамен 200 есе (1-ден 200 мг/кг дейін) шамада, ал рудалы аймақтарда, ол мыңдаған есе ауытқиды. Топырақтағы химиялық элементтердің шоғырлануына байланысты кейбір функцияларды өзгертумен сипатталатын өсімдік түрлерінің популяцияларында физиологиялық түрлер туындауы мүмкін. Мысалы, Солтүстік Қазақстанда Ақтөбе облысында тау жыныстары серпентиндер никель элементінің негізгі көзі болып табылатын, никельге бай геохимиялық провинция бар. Топырақтың 1 кг-да 133-тен 2400 мг дейін никель кездеседі, яғни эталонды қара топырақтағы осы элементтің мөлшерінен 12-52 есе көп. Жайылымдық өсімдіктің құрамында көршілес аудандарға қарағанда никель 15-26 есе көп. Топырақтан ауыр металдарды өсімдіктің сіңіру механизмін қарастыра отырып, элементтердің жинақталуының шоғырланатын (барьерлік) және шоғырланбайтын (барьерлік емес) типтері туралы айтуға болады. Шоғырланып жинау көпшілік жоғары сатыдағы өсімдіктерге тән және мүк тәрізділер және қыналарға тән емес. Бұл жоғары сатыдағы өсімдіктердің қасиетінің бірі және даму деңгейінің маңызды сипаттамасының бірі болып табылады. Л. Г. Бондаревтың [3] зерттеулерінде кобальтты жинақтаушы өсімдік ретінде сфагнум (2,66 мг/кг); мысты (10,0 мг/кг)- ақ қайың, тоғай бүлдіргені, інжугүл; марганец (1100 мг/кг)- қара жидек аталған. Сонымен, өсімдікке ауыр металдардың түсуіне өсімдіктің биологиялық ерекшеліктері, топырақ типі, оның гранулометрлік құрамы, органикалық заттардың мөлшері, сіңіру сыйымдылығы және басқалар әсер етеді. [4, 5, 6, 7]. Топырақта элемент мөлшері аз болған кезде өсімдік сол элементтің өзі сіңіре алатын түрлерінің топырақта бар мөлшерінің бәрін сіңіріп алады. Топырақта элемент мөлшері көп болған кезде, өсімдіктің химиялық құрамы өсімдіктің биологиялық ерекшеліктері мен сол элементтің физиологиялық рөліне байланысты болады. Өсімдіктің толеранттығы, яғни қоршаған ортадағы, соның ішінде топырақтағы элементтің артық мөлшері жағдайында өзінің тіршілік етуін сақтай алу қабілеті туралы түсінік бар [7,8]. Металдарға толеранттықтың дамуы тез болады және тектік негізі бар. Металдарға төзімділігі жоғары сатыдағы өсімдіктердің жеке түрлері мына тұқымдастарға жатады: *Gramineae*, *Leguminosae*, *Chenopodiaceae* [7]. Әр түрлі авторлар өсімдіктің фитомассасындағы ауыр металдардың мөлшерінің негізгі нормативтерін келтіреді. А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас [8] пікірлері бойынша өсімдіктегі ауыр металдардың мөлшері тектік және экологиялық факторлардың нәтижелері болып табылады. Қазіргі кезде топырақтың ауыр металдармен ластануын, олардың ауысуын және өзгеруін зерттеу саласында жұмыстар көп [9, 10]. А.А.Кулагин, Ю.А. Шагиеваның [11] зерттеулері бойынша топырақтың гранулометрлік құрамының жеңілдігі, шайылу типіндегі су режимінің, гумустың мөлшерінің төмендігі, орта реакциясының қышқыл болуы металдардың жылжымалы жағдайға өтуіне себеп болады. Металл жылжымалы болған сайын, ол өсімдік үшін сіңіруге жарамды болатыны белгілі.

Зерзаттары және әдістері

Біздің зерттеу жұмысымыз Шығыс Қазақстан облысы Риддер кен орындарының өсімдік үшін улы техногенді бүлінген жерлердегі үйінділерде (отвалдарда), осыдан 27 жыл бұрын салынған тәжірибе телімдерінде, Риддер мырыш және Риддер қорғасын зауыттарының аймағында, қалдық сақтағыш маңында жүргізілді. Бұл кен орнының үйінділері ашық әдіспен өндірілгендіктен өсімдік үшін улы жыныстар жер бетіне шығарылған. Сондықтан тәжірибе телімін салар кезде, осы улы жыныстар өсімдікке әсер етпеуі үшін экрандаушы қабаттар төселген. Үйіндінің бетіне қиыршық тас, оның үстіне құм, оның үстіне әр түрлі қалыңдықта қара топырақ, саз балшық және құмбалшық төселген. Осы тәжірибе телімдерінің ішінде мыналарға: 3-алаңша – (қара топырақ 40см + қиыршық тас + үйінді); 5-алаңша (құмбалшық 60 см + қиыршық тас +үйінді), 9-алаңша- (саз балшық 40 см +қиыршық тас+үйінді) және қалдық сақтағыш маңынан алынған үлгілерге тоқталып кетеміз. Тәжірибе телімдерінде ақ қайың, қарағай, арша, қараған ағаштары отырғызылған. Үйінділерде өсетін өсімдіктер тұқымдасы, туысы, түрі және көп кездесетіні бойынша анықталды. Астық тұқымдас (*Gramineae* Juss.), күрделігүлділер тұқымдасы (*Compositae* Giseke), қайың тұқымдасы (*Betulaceae* S. Gray) және тал тұқымдасына (*Salicaceae* Mirb) жататын өсімдіктер анықталды. Қалдық сақтағыш маңында тал тұқымдастары (*Salicaceae* Mirb) мен қайың тұқымдастары (*Betulaceae* S. Gray) басым кездеседі. Өсімдік күлінің (ағаш өсімдіктерінің жапырағы, бұтағы, тамыры, шөптесін өсімдіктердің пішен түрінде жер бетіндегі биомассасы, түсімі және тамыр бөлігі) құрамындағы химиялық элементтер Ядролық физика институтының зертханасында атомды-адсорбциондық әдіспен анықталды. Өсімдіктердегі күл анализі құрғақ күлдендіру әдісімен күлдегі элементтерді анықтау арқылы жүргізілді.

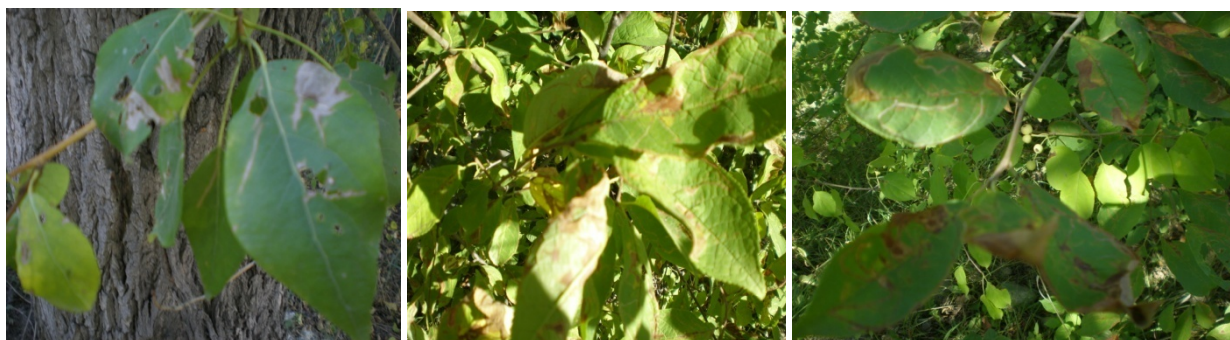
Нәтижелері және оларды талдау

Біздің зерттеулеріміздің көрсетуі бойынша биологиялық рекультивация жүргізілген өсімдік үшін улы үйінділердің тәжірибе телімдерінде алғашқы топырақ түзілу үдерісі жүруде.

Гранулометрлік құрамы бойынша 3 алаңшаның топырақ грунттары орташа және ауыр құм балшықты болып табылады, саз балшық 45-65%-ды құрайды. Қайта құнарландырылған тәжірибе телімдерінің 5-алаңша топырақ грунттарының гранулометрлік талдауының көрсетуі бойынша жоғарғы қабаттарындағы шаңды фракциялары 70%-ды құрайды, ал төменгі қабаттарында ірі фракциялар 70%-ды құрайды. 2-12см қабатында 8-45см шаңдақ фракциялардың (65%) жинақталуы жүреді. 9-алаңшаның топырақ грунттары жеңіл саз балшықты (66-67% сазбалшық). 5 алаңшаның және 9 алаңшаның топырақ грунттарының жоғарғы қабатында құмның мөлшері көп (0,25-0,05), ал төменгі қабаттарында ылай фракциясының мөлшері артады. 5 алаңша және 9 алаңшалардың төменгі қабаттарында тастар көп. Бұл қабаттар тығыздығымен өзгешеленеді. Осы қабаттарда шайылған ұсақ фракциялар жиналады да, шайылған «В» тығыз илливиалды қабаты түзіледі. Ұсақ шаңды-ылайлы фракциялардың төменгі жатқан қабаттарына ауысу үдерісі Шығыс Қазақстан облысының аймақтық топырақтарына тән. Осы алынған нәтижелерге қарай отырып, биологиялық рекультивация жүргізу барысында алғашқы топырақ түзілу үдерісінің аймақтық тип бойынша жүретіндігі туралы айтуға болады.

Осы тәжірибе телімдеріне төселген қара топырақ қабатының бастапқы жағдайында қара шіріндінің мөлшері 7,1% болған. Биологиялық рекультивация жүргізу барысында төселген қара топырақ тозуға ұшыраған және зерттеген жылы оның мөлшері 3-алаңшада 5,12%-ды құрайды. Қара шіріндінің барынша көп мөлшері топырақтың беткі қабатында, топырақ кескіні бойынша біртіндеп төмендеуі байқалады. Рекультивация жүргізілген үйінділердегі төселген қара топырақтағы қара шіріндінің мөлшері бастапқы мөлшеріне қарағанда 3-28%-ға төмендеген. Ғылыми әдебиеттерде өсімдіктердегі ауыр металдардың мөлшері топырақтағы ауыр металдардың мөлшеріне тікелей байланысты екені айтылды [2,4,6]. Енді осы зерттеу нысандарында өсетін өсімдіктердің құрамындағы ауыр металдарға тоқталып кетейік.

Шөптесін өсімдіктер формациясы биосфера жағдайының ең көрнекі көрсеткіштерінің бірі болып табылады [10]. Біз өсімдіктің қорғасын, мырыш, кадмий және мыс сияқты ауыр металдармен ластану дәрежесін анықтау мақсатында зерттеу жұмысын жүргіздік. Зерттеу алаңшаларында шөптесін өсімдіктердің ішінде астық тұқымдас өсімдіктер өте көп кездеседі. Бұл өсімдіктер осы аймақта кең таралған өсімдіктерге жатады. Өсімдік құрамы жалпы алғанда, оның өсуі және дамуы өтіп жатқан ортаның элементтік құрамын көрсетеді. Өсімдікке элементтердің түсуінің басты жолы, оның тамырымен сіңірілуі және де өсімдіктің басқа ұлпалары да сіңіруге қабілетті. Өсімдіктің жапырағымен сіңірілген ауыр металдар, олардың артық мөлшері қорға жинақталатын тамырын қоса алғанда, өсімдіктің басқа ұлпаларына да өтеді. Мыстың улылығын жапырағының күңгірт-жасыл түсінен, тамырының жуандығынан және өркенінің өсуінің баяулығынан байқауға болады. Қорғасынның мөлшері артық болғанда, өсімдіктің жапырағының жиектері жиырылып, тамырлары қысқа, құба түстес болады. Өсімдіктегі осы белгілері әсіресе, *Риддер қорғасын зауытының* маңында өсетін өсімдіктерде жиі байқалады. Өсімдіктердің жапырақтары сарғыш тартып, құрт жегендей тесік-тесік болып келеді. Сондай-ақ жапырақтардың жиектері қызыл-қоңыр түсті, бойы аласа болып келеді (1-сурет). Кадмий, өсімдіктің тіршілігі үшін қажетті элементтердің қатарына кірмесе де, ол жапырақтарымен де, тамырларымен де жақсы сіңіріледі. Оның уытты әсері өсімдік нашар өсуінен, тамыр жүйесінің зақымдануынан, жапырақтарының жиегінің жиырылып қалуынан байқалады. Біздің алған деректерімізді көптеген ғалымдардың зерттеулері де растайды [11, 7,8].



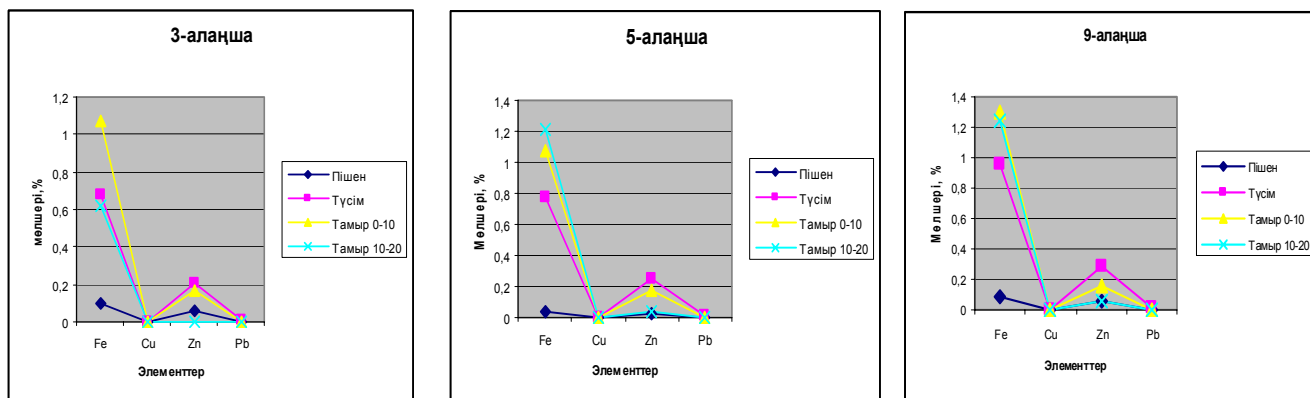
Сурет 1 - Қорғасын зауытының маңында өсетін өсімдіктер

Алынған деректеріміз бойынша шөптесін өсімдіктердің және ағаш-бұталы өсімдіктердің өсімді мүшелеріндегі яғни (жапырақ, бұтақ, тамыр) ауыр металдардың жиналуының дәйекті қатарлары жасалды.

Шөптесін өсімдіктер

Пішен	Zn > Cu > Pb > Fe
Түсім	Pb > Zn > Cu > Fe
Тамыр 0-10	Fe > Zn > Pb > Cu
Тамыр 10-20	Fe > Cu > Zn > Pb

Зерттеу нысанындағы шөптесін өсімдіктерде ауыр металдардың ең көп мөлшері түсімде және 0-10 см қабаттағы тамырларында жинақталған, ал пішенінде азырақ мөлшерде жинақталған (2-сурет).



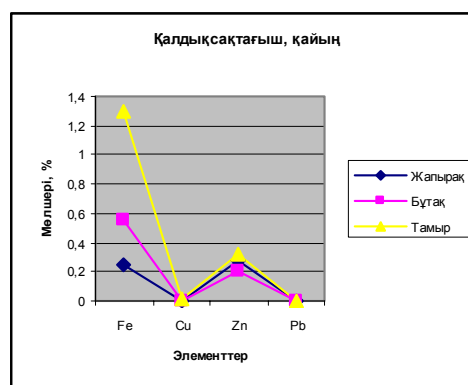
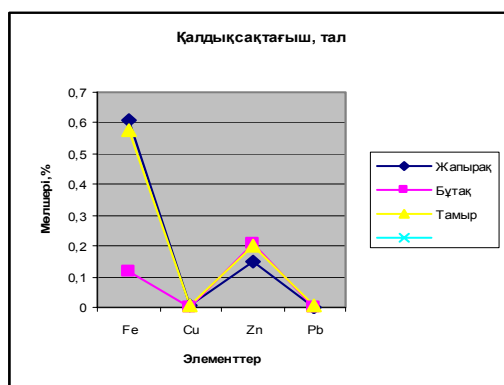
Сурет - 2 Зерттеу нысанындағы шөптесін өсімдіктердің құрамындағы ауыр металдардың мөлшері, %.

а.А.Кулагин және Ю.А.Шагиеваның жүргізген зерттеулері [11] техногенез жағдайында өсетін кейбір ағаш өсімдіктерімен әр түрлі металдарды жинақтауының түрлік ерекшеліктерін анықтады. Өсімдік пен топырақтың құрамындағы барийдің ара қатынасы яғни хромит кенорнының карьерінде өсетін терек үшін жинақталу коэффициенті 1,3 құрайды, ол бақылаумен салыстырғанда біршама аз – 2,0. Марганец кенорындарының үйінділерінде өсетін кәдімгі қарағайда барийдің жинақталу коэффициенті 0,4 тең, ал осындай жағдайда қайыңда барий жинақталу коэффициенті – 0,9 тең.. Марганец кенорнында өсу жағдайында қайың өсімдігінің мысты жинақтау коэффициенті 0,3 тең, бұл қарағаймен 0,2 салыстырғанда біршама жоғары. Дәрілік жусан, қарағай, қайың, алқа тұқымдастар марганец жинақтаушылар болып табылады. Ондай өсімдіктер топырақтан марганецті белсенді түрде жинақтайды. Егер марганец жинақтаушы өсімдік сіңірілуі оңай марганец аз топырақта өсетін болса, онда олар оның жетіспеушілігін сезінеді. Сіңірілуі оңай марганец жетіспейтін қаратопырақта өзінің қышқыл тамыр бөлінділері арқылы марганецті сіңіретін қайың ғана өседі. Қоңыр көмір кенорындарының үйінділерінде қайың өсетін топырақтарда мырыш өте аз мөлшерде кездеседі, ал өсімдік мүшелеріндегі орташа мөлшері 451 ppm құрайды. Қоңыр көмір кенорындарының үйінділерінде қорғасынның қайың –балқарағай – қарағай (1,8–2,3–3,9) қатарында биоаккумуляция коэффициентінің артқаны байқалады. Марганец кенорындарының үйінділерінде өскенде қарама-қарсы құбылыс байқалады: қайың үшін – 0,2 және қарағай үшін – 0,08. Топырақ грунттарындағы және өсімдіктегі темірдің мөлшері ондаған мың ppm құрайды. Бұл жағдайда темірдің қайың мен қарағай өсімдіктерінде жинақталу коэффициенті 0,1 құрайды. Ғалымдардың зерттеулерінің көрсетуі бойынша қотыр қайың және ақ қайыңның жапырақтарында мыстың жинақталуы 4.9 -14.9 мг/кг, мырыш –97- 463.5 мг/кг, темір –38 - 594 мг/кг, қорғасын –2.6 - 3.8 мг/кг, кадмий –0.6 - 1.2 мг/кг аралығында ауытқиды. Жалпы алғанда, бұл мәндер өсімдіктегі ауыр металдардың мөлшерінің фондық деңгейінен асып кетеді [11]. Ғылыми деректерге сәйкес [12] кадмий негізінен тамыр жүйесімен сіңіріледі және аз мөлшерде жапырақтар және сабақтарымен сіңіріледі. Біздің зерттеулеріміздің деректері бойынша қалдық сақтағыш маңында өсетін талдың өсімді мүшелерінде (жапырағы, бұтағы және тамыры) яғни талдың жапырағында және тамырында ауыр металдар көп жинақталады, ал ақ қайыңда ауыр металдар оның тамырында көп жинақталатыны анықталды (3-сурет).

Өсімдік мүшелері
Жапырағы
Бұтағы
Тамыры

Тал
Cu > Fe > Pb > Zn
Zn > Pb > Cu > Fe
Fe > Pb > Zn > Cu

Ақ қайың
Zn > Pb > Cu > Fe
Pb > Zn > Fe > Cu
Fe > Cu > Zn > Pb



Сурет - 3 Қалдық сақтағыш маңында өсетін ағаш өсімдіктер тал мен қайыңның жапырағындағы, бұтағындағы және тамырындағы ауыр металдардың мөлшері, %.

Біздің зерттеулеріміздің нәтижелері бойынша өсімдіктің жер бетіндегі мүшелері мырышты көп, ал жер асты мүшелері темірді жинақтайды. Біздің деректеріміз осы өсімдік үшін ұйты үйінділерде де, қалдық сақтағыштың маңындағы өсетін өсімдіктердің құрамында да ауыр металдардың мөлшерінің жоғары екенін көрсетті. Өсімдіктің құрамындағы темірдің мөлшері шектеулі жол берілген шоғырланудан 2-ден 65 есеге дейін артады; мыс 4-тен 45 есеге дейін, мырыш 14-тен 1070 есе; қорғасын 41-ден 1030-есеге дейін асып кетеді.

Қорытынды

1. Биологиялық рекультивация жүргізілген өсімдік үшін улы үйінділердің тәжірибе телімдеріндегі жас топырақтарда алғашқы топырақ түзілу үдерісі жүруде. Блай фракциясының құрамы 3-алаңшаның 9-30см; 5 алаңшаның 8-45см; 9-алаңшаның 27-30см қабаттарында ұлғаятындығы байқалады. Бұл қабаттар тығыздығымен өзгешеленеді. Осы қабаттарда шайылған ұсақ фракциялар жиналады да, шайылған «В» тығыз иллиувалды қабаты түзіледі. Ұсақ шаңды-ылайлы фракциялардың төменгі жатқан қабаттарына ауысу үдерісі Шығыс Қазақстан облысының аймақтық топырақтарына тән. Осы алынған нәтижелерге қарай отырып, биологиялық рекультивация жүргізу барысында алғашқы топырақ түзілу үдерісінің аймақтық тип бойынша жүретіндігі туралы айтуға болады.

2. Жаңада қалыптасып келе жатқан жас топырақтарда гумус түзілу және гумус жинақталу өте баяу жүреді. Ал экрандаушы қабаттың бетіне әкеліп төселген аймақтық қара топырақ рекультивация жүргізу кезеңінде өзгеріске ұшыраған.

3. Өсімдік техногенез жағдайында өзінің әр түрлі өсімді мүшелерінде (жапырақ, бұтақ, тамыр) шектеулі жол берілген мөлшерден елеулі асатын мөлшерде ауыр металдарды жинақтайды. Зерттеу нысанындағы шөптесін өсімдіктерде ауыр металдардың ең көп мөлшері түсімде және 0-10 см қабаттағы тамырларында жинақталған, ал пішенінде азырақ мөлшерде жинақталған.

4. Қорғасын зауытының маңында өсетін өсімдіктерде қорғасынның мөлшері артық болғанда өсімдіктің жапырағының жиектері жиырылып, тамырлары қысқа, құба түстес болады. Өсімдіктердің жапырақтары сарғыш тартып, құрт жегендей тесік-тесік болып келеді. Сондай-ақ жапырақтардың жиектері қызыл-қоңыр түсті, бойы аласа болып келеді.

5. Біздің зерттеулеріміздің деректері бойынша ауыр металдар талдың өсімді мүшелерінде (жапырағы, бұтағы және тамыры) яғни талдың жапырағында және тамырында көп жинақталады, ал ақ қайыңда ауыр металдар, оның тамырында көп жинақталатыны анықталды.

Әдебиеттер

1. Ковальский В.В. Геохимия среды и жизнь. -М.- 1982.- С. 77.
2. Зырин Н.Г. и др. Нормирование содержания тяжелых металлов в системе почва - растение //Химия в с.-х.- 1985.- №6.- С. 45 - 48.
3. Бондарев Л. Г. Роль растительности в миграции минеральных веществ в атмосферу //Природа. -1981. - №3. – С. 86-90

4. Большаков В.А., Краснова Н.М., Борисичкина Т.И., Сорокин С.Е., Граковский В.Г. *Агротехническое загрязнение почвенного покрова тяжелыми металлами: источники, масштабы, рекультивация*, М.-1993.- 81с.

5. Алексеев В.А. *Тяжелые металлы в почвах и растениях*. -Л.: Агропромиздат.- 1987. -142 с.

6. Ильин В.Б. *Тяжелые металлы в системе почва-растение*. – Новосибирск: Наука.- 1991. – 151 с.

7. И.А.Шильников и др.- М.: Россельхозиздат.- 1980. -286 с.

8. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. *Микроэлементы в почвах и растениях*. -М.: Мир. -1989.- 250 с.

9. Кашин В.К., Иванов Г.М. *Никель в почвах Забайкалья // Почвоведение*. -1995.- № 10.- С.1291-1298.

10. Сапронова С.Г. *Фитоценозы северных степных экосистем западной части Центрального Черноземья и их изменение под влиянием антропогенных факторов: Автореферат дис. канд. с.-х. наук*. - Курск.- 2001.- 20 с.

11. Кулагин А.А., Шагиева Ю.А. *Древесные растения и биологическая консервация промышленных загрязнителей / Отв. ред. Г.С. Розенберг*. – М.: Наука.- 2005. – 190 с.

12. Метелкин А.С. *Миграция тяжелых металлов в цепи почва – растение на прифермских землях с разной степенью загрязнения в центральном районе нечерноземной зоны России. Автореферат дис.канд. биол. наук*.-Балашиха. -2008. -20 с.

Резюме

В статье приводятся материалы исследования, проведенной в промышленных районах Восточно-Казахстанской области. Наши данные показывают, что в травянистых растениях наибольшее скопление тяжелых металлов наблюдалось в опаде и корнях (0-10 см слое), наименьшее их содержание в укосе. Аккумуляция и распределение тяжелых металлов у ивы в вегетативных органах (листья, ветки, корни) равномерное, а у березы наибольшее накопление тяжелых металлов наблюдается в корнях.

Summary

In article materials the research, East Kazakhstan area lead industrial regions are resulted. Our data show, that in grassy plants the greatest congestion of heavy metals was observed in deciduous and in roots (0-10 cm a layer), their least content in a hay crop. Accumulation and distribution of heavy metals at a willow in vegetative bodies (leaves, twigs, roots) uniform, and at a birch the greatest accumulation of heavy metals is observed in roots.

УДК.577.151/ 177

Бейсембаева Р.У., Бедарева Т.Е., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В.

ИССЛЕДОВАНИЕ КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ PGH-СИНТАЗЫ ПРОСТАГЛАНДИНСИНТАЗНОЙ СИСТЕМЫ КЛЕТОК КРОВИ И МЫШЦ ОВЕЦ (Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Выделены препараты мембраносвязанной простагландин синтазной системы клеток крови и мышц овец. Исследованы каталитические свойства PGH-синтаза - первого фермента биферментной системы. Установлено, что специфический ингибитор индометацин ингибирует PGH-синтазу клеток крови, но не влияет на фермент клеток мышц, аспирин полностью инактивирует PGH-синтазу клеток мышц. Предполагается, что в клетках мышц и крови функционируют разные изоформы PGH-синтазы.

Простагландин Н синтаза (PGH-синтаза) – первый фермент простагландинсинтазной биферментной системы. Это высоколабильный, скоростьлимитирующий фермент катализирует конверсию арахидоновой кислоты до PGG_2 и его последующее превращение в PGH_2 . Образование PGH_2 протекает одинаково во всех органах и тканях. Второй фермент простагландин-Н-конвертаза (PGH-конвертаза) трансформирует PGH_2 в специфический для каждого органа или ткани простагландин [1].

PGH-синтаза проявляет две каталитические активности - циклооксигеназную и пероксидазную. Циклооксигеназный активный центр PGH-синтазы осуществляет реакцию образования двойной эндоперекиси с изомеризацией углеводородной цепи арахидоновой кислоты до PGG_2 .

Пероксидазный активный центр, при участии донора электронов и кофактора гема, восстанавливает PGG₂ до PGH₂ [2].

Простагландины (PG) – это семейство межклеточных и внутриклеточных медиаторов, участвующие в функционировании кровеносной, нервной и репродуктивной систем, в развитии воспалительных процессов и иммунного ответа. Действие простагландинов сказывается на всех уровнях регуляции физиологических функций. Они способны изменять активность ферментов, влиять на синтез гормонов и корректировать их действие на различные органы и ткани. Дисбаланс в синтезе простагландинов приводит к развитию многих заболеваний [2,3].

В данной работе проведено сравнительное исследование свойств PGH-синтазы простагландинсинтазной системы, функционирующей в клетках крови и мышц.

Материалы и методы

Источником выделения простагландинсинтазной системы служили клетки периферической крови и мышц овец, полученные от здоровых взрослых животных. Биферментный препарат выделяли в виде мембранной фракции.

Выделение простагландинсинтазной биферментной системы клеток крови

К свежеполученной крови добавляли цитрат и центрифугировали (1200 g, 5 мин, 4°C). Верхний слой, плазму с клетками (концентрация клеток 5-6 тыс/мл), отделяли, осадок отбрасывали. Отобранную плазму снова центрифугировали при 11500 g в течение 15 минут при 4°C.

Осадок суспендировали в 0,1 М трис-НС1 буфере, pH 8,2, гомогенизировали с использованием гомогенизатора Даунса (объем - 3 мл, зазор - 0,07 мм). Микроскопирование гомогенизированного осадка показало, что он не содержит целых клеток. Затем мембранную фракцию исследовали на пероксидазную активность PGH-синтазы. Результаты показали, что выделенные препараты мембранной фракции проявляют пероксидазную активность, и она составляет $1,95 \pm 0,15$ мкмоль тетрагваякола расчете на 1 мг белка.

Выделение простагландинсинтазной биферментной системы мышц

Гомогенат мышц в 0,1 М трис-НС1 буфере, pH 8,2, готовили по стандартной методике [4]. Полученный гомогенат центрифугировали (2000 об/мин. 30 мин), осадок отбрасывали. Супернатант исследовали методом микроскопирования на содержание клеток (средняя концентрация 1-1,5 тыс/мл), затем снова центрифугировали (11500 g, 15 мин 4°C). Осадок суспендировали в 0,1 М трис-НС1 буфере, pH 8,2 и гомогенизировали (гомогенизатор Даунса). Микроскопирование гомогенизированного осадка показало, что он не содержит целых клеток. Затем мембранную фракцию исследовали на пероксидазную активность PGH-синтазы. Препарат проявлял пероксидазную активность, равную $3,0 \pm 0,2$ мкмоль тетрагваякола в расчете на 1 мг белка.

Определение активности PGH-синтазы

Циклооксигеназную активность PGH-синтазы определяли биосинтетическим методом, в условиях, при которых PGH-конвертаза неактивна, при этом PGH₂ превращался в PGE₂ путем химической изомеризации. Полученный простагландин E₂ термостатировали при 37° С 30 минут в спиртовом растворе КОН для его перевода в более устойчивый PGB₂. Удельную активность фермента выражали в виде отношения количества PGB₂ (мкг), синтезированного за 30 минут на 1 мг белка мембранной фракции [1].

Пероксидазную активность PGH-синтазы измеряли спектрофотометрическим методом и выражали в виде количества окисленной формы гваякола (тетрагваякола) (мкмоль) или окисленной формы адреналина (адренохрома), образованного 1 мг белка мембранной фракции за 30 минут [1].

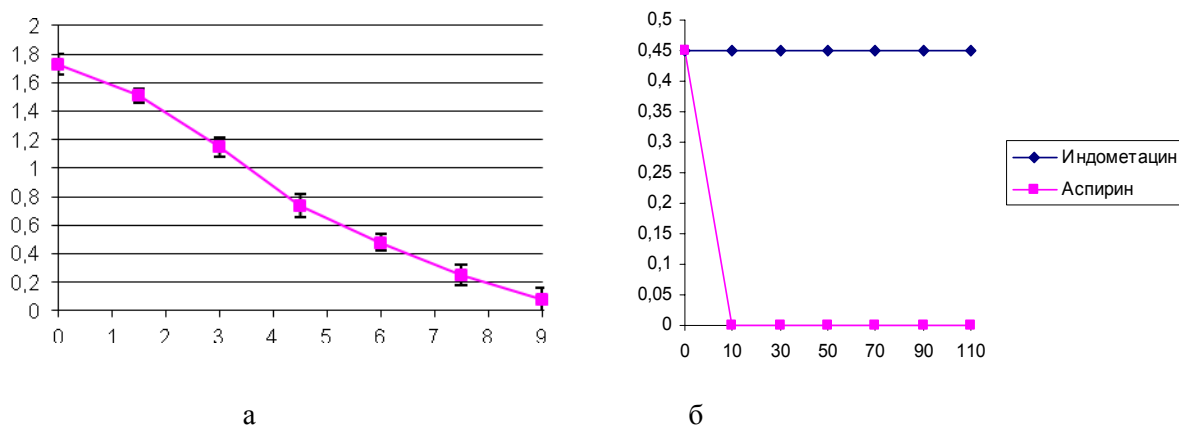
Зависимость пероксидазной активности PGH-синтазы от количества индометацина и ацетилсалициловой кислоты определяли изменяя в реакционной среде количество ингибитора.

Определение концентрации белка проводили колориметрическим методом с реактивом Бенедикта [4].

Результаты и их обсуждение

Ферментный препарат клеток крови и мышц выделяли в виде мембранной фракции по модифицированному методу, разработанному ранее [5]. Выделенные препараты анализировали на пероксидазную активность PGH-синтазы. Для доказательства, что измеряемая нами пероксидазная активность характерна для PGH-синтазы, а не для других мембраносвязанных ферментов клеток, исследовали влияние селективных ингибиторов циклооксигеназной активности PGH-синтазы аспирина и индометацина [7,8]. Аликвоты мембранной фракции клеток крови, суспендированной в 0,1 М трис-НС1 буфере, pH 8,2, инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре с индометацином, затем измеряли пероксидазную активность PGH-синтазы. Аналогично проводили

исследование влияния индометацина и аспирина на пероксидазную активность мембранной фракции мышц. Результаты представлены на рисунке 1.



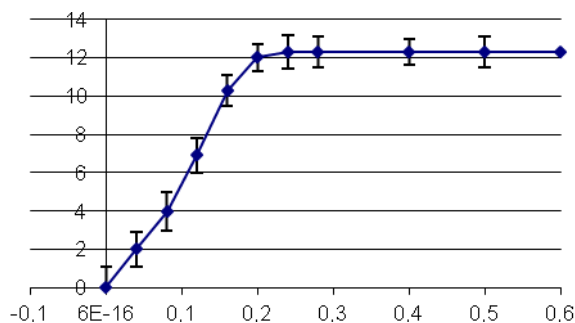
По оси абсцисс - количество индометацина или аспирина, ммоль; по оси ординат - пероксидазная активность PGH-синтазы, мкмоль тетрагваякола.
Условия определения активности: 0,1 М трис-НС1 буфер, рН 8,2; H₂O₂ - 1 ммоль; адреналин - 0,25 ммоль; гемин - 2,0 мкмоль; 37°C.

Рисунок 1 - Влияние индометацина и аспирина на пероксидазную активность PGH-синтазы клеток крови (а) и мышц (б)

Индометацин ингибировал пероксидазную активность мембранной фракции крови, с увеличением количества индометацина в реакционной среде степень инактивации PGH-синтазы повышалась (рисунок 1а). В то же время индометацин не оказывал никакого влияния на ферментный препарат мышц (рисунок.1б). В связи с этим исследовали влияние аспирина, второго специфичного ингибитора PGH-синтазы. Результаты исследования показали, что при наличии в инкубационной среде аспирина пероксидазная активность PGH-синтазы мембранной фракции клеток мышц подавляется (рисунок 1б). Следовательно, пероксидазная активность мембранной фракции мышц также связана с присутствием PGH-синтазы. Вероятно, различное влияние индометацина связано с наличием разных изоформ PGH-синтазы в составе простагландинсинтазной системы клеток крови и мышц [9-13].

PGH-синтаза - это гемзависимый трехсубстратный фермент, субстратами ее являются арахидоновая или любая ненасыщенная жирная кислота, содержащая 20 атомов углерода, донор электронов и кислород [3]. Далее исследовали зависимости циклооксигеназной и пероксидазной активностей PGH-синтазы клеток крови от количества субстрата, донора электронов и кофактора.

Зависимость циклооксигеназной активности PGH-синтазы от количества субстрата определяли, изменяя в реакционной среде количество арахидоновой кислоты в пределах от 0 до 0,6 ммоль (рисунок 2). Условия определения активности: время реакции 30 минут; 37°C; 0,1 М трис-НС1 буфер, рН 8,2; 1 мг белка мембранной фракции; адреналин - 0,25 ммоль, гемин - 2,0 мкмоль.

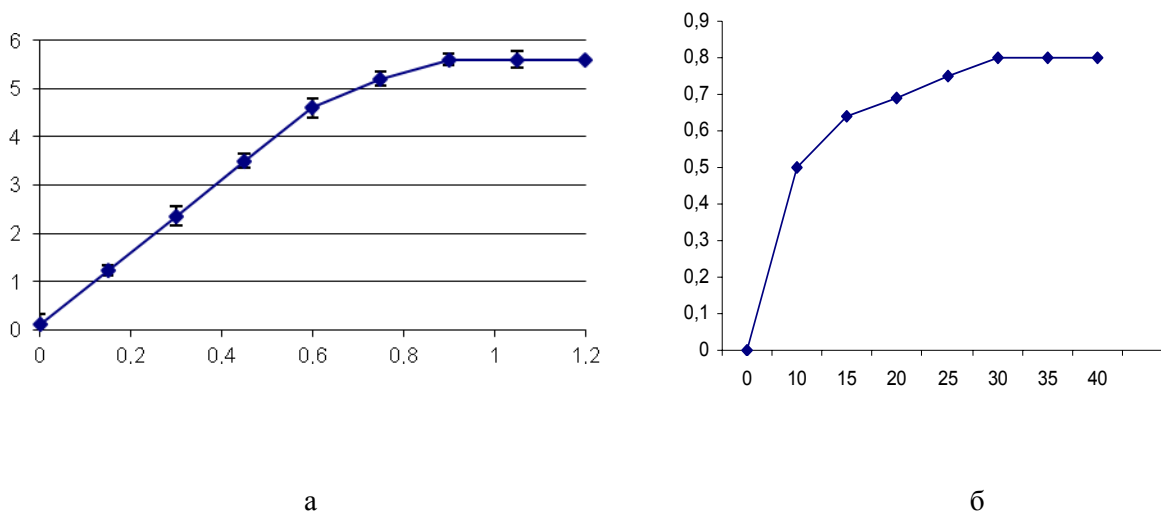


По оси абсцисс - количество арахидоновой кислоты, ммоль; по оси ординат - суммарная активность PGH-синтазы, мкг PGB₂ на 1 мг белка за 30 минут.

Рисунок 2 - Зависимость циклооксигеназной активности PGH-синтазы клеток крови от количества арахидоновой кислоты

Зависимость пероксидазной активности PGH-синтазы от количества субстрата определяли, изменяя в реакционной среде количество перекиси водорода в пределах 0- 1,2 ммоль (рисунок 3). Условия определения активности аналогичны условиям определения циклооксигеназной активности.

Полученные результаты показали, что циклооксигеназная активность PGH-синтазы клеток крови максимальна в присутствии в реакционной среде 0,22 ммоль арахидоновой кислоты на 1 мг белка мембранной фракции и составляет в среднем $12,3 \pm 1,6$ мкг PGB_2 , максимальная пероксидазная активность PGH-синтазы ($5,6 \pm 0,2$ мкмоль адrenoхрома) достигается при 1,0 ммоль перекиси водорода. Условия определения активности как указано в подписи к рисунку 1



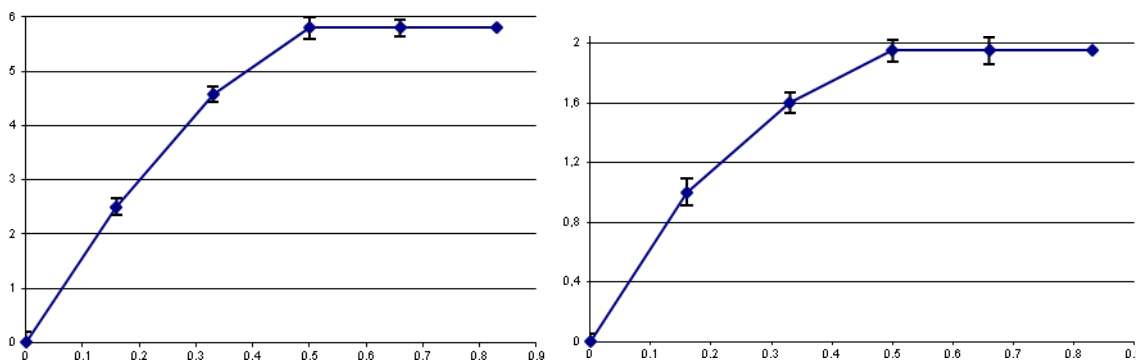
По оси абсцисс - количество перекиси водорода, ммоль; по оси ординат - пероксидазная активность PGH-синтазы, мкмоль адrenoхрома на 1 мг белка за 30 минут.

Рисунок 3 - Зависимость пероксидазной активности PGH-синтазы клеток крови (а) и мышц (б) от количества перекиси водорода

PGH-синтаза в составе мембранной фракции клеток мышц проявляла максимальную пероксидазную активность при 2,7 ммоль перекиси водорода в расчете на 1 мг белка.

PGH-синтазная реакция весьма неспецифична по отношению к природе донора электронов - второго субстрата этого фермента. Под действием PGH-синтазы в сопряженной реакции окисляются такие восстановители, как гидрохинон, адреналин, ферроцианид калия, NADH, аскорбиновая кислота, гваякол, пирокатехин, триптофан и дихлорфенолиндофенол.

Далее исследовали зависимость пероксидазной активности PGH-синтазы от количества в реакционной среде доноров электронов, адреналина или гваякола. Зависимость пероксидазной активности PGH-синтазы от количества донора электронов определяли добавляя в реакционную среду разные количества адреналина (0-0,83 ммоль) или гваякола (0-0,83 ммоль). Полученные результаты представлены на рисунках 4 и 5.



Условия определения активности: время реакции 30 минут; 37°C; 0,1 М трис-HCl буфер, pH 8,2; 1 мг белка мембранной фракции; гемин - 2,0 мкмоль; n=6.

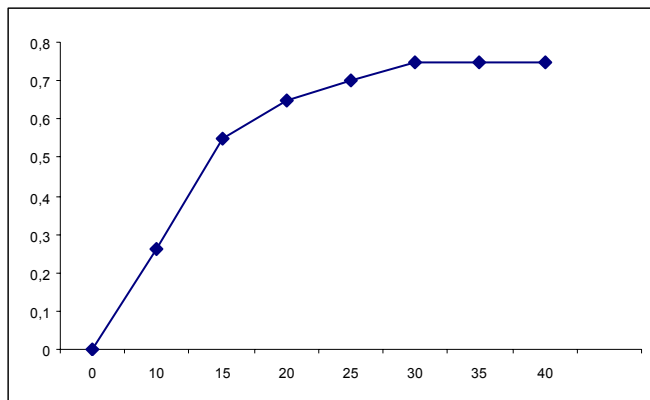
По оси абсцисс - количество гваякола, мкмоль; по оси ординат - пероксидазная активность PGH-синтазы, мкмоль тетрагваякола на 1 мг белка за 30 минут.

Рисунок 4 - Зависимость пероксидазной активности PGH-синтазы клеток крови

от количества донора электронов, а) гваякола, б) адреналина.

Найдено, что оптимальным количеством любого из исследованных доноров электронов для пероксидазной активности РGH-синтазы клеток крови является 0,5 ммоль.

В случае РGH-синтазы клеток мышц максимальная пероксидазная активность отмечалась при наличии в среде 0,3 ммоль гваякола.



По оси абсцисс - количество гваякола, ммоль; по оси ординат - пероксидазная активность РGH-синтазы, ммоль тетрагваяколана 1 мг белка за 30 минут.

Условия определения активности как указано в подписи к рис.5

Рисунок 5 - Зависимость пероксидазной активности РGH-синтазы клеток мышц от количества гваякола

Каталитически работоспособной формой РGH-синтазы является комплекс белка с гемин, при стехиометрическом соотношении белок:гемин равно 1:1. Гемин легко отделяется от РGH-синтазы, его необходимо добавлять в реакционную среду при определении активности РGH-синтазы [2].

Исследования зависимостей циклооксигеназной и пероксидазной активностей РGH-синтазы мембранной фракции клеток от концентрации гемина показали, что обе активности РGH-синтазы максимальны при 1 ммоль гемина в реакционной среде.

Таким образом, в клетках крови и мышц функционируют простагландинсинтазные системы, в состав которых входят разные изоформы РGH-синтазы.

Литература

- 1 Варфоломеев С.Д., Мевх А.Т. Простагландины - молекулярные биорегуляторы. - М.: МГУ, 1985. - 308 с.
- 2 Варфоломеев С.Д. Простагландины - новый тип биологических регуляторов // Соровский образовательный журнал. - 1996. - Т. 61. - С. 723-735.
- 3 Scholz H. Prostaglandins // Am J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. - 2003. - Vol. 285. - P. 512-514.
- 4 Рогожин В.В. Практикум по биологической химии: Учебно-методическое пособие.- СПб.: Изд. «Лань»Ю 2006.- 256 с.
- 5 Бейсембаева Р.У., Бедарева Т.Е., Зацерковная Т.А., Дунгенова Р.Е. Исследование простагландинсинтазной системы мононуклеарных клеток периферической крови овец. 1. Выделение простагландинсинтазной системы и изучение свойств простагландин-Н-синтазы. // Вестник КазНУ. Сер. биол. - 2003. - №3 (21). - С. 21-25.
- 6 Kurumbail R.G., Stevens A.M., Gierse J.K., McDonald J.J., Stegeman R.A., Pak J.Y., Gildehaus D., Miyashiro J.M., Penning T.D., Seibert K. et al. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents // Nature. - 1996. - Vol. 384. - P. 644-648.
- 7 Bozza P.T., Payne J.L., Morham S.G., Langenbach R., Smithies O., Weller P.F. Leukocyte lipid body formation and eicosanoid generation: cyclooxygenaseindependent inhibition by aspirin // PNAS. - 1996. - Vol. 93. - P. 11091-11096.

8 Simmons D.L., Botting R.M. and Hla T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition // *Pharmacol. Rev.* - 2004. - Vol. 56. - P. 387-437.

9 Smith W.L., Garavito R.M., DeWitt D.L. Prostaglandin endoperoxide H synthase (cyclooxygenases)-1 and -2 // *J.Biol.Chem.* - 1996. - Vol. 271. - P. 33157-33160.

10 Smith W. L. and Langenbach R. Why there are two cyclooxygenase isozymes? // *J. Clin. Invest.* - 2001. - Vol. 107. - P. 1491-1495.

11 Warner T.D, Mitchell J.A. Cyclooxygenase-3 (COX-3): Filling in the gaps toward a COX continuum? // *PNAS.* - 2002. - Vol. 99. - P. 13371-13373.

12 Kulmacz R.J., Van Der Donk W.A., Tsai A.L. Comparison of the properties of prostaglandin H synthase-1 and -2 // *Prog. Lipid Res.* - 2003. - Vol. 42. - P. 377-404.

13 Бедарева Т.Е., Лукпекова И.Л., Мурзагалиева А.Т., Бейсембаева Р.У. Исследование пероксидазных свойств простагландин-Н-синтазы мононуклеарных клеток крови овец // *Вестник КазНУ. Сер. биол.* - 2006. - №2 (28). - С. 27-31.

Тұжырым

Қойдың қан мен бұлшық ет клеткаларынан жарғақшамен байланысқан простагландинсинтаза жүйелері бөлініп алынды. Биферментті жүйенің бірінші ферменттің, PGH-синтазаның каталитикалық қасиеттері зертелінді. Индометацин, PGH-синтазаның ерекше тежегіші қан жасушаның PGH-синтазасын тежейді. Бұлшық еттің ферментіне индометацин әсер етпейді, ал аспирин тежейді. Сонымен қан және бұлшық жасушаларының простагландинсинтаза жүйелернің құрамына PGH-синтазаның әртүрлі изоформалары кіреді.

Summary

Preparations of membrane-bounded prostaglandine-synthase system of blood cells and muscle cells of sheeps were extracted. The catalytic properties of PGH-synthase - first enzyme of bienzyme system have been investigated. It was shown that specific inhibitor as endometacin inhibited PGH-synthase of blood cells, but did not influence on the enzyme of muscle cells, aspirin completely inactivate PGH-synthase of muscle cells. We propose that various isoforms of PGH-synthase function in cells of muscle and blood.

УДК.577.151/ 177

Бейсембаева Р.У., Карпенюк Т.А., Бедарева Т.Е, Гончарова А.В.
ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
PGH-СИНТАЗЫ КЛЕТОК КРОВИ ОВЕЦ
(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Исследовано влияние факторов среды (рН, температуры) на активность мембраносвязанной PGH-синтазы клеток крови и установлены оптимальные условия для ее определения. Показано, что мембраносвязанная PGH-синтаза более стабильна, чем солюбилизованная, адреналин повышает стабильность, а ионы кальция увеличивают активность PGH-синтазы.

Простагландин Н синтаза (PGH-синтаза) – скоростьлимитирующий фермент биферментной системы, ответственной во всех клетках за синтез простагландинов (PG). Он катализирует конверсию арахидоновой кислоты до PGG₂ и его последующее превращение в PGH₂. Второй фермент простагландин Н конвертаза (PGH-конвертаза) трансформирует PGH₂ в специфический для каждого органа или ткани простагландин [1]. Это высоколабильный фермент, который полностью инактивируется при инкубации и в процессе реакции. Высокая лабильность PGH-синтазы является основной проблемой для создания стабильного, высоко активного гетерогенного катализатора для биотехнологического метода получения простагландинов.

Простагландины – биологически активные соединения, которые участвуют в регуляции многих физиологических систем организма, в том числе кровеносной, нервной, репродуктивной, в развитии воспалительных процессов и иммунного ответа. Дисбаланс в синтезе простагландинов приводит к развитию многих заболеваний [2,3]. Простагландины широко используются в медицине и ветеринарии.

В данной работе проведено исследование влияния факторов среды на каталитические свойства PGH-синтазы простагландинсинтазной системы, функционирующей в клетках крови.

PGH-синтаза проявляет две каталитические активности - циклооксигеназную и пероксидазную. Циклооксигеназный активный центр PGH-синтазы осуществляет реакцию образования двойной эндоперекиси с изомеризацией углеводородной цепи арахидоновой кислоты до PGG₂.

Пероксидазный активный центр, при участии донора электронов и кофактора гемина, восстанавливает PGG₂ до PGH₂ [3].

Материалы и методы

Источником для выделения простагландинсинтазной системы служили клетки крови здоровых взрослых овец.

Выделение простагландинсинтазной системы клеток крови проводили по методу, описанному в (4). Ферментный препарат получали в виде мембраносвязанной биферментной системы.

Определение активности PGH-синтазы

Суммарную (циклооксигеназная + пероксидазная) активность мембраносвязанной PGH-синтазы клеток крови определяли биосинтетическим методом [3] в условиях, при которых PGH₂ превращался в PGE₂ путем химической изомеризации. Реакционную смесь объемом 2,5 мл (0,1 М трис-НСl буфер рН 7,8-8,2, 37°C), содержащую 1,7 мг белка мембранной фракции, 0,25 ммоль адреналина, 2 мкмоль гемина и 1 ммоль арахидоновой кислоты, инкубировали в течение 30 минут в условиях постоянного перемешивания, затем реакцию останавливали внесением 0,1 н НСl до рН 3,5. Образовавшийся в ходе реакции PGE₂ экстрагировали 4 мл этилацетата, из экстрактов удаляли воду с помощью Na₂SO₄, затем удаляли этилацетат выпариванием в вакууме. Остаток растворяли в 2 мл этилового спирта, к раствору добавляли спиртовой раствор 2 н КОН и выдерживали 30 минут при 37°C для щелочной изомеризации лабильного PGE₂ в стабильный PGB₂. Затем измеряли поглощение раствора при λ=278 нм и рассчитывали количество PGB₂, принимая ε=23000 М⁻¹см⁻¹. Удельную суммарную активность PGH-синтазы выражали в виде количества PGB₂ (мкг), синтезированного 1 мг белка мембранной фракции за 30 мин.

Пероксидазную активность PGH-синтазы измеряли спектрофотометрическим методом [1].

Реакционную смесь объемом 3 мл (0,1 М трис-НСl буфер, рН 8,2, 37°C), содержащую 1,7 мг белка мембранной фракции, 0,25 мМ гваякола, 2 мкмоль гемина, 1,0 ммоль перекиси водорода, инкубировали в течение 30 минут при 37°C. Затем измеряли поглощение раствора при λ=470 нм и рассчитывали количество тетрагваякола принимая ε=6400 М⁻¹см⁻¹. Пероксидазную активность PGH-синтазы выражали в виде количества тетрагваякола (мкмоль), образованного 1 мг белка мембранной фракции за 30 минут.

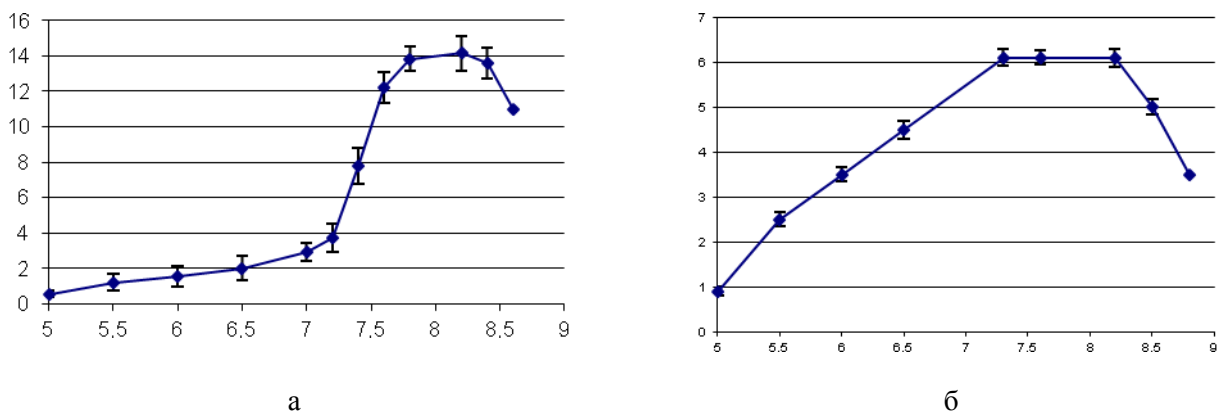
Аналогично проводили определение пероксидазной активности PGH-синтазы клеток крови, добавляя в реакционную смесь в качестве донора электронов адреналин. Количество образованного адrenoхрома определяли, измеряя поглощение раствора при λ=480 нм, принимая ε=4000 М⁻¹см⁻¹. Пероксидазную активность PGH-синтазы выражали в виде отношения количества адrenoхрома (мкмоль), образовавшегося за 30 минут, на 1 мг белка мембранной фракции.

Определение концентрации белка проводили колориметрическим методом с реактивом Бенедикта [5].

Результаты и их обсуждение

Мембраносвязанный ферментный препарат выделяли из клеток крови. Наличие PGH-синтазы доказывали, определяя пероксидазную активность ферментного препарата и влияние на нее индометацина, специфического ингибитора циклооксигеназной активности. Средняя пероксидазная активность ферментного препарата была равна 5,6±0,2 мкмоль адrenoхрома на 1 мг белка за 30 минут. Выделенные ферментные препараты после инкубации с индометацином не проявляли пероксидазную активность. Следовательно, в составе ферментного препарата содержится PGH-синтаза.

При проведении простагландинсинтазной реакции могут быть использованы различные буферные системы. Наиболее подходящим для определения PGH-синтазной активности, независимо от источника фермента, является трис-НСl буфер [3]. Зависимость суммарной активности PGH-синтазы от значения рН реакционной среды исследовали, используя 0,1 М трис-НСl буферные растворы рН 5,0-9,0. Полученные результаты показали, что рН-оптимум для суммарной активности PGH-синтазы клеток крови находится в пределах 7,8-8,4 (рисунок 1).



По оси абсцисс - значение pH реакционной среды (0,1 М трис-HCl буфер); по оси ординат - суммарная активность PGH-синтазы, мкг PGV₂ на 1 мг белка за 30 минут.

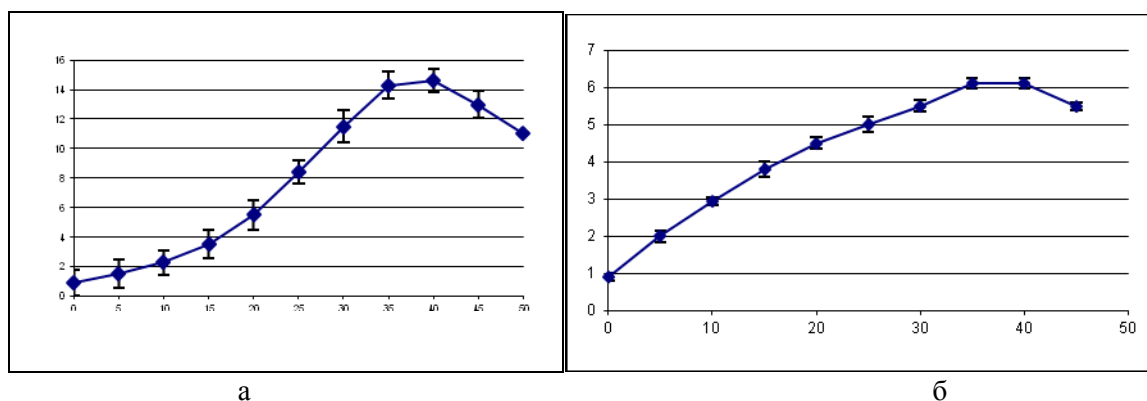
Рисунок 1- Зависимость суммарной (а) и пероксидазной (б) активности PGH-синтазы от значения pH реакционной среды

Затем определяли пероксидазную активность PGH-синтазы, используя реакционную среду с разными значениями pH (от 5,0 до 9,0). Из результатов, представленных на рисунке 2, видно, что для пероксидазной активности pH-оптимум находится в пределах 7,6-8,2.

Таким образом, pH-оптимум для суммарной и пероксидазной активностей PGH-синтазы практически одинаков, для пероксидазной реакции он незначительно сдвигается к нейтральному значению.

Далее была исследована зависимость суммарной и пероксидазной активности PGH-синтазы от температуры реакционной среды.

Активности PGH-синтазы определяли, инкубируя реакционную смесь при разных температурах (4-50°C). Из данных рисунка 3 видно, что PGH-синтаза проявляет максимальные активности при температуре 35-45°C. Следует отметить, что кривая зависимости пероксидазной активности от температуры более пологая, не наблюдается столь узкого температурного оптимума, как в случае суммарной активности. Это может быть обусловлено более высокой термостабильностью пероксидазного активного центра, по сравнению с циклогеназным.



По оси абсцисс - температура реакционной среды, °C; по оси ординат - (а) суммарная, (б) пероксидазная активность PGH-синтазы

Рисунок 2 - Зависимость суммарной (а) и пероксидазной (б) активности PGH-синтазы от температуры реакционной среды

На следующем этапе работы исследовали стабильность PGH-синтазы во времени. Известно, что PGH-синтаза относится к лабильным ферментам, которые быстро инактивируются при инкубации [4]. Например, активность солибилизированной PGH-синтазы, выделенной из везикулярных желез барана, в течение первых суток инкубации при 4°C снижалась на 67-70%. Инактивацию PGH-синтазы во времени замедляло присутствие в среде доноров электронов. Добавление адреналина

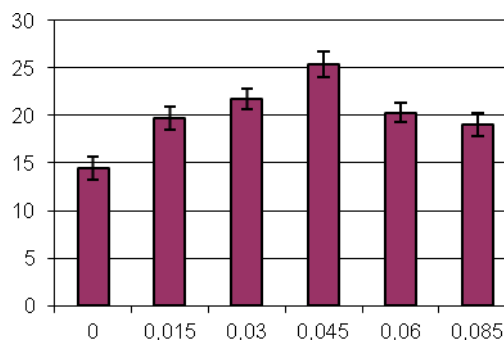
приводило к сохранению 40% исходной активности после четырех суток инкубации солюбилизированной PGH-синтазы везикулярных желез барана [7].

Для выяснения характера изменения во времени суммарной активности PGH-синтазы клеток крови свежесыводенный мембраносвязанный ферментный препарат хранили в течение одной недели при 4°C в 0,1 М трис-НС1 буфере, рН 8,2. В день получения, через 1, 2, 5 и 7 суток хранения определяли суммарную активность PGH-синтазы. Результаты данного исследования показали, что PGH-синтаза в течение первых 2 суток сохраняет 95% исходной активности, через 7 суток активность снижается на 25%.

Далее исследовали влияние адреналина на изменение суммарной активности PGH-синтазы клеток крови во времени. К свежесыводенному ферментному препарату добавляли адреналин в соотношении 0,66 ммоль на 1 мг белка, оставляли при 4°C и измеряли суммарную PGH-синтазную активность через 0, 1, 2, 5 и 7 суток хранения. Полученные результаты показали, что в присутствии адреналина активность PGH-синтазы за 7 суток снижается на 10%. Следовательно, адреналин оказывает стабилизирующее влияние на мембраносвязанную PGH-синтазу клеток крови, так же как на солюбилизованную PGH-синтазу везикулярных желез.

Аналогично исследовали изменение пероксидазной активности свежесыводенной мембраносвязанной PGH-синтазы во времени. Полученные результаты показали, что пероксидазная активность в течение 7 суток не понижается.

Большая стабильность PGH-синтазы клеток крови по сравнению с ферментом из везикулярных желез может быть связана с особенностями получения ферментных препаратов и их формой. PGH-синтаза везикулярных желез представляют собой солюбилизованный фермент, а клеток крови мембраносвязанный фермент. Возможно, в этом случае максимально сохраняется оптимальное для PGH-синтазы липидное окружение, что и обуславливает ее более высокую стабильность.



По оси абсцисс - количество сульфата кальция, ммоль; по оси ординат - суммарная активность PGH-синтазы, мкг PGB₂ на 1 мг белка за 30 минут.

Рисунок 3 - Зависимость активности PGH-синтазы от количества сульфата кальция

Как известно, ионы кальция выступают в качестве стимуляторов синтеза простагландинов *in vivo*. Их стимулирующее действие связано, главным образом, с активацией фосфолипаз, ответственных за высвобождение арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов [8]. Ранее было установлено, что присутствие ионов кальция в реакционной среде приводит к двукратному увеличению суммарной активности солюбилизованной PGH-синтазы везикулярных желез барана. На пероксидазную активность PGH-синтазы ионы кальция влияния не оказывали [7].

В связи с этим исследовали влияние сульфата кальция на активность PGH-синтазы мембраносвязанной простагландинсинтазной системы клеток крови овец. Вначале определили зависимость суммарной активности PGH-синтазы от количества сульфата кальция в реакционной среде. Полученные результаты представлены на рисунке 3.

Таким образом установлено, что мембраносвязанная PGH-синтаза клеток крови стабильна во времени, при этом циклооксигеназный активный центр фермента более лабилен, чем пероксидазный. Степень инактивации циклооксигеназного активного центра PGH-синтазы во времени при 4°C снижается при добавлении в среду доноров электронов. При наличии ионов кальция в среде циклооксигеназная активность PGH-синтазы увеличивается.

Литература

1 Варфоломеев С.Д. Простагландины - новый тип биологических регуляторов // Соровский образовательный журнал. - 1996. - Т. 61. - С. 723-735.

2 Scholz H. Prostaglandins // *Am J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* - 2003. - Vol. 285. - P. 512-514.

3 Варфоломеев С.Д., Мевх А.Т. Простагландины - молекулярные биорегуляторы. - М.: МГУ, 1985. - 308 с.

4 Бейсембаева Р.У., Бедарева Т.Е., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В. Исследование каталитических свойств PGH-синтазы простагландинсинтазной системы клеток крови и мышц овец. // *Вестник КазНУ. Сер. биол.* - 2010- в печати

5 Рогожин В.В. Практикум по биологической химии: Учебно-методическое пособие.- СПб.: Изд. «Лань»Ю 2006.- 256 с.

6 Простагландины / под. ред. И.С. Ажгихина - М.: Медицина, 1978. - 365 с.

7 Бейсембаева Р.У., Зацерковная Т.А. Влиянии е донора электронов и ионов кальция на активность простагландин-Н-синтазы. *Вестник КазНУ, сер.биологическая, 2000. - №3 (11). С.30-31.*

8 Murakami M., Yoshihara K., Shimbara S., Lambeau G., Gelb M.H., Singer A.G., Sawada M., Inagaki N., Nagai H., Ishihara M., Ishikawa Y., Ishii T. and Kudo I. Cellular arachidonate-releasing function and inflammation-associated expression of group IIF secretory phospholipase A2 // *J. Biol. Chem.* - 2002. - Vol. 277. - P. 19145-19155.

Тұжырым

Қан жасушаларының жарғақша байланысқан PGH-синтазаның белсенділігіне орта факторларының (рН, температура) әсері зерттелінді, каталитикалық белсенділігін анықтау үшін оптималды жағдайы анықталынды. Жарғақшамен байланысқан PGH-синтаза тұрақты. Адреналин әсерінен PGH-синтазаның тұрақтылығы жоғарлайды, кальций иондарының әсерінен белсенділігі ұлғаяды.

Summary

The influence of various factors (pH, temperature) on the activity of membrane-bounded PGH-synthase of blood cells was investigated and optimal conditions for her determination were established. It was shown that membrane-bounded PGH-synthase is more stable, than soluble form, adrenalin increase her stability, but Ca ions increase the activity of PGH-synthase.

УДК 575.113; 577.21

Берилло О.А., Хайленко В.А., Иващенко А.Т. СВОЙСТВА ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В РАЗВИТИИ РАКА ПИЩЕВОДА (Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Приведен анализ свойств 9 генов участвующих в развитии рака пищевода. Предлагается перечень праймеров для отдельных экзонов или групп экзонов с целью использования их для выявления мутаций в белок-кодирующей части гена, а также для участков и всей пре-мРНК или мРНК.

Рак пищевода среди онкологических заболеваний является шестым по частоте заболевания мужского населения в мире. Чешуеклеточная карцинома и аденокарцинома пищевода являются наиболее распространенными злокачественными заболеваниями пищевода человека. Эти два гистологических типа вида рака пищевода часто приводят к метастазу в лимфатические узлы и другие органы. Симптоматические проявления этих заболеваний обнаруживаются поздно, что осложняет их диагностику. В настоящее время отсутствуют ранние методы диагностики чешуеклеточной карциномы и аденокарциномы пищевода, что приводит к запоздалой диагностике заболевания и плохому прогнозу. Поэтому необходимо знание молекулярных основ патогенеза этих заболеваний с целью разработки методов ранней диагностики. Различные мутации в генах участвующих в развитии рака пищевода влияют на клеточный цикл, репликацию ДНК и апоптоз. Существующие молекулярные тесты на рак пищевода являются слабо чувствительными и недостаточно специфичными [1-3]. В связи с этим требуется дальнейший поиск молекулярных маркеров обладающих способностью однозначно и как можно раньше диагностировать данное злокачественное заболевание.

Материалы и методы

Характеристика гена содержит последовательно: расшифровку аббревиатуры на английском языке, синонимические названия гена, код GenBank, локализацию гена в хромосоме и число экзонов в гене. Далее приводится краткое описание свойств кодируемого белка и участие белка в онкогенезе.

Приводится таблица с перечнем праймеров для отдельных экзонов или групп экзонов с целью использования их для выявления мутаций в белок-кодирующей части гена и, если необходимо для частей или всей пре-мРНК, а также мРНК.

Результаты исследований

DCC – deleted in colorectal carcinoma, (*CRC18; CRCR1; IGDCCI*), NC_000018.9, 18q21.3, содержит 29 экзонов. Ген кодирует трансмембранный белок – член семейства молекул клеточной адгезии. Цитоплазматическая часть белка взаимодействует с тирозин-киназой и центральной киназой адгезии ФАК, известной как РТК2. Белок индуцирует апоптоз в отсутствие лигандов. Он функционирует как опухолевый супрессор и часто мутирует, вызывая рак пищевода и прямой кишки. Ген связан с развитием рака пищевода, рака толстой кишки, рака желудка, лейкемии, карциномы головы и шеи [1, 2]. В гене *DCC* выявлены точечные замены в кодоне 168 АТГ (Met) на АСГ (Thr) и в кодоне 201 СГА(Arg) на ГГА (Gly). Установлена связь потери гетерозиготности и развитием и метастазирующей способностью рака пищевода. Показано, что у 23% больных потеряны аллели гена, что связано с обнаружением у них метастазов [4]. Праймеры экзонов для выявления мутаций в гене *DCC* приведены в таблице.

DLEC1 – deleted in lung and esophageal cancer 1, (*F56; DLCL1*), NC_000003.11, 3p22-p21.3, ген содержит 37 экзонов. Участок локализации гена обычно теряется при разных карциномах. Есть альтернативные варианты сплайсинга пре-мРНК, которые содержат разрывы кодирующей части и кодируют не функционирующий белок. Аберрантные транскрипты гена могут включаться в карциногенез пищевода [5-7]. Выявлено изменение экспрессии гена при других онкологических заболеваниях: рак толстой кишки, рак

Таблица - Праймеры для генов участвующих в развитии рака пищевода

Экзоны (длина)	5'-праймер (sense)	3'-праймер (antisense)
1	2	3
Ген <i>DCC</i> (4344 н.)		
Экзоны 1-6 (1140 н.)	5'-ATGGAGAATAGTCTTAGATG-3'	5'-CACTATCTGAAAATAATCAC-3'
Экзоны 7-14 (1024 н.)	5'-GGAGGAAGCAACTTACGGAT-3'	5'-CATCTAGATCATTTCTCTGGA-3'
Экзоны 15-22 (1065 н.)	5'-AATCTCAAGTTCCTGATCAA-3'	5'-CATTTAGGGTGCTTCTATCA-3'
Экзоны 23-29 (1115 н.)	5'-AGCCGCCAATTGGACAAATG-3'	5'-TTAAAAGGCTGAGCCTGTGA-3'
Ген <i>DLEC1</i> : вариант 1 (5337 н.)		
Экзоны 1-5 (1094 н.)	5'-ATGGAGACCAGGAGCTCCAA-3'	5'-CTGCTGCAGCTGGTCCACGA-3'
Экзоны 6-13 (1018 н.)	5'-TTGTGCTGATACTCCAGTGT-3'	5'-CTCATGAGGAGAAAAGCTCA-3'
Экзоны 14-22 (1148 н.)	5'-CTGAGGGATTTTCACAGTGT-3'	5'-CTGCAATCAGAGCTCTCCTT-3'
Экзоны 23-30 (1045 н.)	5'-CACAGAGCAGTGGCCAGGCC-3'	5'-CTTGCTGTCCAAGCTCATGA-3'
Экзоны 31-36 (1032 н.)	5'-GTGGAAAGGGAGATTCCAGG-3'	5'-TTATGTTAGCTCTGAGGACA-3'
Ген <i>DLEC1</i> : вариант 2 (5268 н.)		
Экзоны 1-5 (1094 н.)	5'-ATGGAGACCAGGAGCTCCAA-3'	5'-AGTACAGAGCCAGAACAGAG-3'
Экзоны 6-13 (1018 н.)	5'-TTGTGCTGATACTCCAGTGT-3'	5'-CTCATGAGGAGAAAAGCTCA-3'
Экзоны 14-21 (1017 н.)	5'-CTGAGGGATTTTCACAGTGT-3'	5'-CTGGGTATGAGCAGTCAACT-3'
Экзоны 22-29 (1050 н.)	5'-GAAGAGCTGACCCATCTGGC-3'	5'-CACCTGCTTGGGGCTGATAC-3'
Экзоны 30-37 (1089 н.)	5'-GTGGTCCCTGCTGGGGGCAG-3'	5'-TCAGGGCTGGTGAGGCAACA-3'

Продолжение таблицы

1	2	3
Ген LZTS1 (1791 н.)		
Экзоны 1 (345 н.)	5'-ATGGGCAGCGTCAGTAGCCT-3'	5'-CATTTCTAGCTGATTGGAGA-3'
Экзоны 2 (804 н.)	5'-GGCTCCGAGAAGGGTGCAGT-3'	5'-CTCCCACTGGGTCTCCTCCA-3'
Экзоны 3 (642 н.)	5'-GTGTGCCAGAAGTCAGGCCGA-3'	5'-TCAGATCTCAGTGGCTATGA-3'
Ген MTOR (7650 н.)		
Экзоны 1-6 (1122 н.)	5'-ATGCTTGGAACCGGACCTGC-3'	5'-CTGATCAAATTTCTCCTCCA-3'
Экзоны 7-12 (1098 н.)	5'-GTGTGCCAGTGGGTGCTGAA-3'	5'-CTGGATGAGCATCTTGCGCA-3'
Экзоны 13-20 (1085 н.)	5'-ATTTTGACAGAGTTGGAGCA-3'	5'-CTTGATAGAGACAATGCGGC-3'
Экзоны 21-28 (1052 н.)	5'-TTACTGGCTGCAATCCAGCT-3'	5'-CAGCTCTCCAAAGTGTTC-3'
Экзоны 29-37 (1044 н.)	5'-GAGATCCAGGCTACCTGGTA-3'	5'-CTTGTACCAGCTGCGGTCGT-3'
Экзоны 38-44 (994 н.)	5'-GCCTGGCATGCGTGGGCAGT-3'	5'-CTGAGGCAGCTGCTTTGAGA-3'
Экзоны 45-53 (1024 н.)	5'-CTCACATCCTTAGAGCTGCA-3'	5'-CGACTGACTGGCCAGCAGAG-3'
Экзоны 54-57 (288 н.)	5'-AAATTTTGGACGGTGTGGAA-3'	5'-TTACCAGAAAGGGCACCAGC-3'
Ген RNF6 : вариант 1 (429 н.)		
Экзоны 1-4 (429 н.)	5'-ATGAATCAGTCTAGATCGAG-3'	5'-TCAGCTTGATCTGGCAAAG-3'
Ген RNF6 : вариант 2 (2058 н.)		
Экзоны 1-2 (289 н.)	5'-ATGAATCAGTCTAGATCGAG-3'	5'-CTCTGTAATTCGTTCCATCT-3'
Экзон 3 (1769 н.)	5'-ACTCAGAAGTCCCTAGAGAA-3'	5'-TTACCCATTGTTTGCTATGT-3'
Ген SMAD4 (1659 н.)		
Экзоны 1-5 (787 н.)	5'-ATGGACAATATGTCTATTAC-3'	5'-TATGATGGTAAGTAGCTGGC-3'
Экзоны 6-11 (872 н.)	5'-ACAGCACTACCACCTGGACT-3'	5'-TCAGTCTAAAGGTTGTGGGT-3'
Ген TGFBR2 (1704 н.)		
Экзоны 1-4 (529 н.)	5'-ATGGGTCGGGGGCTGCTCAG-3'	5'-CTTCTGAGAAGATGATGTTG-3'
Экзон 5 (800 н.)	5'-AATATAACACCAGCAATCCT-3'	5'-CTGCCCACTGTTAGCCAGGT-3'
Экзоны 6-8 (450 н.)	5'-GTGGGAACTGCAAGATACAT-3'	5'-CTATTGGTAGTGTTTAGGG-3'
Ген TP53 (1182 н.)		
Экзоны 1-3 (378 н.)	5'-ATGGAGGAGCCGCAGTCAGA-3'	5'-CGTGCAAGTCACAGACTTGG-3'
Экзоны 4-6 (410 н.)	5'-ТАСТССССТGCCCTCAACAA-3'	5'-CTGGAGTCTTCCAGTGTGAT-3'
Экзоны 7-10 (404 н.)	5'-TGGTAATCTACTGGGACGGA-3'	5'-TCAGTCTGAGTCAGGCCCTT-3'
Ген WFOX : вариант 1 (1056 н.)		
Экзоны 1-5 (516 н.)	5'-ATGAATCAGTCTAGATCGAG-3'	5'-CCATTCTTCTAAAATGCGTG-3'

Продолжение таблицы

1	2	3
Экзон 6-8 (540 н.)	5'-CATAAAGCCAAGGTAGAAGC- 3'	5'-CATGGACTTGGTGAAAGGCC- 3'
Ген <i>WWOX</i> : вариант 2 (570 н.)		
Экзон 1-6 (570 н.)	5'-ATGGCAGCGCTGCGCTACGC- 3'	5'-CTAGTGGAAAATTTTATTC- 3'
Ген <i>WWOX</i> : вариант 3 (111 н.)		
Экзон 1 (111 н.)	5'-ATGGCAGCGCTGCGCTACGC- 3'	5'-TТАCTTGGCGTAGTAAACCC- 3'

TGFBR2 – transforming growth factor, beta receptor II, (*AAT3; FAA3; HNPCC6, MFS2; RIIC; LDS1B; LDS2B; TAAD2; TGFR-2; TGFbeta-RII*), NC_000003.11, 3p22, ген имеет 9 экзонов, 2 альтернативных варианта сплайсинга. Ген кодирует белок семейства серин-треониновых протеиновых киназ и подсемейства TGFβ рецепторов. Белок является трансмембранным и имеет протеин киназный домен, формирует гетеродимерный комплекс с другим белковым рецептором и связывает TGF-β. Этот комплекс фосфорилирует белки, которые входят в ядро и регулируют транскрипцию генов отвечающих за клеточную пролиферацию. Ген участвует в развитии онкологических заболеваний: рак пищевода, рак толстой кишки, рак желудка, миелома, рак носоглотки, рак молочной железы, рак простаты, рак легкого, рак почки [8-9]. Мутации варианты альтернативного сплайсинга определяются помощью подобранных праймеров (таблица).

TP53 – tumor protein p53 (*p53; LFS1; TRP53; FLJ92943; TP53*), NC_000017.10, 17p13.1, ген имеет 11 экзонов. Выявлены альтернативные варианты транскрипции и 7 изоформ альтернативного сплайсинга. Этот ген кодирует белок p53, участвующий в ответе на различные клеточные стрессы, необходим для регуляции генных мишеней, участвующих в регуляции клеточного цикла, апоптоза, старения, ДНК репарации и в изменениях метаболизма. Белок p53 экспрессируется на низком уровне в нормальных клетках и с высоким уровнем в различных трансформированных клетках. Белок является ДНК-связывающим белком содержащим домены связывания ДНК, активации транскрипции и олигомеризации. Белок является опухолевым супрессором. Выявлено изменение экспрессии гена при множестве онкологических заболеваний: [10-17]. Для выявления многочисленных вариантов альтернативного сплайсинга предложены праймеры (таблица).

WWOX – WW domain containing oxidoreductase, (*FOR; WOX1; FRA16D; HHCMA56; PRO0128; SDR41C1; D16S432E; WWOX*), NC_000016.9, 16q23.3-q24.1, ген содержит 9 экзонов. WW домен содержится в белках, играющих важную роль в регуляции большого разнообразия клеточных функций: деградация белков, транскрипция и сплайсинг РНК. Выявлено изменение экспрессии гена при онкологических заболеваниях: рак пищевода, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак легкого, рак молочной железы, рак печени, рак яичников, карцинома щитовидной железы, множественная миелома, рак простаты, чешуеклеточная карцинома ротовой полости, рак печени, менингиома, рак мочевого пузыря [18].

Литература

- 1 Kilic A., Schuchert M., Luketich J. et al. Use of novel autoantibody and cancer-related protein arrays for the detection of esophageal adenocarcinoma in serum // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 2008, V.136, P.199–204.
- 2 Yang Y., Li H., Xu X et al. An expression of squamous cell carcinoma antigen 2 in peripheral blood within the different stages of esophageal carcinogenesis // *Dis. Esophagus*, 2008, V.21, P.395–401.
- 3 Bird-Lieberman E., Fitzgerald R. Early diagnosis of oesophageal cancer // *British Journal of Cancer*, 2009, V.101, P.1–6.
- 4 Miyake S., Nagai K., Yoshino K. et al. Point mutations and allelic deletion of tumor suppressor gene DCC in human esophageal squamous cell carcinomas and their relation to metastasis // *Cancer Res.*, 1994, V.54, P.3007–3010.
- 5 Ying J., Poon F., Yu J. et al. DLEC1 is a functional 3p22.3 tumour suppressor silenced by promoter CpG methylation in colon and gastric cancers // *British Journal of Cancer*, 2009, V.100, P.663–669.
- 6 Kwong J., Chow L., Wong A. et al. Epigenetic inactivation of the deleted in lung and esophageal cancer 1 gene in nasopharyngeal carcinoma // *Genes Chromosomes Cancer*, 2007, V.46, P.171–180.
- 7 Kei J., Zhou T., Shi Y. et al. Infrequent DPC4 gene mutation in esophageal cancer, gastric cancer and ulcerative colitis-associated neoplasms // *Oncogene*, 1996, V.13, P.2459–2462.

8 Jin G., Deng Y., Miao R. et al. *TGFB1 and TGFBR2 functional polymorphisms and risk of esophageal squamous cell carcinoma: a case-control analysis in a Chinese population // J. Cancer Res. Clin. Oncol., 2008, V.134(3), P.345–351.*

9 Canova C., Hashibe M., Simonato L., et al. *Genetic associations of 115 polymorphisms with cancers of the upper aerodigestive tract across 10 European countries: the ARCAGE project // Cancer Res., 2009, V.69 (7), P.7–12.*

10 Hollstein M., Metcalf R., Welsh J. et al. *Frequent mutation of the p53 gene in human esophageal cancer // Proc. Nat. Acad. Sci., 1990, V.87, P.9958–9961.*

11 Arai M., Shimizu S., Imai Y. et al. *Mutations of the Ki-ras, p53 and APC genes in adenocarcinomas of the human small intestine // Int. J. Cancer, 1997, V.70, P.390–395.*

12 Wheeler J., Warren B., Mortensen N. et al. *An insight into the genetic pathway of adenocarcinoma of the small intestine // Gut., 2002, V.50, P.218–223.*

13 Baker S., Fearon E., Nigro J. et al. *Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas // Science, 1989, V.244, P.217–221.*

14 Malkin D., Li F., Strong L. et al. *Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms // Science, 1990, V.250, P.1233–1238.*

15 Borresen A., Andersen T., Garber J. et al. *Screening for germ line TP53 mutations in breast cancer patients // Cancer Res., 1992, V.52, P.234–3236.*

16 Jones J., Chi X., Gu X. et al. *p53 polymorphism and age of onset of hereditary nonpolyposis colorectal cancer in a Caucasian population // Clin. Cancer Res., 2004, V.10, P.5845–5849.*

17 Liu Y., Bodmer W. *Analysis of P53 mutations and their expression in 56 colorectal cancer cell lines // Proc. Nat. Acad. Sci., 2006, V.103, P.976–981.*

18 Kuroki T., Trapasso F., Shiraishi T. et al. *Genetic alterations of the tumor suppressor gene WWOX in esophageal squamous cell carcinoma // Cancer Res., 2002, V.62, P.2258–2260.*

Тұжырым

Өңеш ісігінің дамуына қатысатын 9 геннің қасиеттерінің анализі жасалды. Жеке немесе экзондар тобында геннің белок кодтайтын бөлігінде мутацияларды анықтау үшін праймерлер келтірілген, сонымен қатар толық пре-мРНК немесе мРНК үшін.

Summary

Analysis of properties of 9 genes, participating in development of esophageal cancer is resulted. The list of primers for separate exons or group of exons for the purpose of their use for revealing of mutations in a protein-coding part of gene, and also for regions and all of pre-mRNA or mRNA is offered.

УДК 575.113; 577. 21

**Иващенко А.Т., Хайленко В.А., Берилло О.А., Исабекова А.С.,
Атамбаева Ш.А., Кабдуллина А.А.**

**ПРОБЛЕМЫ РАННЕЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Созданы базы генов ответственных за возникновение рака пищевода, желудка, ободочной кишки, тонкой кишки, прямой кишки и молочной железы. Показано, что за онкологические заболевания различных органов желудочно-кишечного тракта и молочной железы человека ответственны по несколько генов. Один ген может участвовать в развитии онкозаболеваний разной локализации. Предлагается использовать молекулярные маркеры для оценки стадии заболеваний и ее особенностей, а также для контроля эффективности процесса лечения.

Генодиагностика онкологических заболеваний с применением современных высокотехнологичных методов молекулярной биологии в последнее десятилетие быстро внедряется в клиническую практику. Одна из задач молекулярной диагностики онкологических заболеваний (ОЗ) заключается в выявлении их на ранних этапах возникновения когда они морфологически еще не выявляемы. Трудность такой диагностики имеет ряд причин. Онкологические заболевания могут развиваться во многих тканях и органах. При этом наблюдается большое разнообразие форм проявления в одном органе или одной ткани. Существующие методы выявления генов и белков ответственных за возникновение ОЗ разработаны на основе сопоставления мутировавших генов и морфологически выявленных онкологических заболеваний, то есть уже при развитом процессе

заболевания. Такие корреляции безусловно нужны потому что в настоящее время многие онкологические заболевания выявляются при их морфологически выраженной форме. Естественно, что при прогрессии онкологических заболеваний происходит изменение все большего числа генов и их продуктов причастных к этому процессу. Эти обстоятельства еще более осложняют выявление генов первоначально участвующих в возникновении ОЗ. Следовательно необходимы знания о соответствии стадий онкологических заболеваний и генов причастных к ОЗ на каждой стадии. К сожалению, во многих публикациях не учитываются эти обстоятельства и полученные данные имеют не совсем адекватное отражение существующей связи между стадией заболевания и числом генов участвующих в его течении.

Еще совсем недавно как правило было выявлено по 1-2 гена с мутациями имеющими отношение к протеканию конкретного ОЗ, что породило представление о моногенной или дигенной причине возникновения онкологических заболеваний. В настоящее время с увеличением возможностей выявлять одновременно десятки и сотни генов с отклоненной от нормы экспрессией, число генов возможно причастных к возникновению онкологических заболеваний значительно выросло и продолжает быстро увеличиваться. В результате сейчас известно по несколько генов связанных с одним ОЗ и несколько онкологических заболеваний связанных с одним геном. Эти обстоятельства сильно затрудняют специфическое выявление конкретного ОЗ по молекулярным маркерам, так как необходим поиск ассоциаций генов участвующих в развитии заболевания данной локализации. В такой ситуации молекулярная диагностика онкологических заболеваний имеет вероятностный характер предсказания конкретного ОЗ. В настоящее время на ранней стадии онкологических заболеваний с помощью молекулярных маркеров можно определить только вероятность ОЗ, а не его точную локализацию.

В связи с выше сказанным поиск молекулярных маркеров соответствующих какому либо ОЗ должен вестись с учетом максимально возможного числа генов и локализаций онкологических заболеваний. Иначе селективность маркирования ОЗ будет недостоверной. Для этого необходимо провести огромный объем работы по сбору и анализу существующих данных о связи онкологических заболеваний с генами с измененной экспрессией. В связи с этим нами проводилась работа по созданию базы данных об онкогенах и установлению соответствия между наиболее распространенными ОЗ и выявленными генами с мутациями для определения вероятной специфичности конкретных генов с развитием рака пищевода [1-3], желудка [4-8], тонкой кишки [9-11], толстой кишки [12-21] и молочной железы [22-29].

На основе созданной многоцелевой базы данных по значимым мутациям в геноме человека с формированием групп наиболее информативных полиморфизмов, ассоциированных с риском развития мультифакторных онкологических заболеваний нами проведен комплексный анализ более ста генов участвующих в развитии опухолевых заболеваний. Проведенная компьютерная обработка результатов с помощью специального программного обеспечения, позволила провести широкомасштабный сравнительный анализ генотипирования опухолей желудочно-кишечного тракта и молочной железы. Рассмотрим несколько примеров характеризующих важные свойства онкогенов и свойств новообразований.

При выявлении молекулярных маркеров опухоли необходимо учитывать гетерогенность популяции клеток [30]. Например, в опухоли молочной железы отчетливо выявляются две линии опухолевых клеток (CD24+ и CD44+) с особенностями метаболизма и с отличиями по некоторым молекулярным маркерам. Например, для CD44+ клеток характерен повышенный обмен нуклеотидов, клеточная подвижность, ангиогенез. В популяции CD24+ клеток отмечается повышенный катаболизм углеводов, РНК сплайсинг, ионный гомеостазис. Доля CD24+ клеток значительно увеличивается при метастазах. В рассмотренном случае необходимо с учетом гетерогенности популяции клеток рака молочной железы использовать различные подходы лечения опухоли с помощью химиотерапии и лучевой терапии, а также контролировать эффективность угнетения опухолевого роста. Гетерогенность клеток по свойствам характерна и для других опухолей, что обуславливает необходимость учета этого фактора при разработке стратегии их лечения.

В таблице 1 представлены сведения о распределении онкогенов по локализации: рак пищевода, желудка, ободочной кишки, тонкой кишки, прямой кишки, молочной железы человека. Выявленные онкогены локализованы в хромосомах неравномерно. Например, наибольшее их количество сосредоточено в хромосоме 2 (восемь генов). В хромосоме 17 локализовано пять генов, однако ее длина значительно меньше длины хромосомы 2, то есть плотность онкогенов примерно одинакова в этих хромосомах.

Следует отметить, что число генов ответственных за онкозаболевания различных локализаций быстро увеличивается с развитием методов молекулярной диагностики и по мере выполнения исследований эта база данных будет нами пополняться. Например, с середины 2008 года по настоящее время число выявленных генов, участвующих в развитии онкозаболеваний, увеличилось более чем в два раза.

Из данных таблицы 1 видно, что некоторые гены участвуют в развитии рака различных локализаций. Например, гены *PIK3CA*, *DLC1* и *AXIN2* участвуют в развитии рака ободочной кишки, прямой кишки и молочной железы. Мутации в гене *TGFBR2* приводят к развитию рака пищевода, ободочной кишки и молочной железы. Ген *APC* участвует в развитии рака желудка, ободочной кишки и прямой кишки. Мутации в гене *CDH1* способствуют развитию рака желудка, ободочной кишки и молочной железы. Ген *SMAD4* участвует в развитии рака пищевода, желудка и прямой кишки.

Таблица 1 - Распределение онкогенов по локализации в геноме человека

Ген	Пищево д	Желудо к	Ободочная кишка	Тонкая кишка	Прямая кишка	Молочная железа
1	2	3	4	5	6	7
<i>APC</i>		+	+		+	
<i>AXIN2</i>			+		+	+
<i>BAD</i>					+	
<i>BAX</i>			+		+	
<i>BRCA1</i>						+
<i>BRCA2</i>						+
<i>BUB1</i>			+		+	
<i>BUB1B</i>					+	
<i>CAPS10</i>		+				
<i>CD44</i>	+	+	+		+	
<i>CDH1</i>		+	+			+
<i>CHEK2</i>			+		+	
<i>COX1</i>				+		
<i>COX2</i>				+		
<i>CTNNB1</i>					+	
<i>DEC1</i>	+				+	
<i>DLC1</i>			+		+	+
<i>DLEC1</i>	+					
<i>EP300</i>			+		+	
<i>ERBB1</i>					+	
<i>ERBB2</i>		+				
<i>FGFR2</i>		+			+	
<i>FLCN</i>			+		+	
<i>FSFR3</i>			+		+	
<i>Hey1</i>				+		
<i>HeyL</i>				+		
<i>Hes1</i>				+		
<i>IL1B</i>		+				
<i>IL1RN</i>		+				
<i>IRF1</i>		+				
<i>KIT</i>		+				
<i>KLF6</i>		+			+	
<i>KRAS2</i>		+			+	
<i>LCFS2</i>					+	
<i>LZTS1</i>	+				+	
<i>MAPK6</i>			+		+	
<i>MCC</i>					+	

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7
<i>MLH1</i>			+		+	
<i>MLH3</i>			+		+	
<i>MMP1</i>			+		+	
<i>MMP2</i>					+	
<i>MMP9</i>			+		+	
<i>MSH2</i>			+			
<i>MSH3</i>					+	
<i>MSH6</i>			+		+	+
<i>MUTYH</i>		+	+			
<i>MYC</i>					+	
<i>Notch1</i>				+		
<i>ODC1</i>			+			
<i>PDGFRL</i>			+		+	
<i>PGRFA</i>	+					
<i>PIK3CA</i>			+		+	+
<i>PMS1</i>			+			
<i>PMS2</i>			+		+	
<i>PTPN12</i>			+		+	
<i>PTPRJ</i>			+		+	
<i>RAD54L</i>			+		+	
<i>RNF6</i>	+					
<i>RON</i>				+		
<i>SMAD2</i>			+		+	
<i>SMAD4</i>	+	+			+	
<i>SRC</i>					+	
<i>TGFBR2</i>	+		+			+
<i>TNFSF10</i>			+		+	
<i>TOC</i>	+					
<i>TP53</i>	+			+	+	+
<i>WWOX</i>	+					

Ген *KLF6* (синонимы *GBF*; *ZF9*; *BCD1*; *CPBP*; *PAC1*; *ST12*; *COPEB*; *DKFZp686N0199*) кодирует белок KLF6 (Kruppel-like factor 6) локализованный в ядре. Белок имеет три разных домена: один участвует в связывании ДНК с гуанин-богатыми промоторными элементами, центральный серин/треонин-богатый домен участвует в пострансляционной регуляции и третий домен активирует процессы транскрипции. Одна из функций белка – потенциальный опухолевый супрессор. Мутации в гене могут играть важную роль в развитии или прогрессии рака желудка. Пониженная экспрессия гена *KLF6* коррелирует с клиническими показателями рака простаты. Отмечено участие гена в патогенезе карциномы печени. Потеря супрессорной функции гена вызывает прогрессию астроцитарной глиомы и рака прямой кишки. Отмечено участие гена в возникновении носоглоточной карциномы. Таким образом, ген может участвовать в возникновении опухолей шести локализаций. Эти примеры свидетельствуют о неоднозначности молекулярной диагностики с помощью только одного гена.

Подтверждением этого вывода являются свойства гена *MSH6*. Продуктом гена *MSH6* (синонимы *GTBP*; *HSAP*; *HNPCC5*) является белок MSH6 (*mutS* homolog 6 *E.coli*) входящий в димер MSH2-MSH6, который в свою очередь участвует в образовании комплексов с белками - продуктами экспрессии генов *BRCA1*, *MSH2*, *MUTYH*, *MLH1*, *PCNA*, *RAD50*, *MRE11*, *ATM*, *NBS1*, *RFC1*, *BARD1*, *TP53* и *BLM*. Различные комплексы этих генов контролируют клеточный цикл, в том числе вызывают онкозаболевания разных локализаций: неполипозный рак прямой кишки, рак молочной железы, рак желудка, рак толстой кишки и рак эндометрия. Приведенные данные свидетельствуют об участии ассоциаций генов в развитии некоторых онкозаболеваний.

Еще одним примером этого вывода служат данные об экспрессии гена *CD44*. Альтернативный сплайсинг пре-мРНК гена *CD44* (синонимы *IN*; *LHR*; *MC56*; *MDU2*; *MDU3*; *MIC4*; *Pgp1*; *CDW44*;

MUTCH-I; ECMR-III; MGC10468) приводит к полиморфизму продуктов экспрессии гена в нескольких тканях, в каждой из которых экспрессируется характерный набор изоформ. При нарушении альтернативного сплайсинга в результате мутаций гена наблюдаются изменения набора изоформ. Что служит одной из причин возникновения в этих тканях опухолей [31]. Продукты гена взаимодействуют с белками кодируемыми генами *ARHGEF1, CD4, CD74, COL14A1, COL1A1, COL1A2, CSK, CSPG2, DMP1, EGFR, ERBB4, EPB41, FGF2, FYN, HBEGF, IGFBP3, LCK, MADCAM1, MMP7, MMP9, NF2, PRG1, SELE, SPP1, TGFBRI, TGFB2, TIAM1, VAV2, VIL2, EPB41L3*. Большое функциональное разнообразие гликопротеина CD44 связано участием его в развитии рака пищевода, желудка, толстой кишки, печени, почки, яичника, шейки матки, молочной железы, легких, а также глиомы, остеосаркомы и лимфомы.

Некоторые гены, участвующие в онкогенезе, кодируют полифункциональные белки. Например, ген *WWOX* (синонимы *FOR; WOX1; FRA16D; HHCMA56; PRO0128; WWOX v8; D16S432E*) кодирует белок (WW домен содержащую оксидоредуктазу) играющий важную роль в регуляции широкого спектра клеточных функций, таких как деградация белков, транскрипция, сплайсинг РНК, апоптоз, супрессия опухолевого роста. Обнаружено 8 изоформ белка как результат альтернативного сплайсинга пре-мРНК. Наличие наборов разных изоформ белка *WWOX* в тканях, возможно, является причиной онкогенеза, однако наряду с этим в гене происходили мутации различных типов.

Была точно установлена хромосомная локализация по генам, ответственных за возникновение рака разных локализаций желудочно-кишечного тракта и молочной железы. Получены из Genebank их нуклеотидные последовательности. Проанализирована их экзон-интронная организация. Приведены данные о мутациях в генах, которые предположительно ответственны за изменение функции генов. Выявлены некоторые свойства белков кодируемых изученными генами. Составлен обзор данных по публикациям о свойствах генов, продуктах их экспрессии и их роли в возникновении рака изученных локализаций:

Десять генов, ответственных за возникновение рака пищевода человека (*TGFB2, DLEC1, DLC1, LZTS1, DEC1, RNF6, WWOX, TP53, TOC, SMAD4*); пятнадцать генов, ответственных за возникновение рака желудка человека (*MUTYH, IL1RN, IL1B, CAPS10, PGRFA, KIT, APC, IRF1, FGFR2, KLF6, CD44, KRAS2, CDH1, ERBB2, SMAD4*); тридцать один ген, ответственные за возникновение рака ободочной кишки человека (*RAD54L, MUTYH, BUB1, MSH2, MSH6, ODC1, PMS1, MLH1, PIK3CA, TGFB2, TNFSF10, FSR3, APC, PMS2, PTPN12, DLC1, PDGFRL, RAD54L, MMP1, PTPRJ, MLH3, MAPK6, CDH1, AXIN2, SMAD2, FLCN, BAX, MMP9, SRC, CHEK2, EP300*); восемь генов, ответственных за возникновение рака тонкой кишки человека (*APC, COX1, COX2, Hey1, HeyL, Hes1, Notch1, TP53, RONI*); сорок два гена, ответственных за возникновение рака прямой кишки человека (*APC, AXIN2, BAD, BAX, BUB1, BUB1B, CD44, CHEK2, CTNBN1, DEC1, DLC1, EP300, ERBB1, FGFR2, FLCN, FSR3, KLF6, KRAS2, LCFS2, LZTS1, MAPK6, MCC, MLH1, MLH3, MMH2, MMP1, MMP9, MSH3, MYC, PDGFRL, PIK3CA, PMS2, PTPN12, PTPRJ, RAD54L, RAD54L, RLF6, SMAD2, SRC, TGFB2, TNFSF10, TP53*,); семь генов, ответственных за возникновение рака молочной железы человека (*AXIN2, BRCA1, BRCA2, CDH1, DLC1, PIK3CA, TP53*).

Мутации в генах участвующих в онкогенезе имеют большое разнообразие. Это могут быть однонуклеотидные замены, инсерции, делеции и транслокации [32]. Причем эти мутации происходят как в экзонах, так и в интронах [33-34]. На экспрессию генов влияют мутации в межгенных участках и хромосомные перестройки. Выявлено влияние эпигенетических факторов на экспрессию онкогенов [32].

Ввиду того, что существует достаточно большая неопределенность в установлении комплексов генов участвующих в развитии опухоли, то можно только предполагать вероятные места локализации возникновения перерождения нормальных клеток в злокачественные. Необходимо выяснение конкретных мутаций в каждом случае, что будет способствовать дифференциальной диагностике онкозаболеваний. Однако уже сейчас при лечении морфологически выраженных заболеваний молекулярные маркеры можно эффективно использовать для оценки стадии заболеваний, особенностей, включая гетерогенность свойств опухоли, а также для контроля эффективности процесса лечения.

Литература

1 Hu H., Kuo C., Lee C., Wu I., Lee K., Lee J. Polymorphism in COX-2 modifies the inverse association between *Helicobacter pylori* seropositivity and esophageal squamous cell carcinoma risk in Taiwan: a case control study // *BMC Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 9. – P.82-90.

- 2 Winson Y. Ch., Rihong Zh., Matthew H. K., Rebecca S. H. *Epidermal growth factor A61G gene polymorphism, gastroesophageal reflux disease and esophageal adenocarcinoma risk // Carcinogenesis.* – 2009. – Vol. 30, № 8. – P.363-1367.
- 3 Shuhei K., Issei I., Hitoshi T., Ken-ich K. *Overexpression of SMYD2 relates to tumor cell proliferation and malignant outcome of esophageal squamous cell carcinoma // Carcinogenesis.* – 2009. – Vol. 30, № 7. – P.1139-1146.
- 4 Мозговой С.И. *Кишечная метаплазия слизистой оболочки желудка: от природы феномена к прогнозу // Бюллетень СО РАМН.* – Омск, 2009. – №3 (137). – С.5-9.
- 5 Chung H.W., Lee S., Kim H., Hong D.J., Chung J.B. *Serum high mobility group box-1 (HMGB1) is closely associated with the clinical and pathologic features of gastric cancer // J Transl Med.* – 2009. – Vol. 7. – P.123-129.
- 6 Ji F., Jin X., Jiao Ch., Xu Q., Wang Z., Chen Y. *FAT10 level in human gastric cancer and its relation with mutant p53 level, lymph node metastasis and TNM staging // World J Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15 (18). – P.2228-2233.
- 7 Zhou X., He Y., Song W., Peng J., Zhang Ch., Li W., Wu H. *Comparison of patients by family history with gastric and non-gastric cancer // World J Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15 (21). – P.2644-2650.
- 8 Dai N., Lu A., Shou Ch., Li J. *Expression of phosphatase regenerating liver 3 is an independent prognostic indicator for gastric cancer // World J Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15 (12). – P.1499-1505.
- 9 Jun G., Shannon L., Rajalakshmi N., Brad W.W. *Retinoblastoma Protein (pRb), but Not p107 or p130, Is Required for Maintenance of Enterocyte Quiescence and Differentiation in Small Intestine // The Journal of Biological Chemistry.* – 2009. – Vol. 284, №50. – P.134-140.
- 10 Silvia F., Pallavi S. K., Mathilde H., Marick L., Klaus-Peter J. *Notch and Wnt signals cooperatively control cell proliferation and tumorigenesis in the intestine // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – Vol. 106, № 15. – P.6309-6314.
- 11 Wheeler J.M., Warren B.F., Mortensen N.J., Kim H.C., Biddolph S.C., Elia G., Beck N.E., Williams G.T., Shepherd N.A., Bateman A.C., Bodmer W.F. *An insight into the genetic pathway of adenocarcinoma of the small intestine. PMID 2002 Feb;50(2):218-223.*
- 12 Yamaji I.T., Iwasaki I.M., Sasazuki I.Sh. *Methionine Synthase A2756G Polymorphism Interacts with Alcohol and Folate Intake to Influence the Risk of Colorectal Adenoma // Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention.* – 2009. – Vol. 18, №1. – P.267-274.
- 13 Meira E., Lynne R.W., Maarit T., Marcin D., Fung-Lung Ch., Marc T.G., Suzanne P. M. *Polymorphisms; and Risk of Colorectal Cancer: The Multiethnic Cohort Study // Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention.* – 2009. – Vol. 18, №1. – P.314-320.
- 14 Makiko M., Loïc L. M., Suminori K., Guang Y. *Genetic Polymorphisms of CYP2E1 and Risk of Colorectal Cancer: The Fukuoka Colorectal Cancer Study // Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention.* – 2009. – Vol.18, №1. – P.235-241.
- 15 Wanga M., Zhoua Z., Wanga L., Yua Y. *The Ile646Val (2073A>G) Polymorphism in the Kinase-Binding Domain of A-Kinase Anchoring Protein 10 and the Risk of Colorectal Cancer // Clinical Translational Research.* – 2009. – Vol. 76, № 3. – P.589-592.
- 16 Daisuke T., Yasuhide Y., Natuko T.O., Takuya H. *Relationships of Insulin-Like Growth Factor-1 Receptor and Epidermal Growth Factor Receptor Expression to Clinical Outcomes in Patients with Colorectal Cancer // Oncology.* – 2009. – Vol. 76. – P.42-48.
- 17 Sonia S. K., Jada B.T., Stanley H., Jeffrey R. A. *Novel single nucleotide polymorphism associations with colorectal cancer on chromosome 8q24 in African and European Americans // Carcinogenesis.* – 2009. – Vol. 30, № 8. – P.1353-1357.
- 18 John H., Mei-Ieng Ch., Yu-Ting H., Ming-Kwang Sh. *Overexpression of MUC15 activates extracellular signal-regulated kinase 1/2 and promotes the oncogenic potential of human colon cancer cells // Carcinogenesis.* – 2009. – Vol. 30, № 8. – P.1452-1458.
- 19 María J.L., Ester M., José M. G. *Snail2 cooperates with Snail1 in the repression of vitamin D receptor in colon cancer // Carcinogenesis.* – 2009. – Vol. 30, № 8. – P.1459-1468.
- 20 Ma E.S.K., Wong C.L.P., Law F.B.F., Chan W-K. *Detection of KRAS mutations in colorectal cancer by high-resolution melting analysis // J. Clin. Pathol.* – 2009. – № 62. – P.886-891.
- 21 Seth R., Keeley J., Abu-Ali G., Crook S., Jackson D., Ilyas M. *The putative tumour modifier gene ATP5A1 is not mutated in human colorectal cancer cell lines but expression levels correlate with TP53 mutations and chromosomal instability // J. Clin. Pathol.* – 2009. – №62. – P.598-603.
- 22 Должиков А. А., Иванов А. В., Должикова И. Н. *Взаимосвязи биологических маркеров рака молочной железы // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.* – 2009. – №1(20) – P.86-87.

23 Shauna N. V., Gloria B., William T. B., Joseph C. B. CpG Island Tumor Suppressor Promoter Methylation in Non-BRCA-Associated Early Mammary Carcinogenesis // *Cancer Epidemiology & Biomarkers Prevention*. – 2009. – Vol. 18, №3. – P.901-914.

24 Nancy U., Laetitia D. and Yves-Jean B. Rad50 c.687delT Does Not Contribute Significantly to Familial Breast Cancer in a French Population // *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. – 2009. – Vol. 18, №4. – P.684-685.

25 Michael Z. G., Shannan K. K., Wendy A. W., Xiao Z. Coexpression of 6β4 Integrin and Guanine Nucleotide Exchange Factor Net1 Identifies Node-Positive Breast Cancer Patients at High Risk for Distant Metastasis // *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. – 2009. – Vol. 18, №3. – P.80-86.

26 Nasim M., Alison M.D., Bruce A.J., Douglas F. E., Paul D.P. Common Genetic Variation in Candidate Genes and Susceptibility to Subtypes of Breast Cancer // *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. – 2009. – Vol. 18, №3. – P.255-259.

27 Meng H.T., Peter G.Sh., Jing N., Catalin M. DNA Promoter Methylation in Breast Tumors: No Association with Genetic Polymorphisms in MTHFR and MTR // *Cancer Epidemiology & Biomarkers Prevention*. – 2009. – Vol. 18, №3. – P.998-1002.

28 Huangl Y., Trentham-Dietz A., Garcia-Closas M. Association of CYP1B1 Haplotypes and Breast Cancer Risk in Caucasian Women // *Cancer Epidemiology & Biomarkers Prevention*. – 2009. – Vol. 18, №4. – P.1321-1323.

29 Yun-Ling Zh., Christopher A. L., Peter G. Sh., Sahar M. S. Chromosome 9 arm-specific telomere length and breast cancer risk // *Carcinogenesis*. – 2009. – Vol. 30, № 8. – P.1380-1386.

30 Shipitsin M., Campbell L.L., Argani P. Molecular definition of breast tumor heterogeneity. *Cancer Cell* // 2007. – №11. – P.259-273.

31 Bendardaf R, Elzagheid A, Lamlum H, Ristamäki R, Collan Y, Pyrhönen S. E-cadherin, CD44s and CD44v6 correlate with tumour differentiation in colorectal cancer // *Oncol Rep*. – 2005. – №13. – P.831-835.

32 Примроуз С., Твайман Р. Геномика. Роль в медицине // Москва. – 2008.

33 Dietzsch E., Parker M.I. Infrequent somatic deletion of the 5' region of the COL1A2 gene in oesophageal squamous cell cancer patients // *Clinical Chem. Labor. Medicine*. – 2002. – № 40. – P.941-945.

34 Corless C.L., McGreevey L., Town A. KIT gene deletions at the intron 10_exon 11 boundary in GI stromal tumors. *Journ // Mol. Diagnostics*. – 2004. – Vol. 6, № 4. – P.366-370.

35 Ye W., Kumar R., Bacova G. et al. The XPD 751Gln allele is associated with an increased risk for esophageal adenocarcinoma: a population-based case-control study in Sweden // *Carcinogenesis*. – 2006. №27. – P.1835-1841.

Тұжырым

Өңеш, асқазан, тоқ ішек, ащы ішек, тік ішек және сүт бездерінің ісік ауруы пайда болуына жауапты гендердің базалары жасалды. Адамның ас қорыту жолының әртүрлі бөліктерінің және сүт бездерінің онкологиялық ауруларына бірнеше гендердің жауапты екендігі көрсетілді. Әр түрлі мүшелерді қамтыған онкоаурулардың дамуына бір ген қатыса алады. Аурудың кезеңін және оның ерекшеліктерін бағалауда, сонымен қатар емдеу процесінің нәтижелігін бақылау үшін молекулалық маркерлерді қолдану жоспарланған.

Summary

Bases of genes responsible for occurrence of a cancer of a esophageal, a stomach, a colon, a small intestine, a rectum and a mammary gland are created. It is shown, that for oncological diseases of various basic of a gastroenteric path and a mammary cancer of the human are responsible on some genes. One gene can participate in development cancer disease different localization. It is offered to use molecular markers for an estimation of a stage of diseases and its features, and also for the control of efficiency of process of treatment.

УДК 575.113

Кабдуллина А.А., Тауасарова М.К., Иващенко А.Т.
СВЯЗЬ ЧИСЛА ИНТРОНОВ В ГЕНЕ С ДОЛЕЙ ГЕНОВ С ИНТРОНАМИ
В ГЕНОМАХ НИЗШИХ И ВЫСШИХ ЭУКАРИОТ
 (Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Показано, что хромосомы каждого из 32 изученных геномов имеют сходство по плотности генов, доле генов с интронами, среднему числу интронов в гене. Установлены зависимости между средним числом интронов в гене и долей генов с интронами в геномах протистов, низших грибов и высших эукариот.

Изучение свойств интронов и выяснение их биологической роли длится более 30 лет. Интроны были обнаружены в большинстве эукариотических геномов. Их число варьирует от нескольких интронов на весь геном [1] до нескольких десятков интронов на один ген [2-6]. Длина экзонов и интронов варьирует в зависимости от вида организма [4, 7-16] - в генах млекопитающих длина интронов в среднем более чем в 20 раз превышает длину экзонов, а в генах одноклеточных эукариот их длины сравнимы [4, 12, 14, 17-22]. Длина экзонов и интронов зависит от положения интронов в гене. Например, отношение длины первого интрона к средней длине остальных интронов более чем в два раза выше в генах *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*, *Homo sapiens*, *Danio rerio* [23]. GC-содержание [24-25] и плотность генов в участках ДНК хромосом тоже связаны с длиной интронов [13, 26]. Изучалась связь длины и числа интронов с размером геномов, однако отчетливых закономерностей не установлено [4]. Была попытка объяснить вариацию числа интронов в геноме с консервативностью 5'-сайтов сплайсинга, результат которой не дал ответа на поставленный вопрос [27]. Установлено, что геномы даже родственных организмов имеют значительные отличия по числу генов с интронами [14, 28-29].

Причины варибельности экзон-интронной организации генов остаются неизвестными, и их выяснение будет способствовать установлению биологической роли интронов. Сравнительный анализ секвенированных геномов низших и высших эукариот позволяет выяснить некоторые стороны этой проблемы. В настоящей работе была изучена связь между средним числом интронов в гене и долей генов с интронами в геномах низших и высших эукариот.

Материалы и методы

Нуклеотидные последовательности секвенированных геномов протистов: *Bigelowiella natans*, *Theileria parva*, *Dictyostelium discoideum*, *Babesia bovis*, *Plasmodium falciparum*, *Phaeodactylum tricorutum*, *Cryptosporidium muris*, *Ostreococcus lucimarinus*, *Cryptosporidium parvum*, *Paramecium tetraurelia*, низших грибов: *Aspergillus fumigatus*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Eremothecium gossypii* (*Ashbya gossypii*), *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis*, *Magnaporthe grisea*, *Neurospora crassa*, *Pichia stipitis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Ustilago maydis*, *Yarrowia lipolytica* и высших эукариот: *Homo sapiens*, *Equus caballus* (хромосома 1), *Momodaphis domestica* (хромосома 5), *Canis familiaris* (хромосома 1), *Gallus gallus* (хромосома 1), *Danio rerio* (хромосома 5), *Caenorhabditis elegans*, *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Drosophila melanogaster* были получены из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Доля генов с интронами рассчитывалась для указанных выше геномов (либо хромосом) протистов, грибов и высших эукариот. Для вычисления среднего числа интронов в генах рассчитывали общее число интронов в интрон-содержащих генах в хромосоме, либо геноме, деленное на количество этих генов.

Коэффициенты корреляций, уровень достоверности и параметры регрессий были вычислены с помощью программы на сайте http://www.fon.hum.uva.nl/Service/Statistics/Correlation_coefficient.html.

Результаты и их обсуждение

Изученные геномы значительно отличались по размеру, числу хромосом и количеству генов с экзон-интронной организацией. В каждом геноме плотность генов во всех хромосомах была примерно одинаковой. Плотность генов в расчете на 1 млн.п.н. имела тенденцию снижаться при увеличении размера генома и доли генов с интронами.

Среднее число интронов на ген не зависело от размера генома низших грибов [14]. Например геномы *S. cerevisiae*, *D. hansenii* и *S. pombe* имели близкие размеры (12070, 12221, 12535 т.п.н. соответственно), однако доля генов с интронами у *S. pombe* была примерно в десять раз больше, чем у *S. cerevisiae* и *D. hansenii* (таблица 1) [14]. Несмотря на сходство размеров геномов *U. maydis* (19530 т.п.н.) и *C. neoformans* (19054 т.п.н.), доли генов с интронами отличались в них почти в три раза (таблица 1).

Таблица 1 - Среднее число интронов в генах и доля генов с интронами в геномах протистов, низших грибов и высших эукариот

Организм		Доля генов с интронами, %	Среднее число интронов в гене
Протисты	<i>Bigelowiella natans</i>	84,8	3,59
	<i>Paramecium tetraurelia</i>	83,4	2,83
	<i>Theileria parva</i>	73,5	3,50
	<i>Dictyostelium discoideum</i>	68,5	1,90
	<i>Babesia bovis</i>	60,4	2,93
	<i>Plasmodium falciparum</i>	55,4	2,59
	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	46,9	1,75
	<i>Cryptosporidium muris</i>	21,5	1,77
	<i>Ostreococcus lucimarinus</i>	20,2	1,46
	<i>Cryptosporidium parvum</i>	1,0	1,11
Низшие грибы	<i>Cryptococcus neoformans</i>	97,0	5,44
	<i>Neurospora crassa</i>	79,6	2,13
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	78,0	2,37
	<i>Magnaporthe grisea</i>	75,9	2,49
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	45,0	2,09
	<i>Ustilago maydis</i>	37,8	1,99
	<i>Pichia stipitis</i>	25,8	1,56
	<i>Yarrowia lipolytica</i>	10,6	1,11
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4,5	1,04
	<i>Eremothecium gossypii</i>	4,5	1,02
	<i>Kluyveromyces lactis</i>	2,4	1,02
	<i>Candida glabrata</i>	1,5	1,02
Высшие эукариоты	<i>Caenorhabditis elegans</i>	97,3	5,83
	<i>Equus caballus</i>	95,9	8,96
	<i>Canis familiaris</i>	94,1	8,86
	<i>Danio rerio</i>	93,4	7,88
	<i>Momodaphis domestica</i>	91,8	6,97
	<i>Homo sapiens</i>	89,1	7,86
	<i>Gallus gallus</i>	88,9	8,42
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	77,7	5,02
	<i>Drosophila melanogaster</i>	77,0	3,65
<i>Oryza sativa</i>	72,7	4,93	

В геномах протистов тоже нет связи размера геномов с долей генов с интронами. Например, геномы *T. parva* (8310 т.п.н.) и *C. parvum* (9102 т.п.н.) имеют сходные размеры, а доли генов с интронами в них отличаются в десятки раз (таблица 1). Аналогично этому размеры геномов *P. falciparum* (22822 т.п.н.) и *T. brucei* (26025 т.п.н.) близки, но в геноме *T. brucei* генов с интронами нет, а в геноме *P. falciparum* доля их составляет 55,4%.

В геномах высших эукариот диапазон изменения доли генов с интронами небольшой - 70÷96%, однако размер геномов отличается десятки раз: 100 млн.п.н - геном *C. elegans* и 3000 млн.п.н. - геном *H. sapiens*.

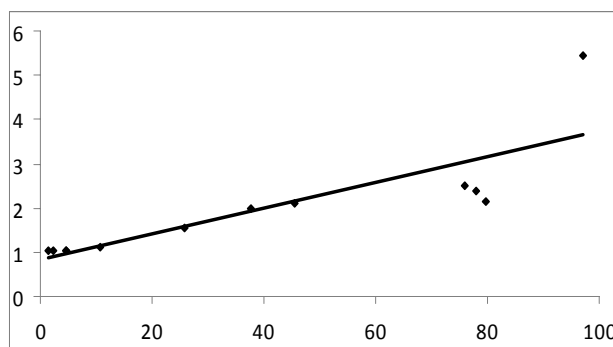
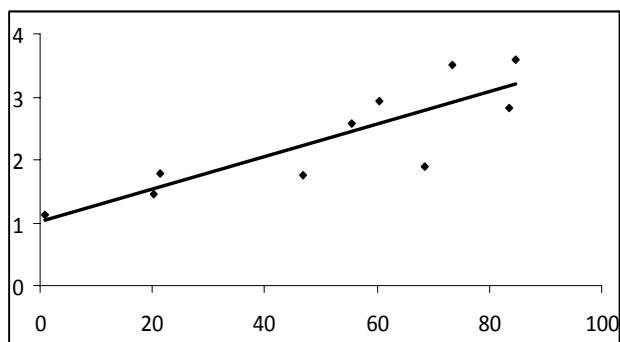
На основании приведенных данных можно утверждать, что доля генов с интронами в изученных геномах не связана с размерами геномов. Однако, в одном геноме, несмотря на многократное изменение длин хромосом, доля генов с интронами остается близкой – варибельность этого показателя составляет не более 6%. Это свидетельствует о том, что в геноме действуют механизмы поддерживающие долю генов с интронами на одном уровне.

В каждой хромосоме проявляется одинаковая тенденция изменения количества генов с равным числом интронов. То есть, нет хромосом, в которых преимущественно были бы гены только с большим числом интронов, а в других только с малым числом интронов. Можно предположить, что

равенство долей генов с интронами получается в результате случайного перераспределения генов между хромосомами в процессе эволюции, так как плотность генов во всех хромосомах тоже примерно одинакова. Более того, число генов на каждой нити хромосомы тоже близкое. Например в геномах *C. elegans* и *A. thaliana* отличия по числу генов на С- и W-нитях хромосом составляют менее 5%. Следовательно, симметрия распределения генов на нитях хромосомы явление устойчивое и это свойство характерно для каждого генома.

Из данных таблица 1 видно, что доля генов с экзон-интронной организацией в геномах протистов варьировала от 1,0% (*C. parvum*) до 84,8% (*B. natans*). В геномах низших грибов доля генов с интронами увеличивалась от 1,5% (*C. glabrata*) до 97,0% (*C. neoformans*). У высших эукариот доля генов с интронами изменялась от 72,7% (*O. sativa*) до 97,3% (*C. elegans*).

Найдена зависимость между средним числом интронов в генах и долей генов с интронами в геномах протистов (рис. 1). Данная зависимость описывается линейной регрессией: $N_{in} = a P_{ig} + b$, где a и b – параметры регрессии, а N_{in} и P_{ig} – среднее число интронов в генах и доля генов с интронами, соответственно. Приведенные в табл. 2 данные свидетельствуют о высокой степени сопряженности между средним числом интронов в генах и долей генов с интронами в геномах протистов.



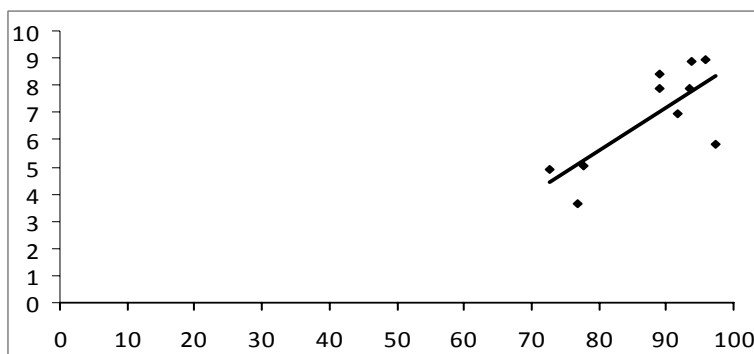
По оси абсцисс – доля генов с интронами в геномах; по оси ординат – среднее число интронов в гене.

Рисунок 1 - Зависимость между средним числом интронов в генах и долей генов с интронами в геномах *B. natans*, *T. parva*, *D. discoideum*, *B. bovis*, *P. falciparum*, *P. tricornutum*, *C. muris*, *O. lucimarinus*, *C. parvum*, *P. tetraurelia*.

Рисунок 2 - Зависимость между средним числом интронов в генах и долей генов с интронами в геномах *A. fumigatus*, *C. glabrata*, *C. neoformans*, *E. gossypii*, *S. cerevisiae*, *K. lactis*, *M. grisea*, *N. crassa*, *P. stipitis*, *S. pombe*, *U. maydis*, *Y. lipolytica*.

В связи с установленной зависимостью между средним числом интронов в генах и долей генов с интронами в геномах протистов было важно проверить существование такой зависимости в других таксономических группах. Было установлено, что низшие грибы тоже подчиняются подобной зависимости (рисунок 2). Эта зависимость описывается линейной регрессией: $N_{in} = a P_{ig} + b$, где a и b – параметры регрессии (таблица 2) с высоким коэффициентом корреляции и уровнем достоверности. Таким образом, геномы протистов и низших эукариот имеют близкие параметры зависимостей между средним числом интронов в генах и долей генов с интронами в геномах. С увеличением доли генов с интронами происходит появление генов с большим числом интронов.

Известно, что все геномы высших эукариот характеризуются высокой долей генов с интронами, и являются менее вариабельными по этому свойству генома. Нами установлена зависимость между средним числом интронов в гене и долей генов с интронами в геномах высших эукариот (рис. 3), которая показывает, что существует сходная тенденция для геномов низших и высших эукариот. Данная зависимость описывается линейной регрессией: $N_{in} = a P_{ig} + b$, где a и b – параметры регрессии (табл. 2) с высоким коэффициентом корреляции и уровнем достоверности.



По оси абсцисс – доля генов с интронами в геномах; по оси ординат – среднее число интронов в гене.

Рисунок 3 - Зависимость между средним числом интронов в генах и долей генов с интронами в геномах

H. sapiens, E. caballus, M. domestica, C. familiaris, G. gallus, D. rerio, C. elegans, A. thaliana, O. sativa, D. melanogaster.

Таблица 2 - Коэффициенты корреляций (r) с уровнем достоверности (p) и параметры регрессий (a , b) между средним числом интронов в генах и долей генов с интронами в геномах протистов, низших грибов и высших эукариот.

Параметры	Группы организмов		
	Протисты	Низшие грибы	Высшие эукариоты
a	0,021	0,026	0,144
b	0,63	0,69	6,41
r	0,7	0,8	0,7
$p <$	0,020	0,003	0,028

С увеличением доли генов с интронами в геномах происходит увеличение среднего числа интронов в гене. Повышение доли генов с интронами в геноме приводит к появлению генов с большим числом интронов. Этой закономерности подчиняются геномы как низших, так и высших эукариот. Более того, такая закономерность наблюдается не только на геномном уровне, но и на хромосомном. Так, в геноме *O. lucimarinus* хромосома 2 по сравнению с другими хромосомами имеет большую долю генов с интронами. Ее особенностью является наличие генов с 8, 10, 11, 12, 13 и 15 интронами, которых нет в остальных хромосомах. Параметры a и b зависимости между средним числом интронов в генах и долей генов с интронами в геномах низших грибов и протистов близки, но отличаются от таковых для геномов высших эукариот. Однако эти зависимости имеют общую тенденцию увеличения числа интронов в гене с увеличением в геноме доли генов с интронами. Следовательно, увеличение доли генов с интронами в геноме сопряжено с появлением генов с большим числом интронов. Эта закономерность характерна как для геномов низших, так и высших эукариот. Зависимость между средним числом интронов в гене и долей генов с интронами в геноме, по-видимому, универсальна. Так, в уникальном геноме хлоропластов одноклеточной водоросли *Euglena gracilis* имеется много генов с интронами (72%) и среднее число интронов в гене 3.30, следовательно, и этот геном тоже подчиняется установленной зависимости.

В настоящее время трудно объяснить причины, лежащие в основе выявленной зависимости, однако очевидно, что установленная закономерность имеет важное биологическое значение, связанное со структурно-функциональной организацией геномов эукариотических организмов.

Авторы выражают благодарность В.А. Хайленко и Ш.А. Атамбаевой за помощь в проведении расчетов по анализу экзон-интронной организации генов в геномах высших эукариот.

Литература

- 1 Nixon J.E.J., Wang A., Morrison H.G., McArthur A.G., Sogin M.L., Loftus B.J. et al. Spliceosomal intron in *Giardia lamblia* // PNAS. - 2002. - Vol. 99(6.) - P. 3701-3705.
- 2 Jeffares, D.C. et al. The biology of intron gain and loss // Trends Genet. - 2006. - Vol. 22. - P. 16-

- 3 Collins F.S., Lander E.S., Rogers J., Waterston R.H. International Human Genome Sequencing Consortium: Finishing the euchromatic sequence of the human genome // *Nature*. - 2004. – Vol. 431. – P. 931-945.
- 4 Deutsch M., Long M. Intron-exon structures of eukaryotic model organisms. *Nucleic Acids Research*. - 1999. – Vol. 27. – P. 3219-3228.
- 5 Sakurai A., Fujimori S., Kochiwa H., Kitamura-Abe S., Washio T., Saito R., Carninici P., Hayashizaki Y., Tomita M. On biased distribution of introns in various eukaryotes // *Gene*. - 2002. – Vol. 300. P. 89-95.
- 6 Irimia M., Roy S.W. Evolutionary convergence on highly-conserved 39 intron structures in intron-poor eukaryotes and insights into the ancestral eukaryotic genome // *PLoS Genet*. – 2008. Vol. 4(8). - e1000148.
- 7 Venter J.C., Adams M.D., Myers E.W. et al. The sequence of the human genome // *Science*. - 2001. - Vol. 291. P. 1304-1351.
- 8 Wendel J.F., Cronn R.C., Alvarez I., Liu B., Small R.L., Senchina D.S. Intron size and genome size in plants // *Mol. Biol. Evol.* - 2002. – Vol. 19. – P. 2346-2352.
- 9 Roy S.W., Hart D.L. Very little intron loss/gain in *Plasmodium*: Intron loss/gain mutation rates and intron number // *Genome Res.* - 2006. - Vol. 16. – P. 750-756.
- 10 Adams M.D., Celniker S.E., Holt R.A., Evans C.A., Gocayne J.D. et al. The genome sequence of *Drosophila melanogaster* // *Science*. - 2000. - Vol. 287. - P. 2185-2195.
- 11 Kriventseva E.V., Gelfand M.S. Statistical analysis of the exon-intron structure of higher and lower eukaryote genes // *J. Biomol. Struct. Dyn.* - 1999. – Vol. 17. - P. 281-288.
- 12 Peng L., Sakharkar K.R., Sakharkar M.K. Genome architecture – number, size and length distributions of exons and introns in six crown eukaryotic genomes // *Int. Journ. Integr. Biol.* – 2009. - Vol. 5(2). - P. 87-102.
- 13 A.T. Ivachshenko, V.A. Khailenko, S.A. Atambaeva Variations of the length of exons and introns in human genome genes. *Russian Journal of Genetics*. - 2009. - V.45(1). – P. 16-22.
- 14 Ivachshenko A.T., Tauasarova M.K., Atambaeva S.A. Exon-intron structure of genes in complete fungal genomes // *Molecular Biology*. – 2009. - Vol. 43(1). - P. 24-31.
- 15 Atambayeva S.A., Khailenko V.A., Ivachshenko A.T. Intron and exon length variation in *Arabidopsis*, rice, nematode, and human // *Molecular Biology*. – 2008. - Vol. 42(2). - P. 312–320.
- 16 Ivachshenko A.T., Atambaeva S.A. Variation in lengths of introns and exons in genes of the *Arabidopsis thaliana* nuclear genome // *Russian Journal of Genetics*. - 2004. - Vol. 40. - P. 1179–1181.
- 17 Атамбаева Ш. А., Хайленко В.А., Ащеулов А.С., Иващенко А.Т. Экзон-интронная структура генов хромосомы 1 *Canis familiaris* // *Вестник КазНУ, сер. Биологич.* – 2008. - Вып. 1(36). - С.115-117.
- 18 Атамбаева Ш.А., Иващенко А.Т., Ащеулов А.С., Хайленко В.А. Экзон-интронная структура генов хромосомы 5 *Danio rerio* // *Вестник КазНУ, сер. Биологич.* – 2008. - Вып. 1(36). - С.117-119.
- 19 Атамбаева Ш.А., Иващенко А.Т. Экзон-интронная структура генов хромосомы 1 *Gallus gallus* // *Вестник КазНУ, сер. Биологич.* – 2008. - Вып. 1(36). - С.119-122.
- 20 Ащеулов А.С., Иващенко А.Т., Атамбаева Ш.А., Хайленко В.А. Экзон-интронная структура генов хромосомы 5 *Monodelphis domestica* // *Вестник КазНУ, сер. Биологич.* – 2008. - Вып. 1(36). - С.122-124.
- 21 Тен Т.В., Иващенко А.Т., Хайленко В.А. Экзон-интронная организация генов *Drosophila melanogaster*
- 22 Хайленко В.А., Иващенко А.Т., Атамбаева Ш.А. Экзон-интронная структура генов хромосомы 1 *Equus caballus* // *Вестник КазНУ, сер. Биологич.* – 2008. - Вып. 1(36). - С.150.
- 23 Bradnam K.R., Korff I. Longer first introns are a general property of eukaryotic gene structure // *PLoS ONE*. - Vol. 3(8). - e3093.
- 24 Ivachshenko A.T., Atambaeva S.A. Variation in lengths of introns and exons in genes of the *Arabidopsis thaliana* nuclear genome // *Russ. Journ. Genetics*. - 2004. – Vol. 40. – P. 1179-1181.
- 25 Semon M., Mouchiroud D., Duret L. Relationship between gene expression and GC-content in mammals: statistical significance and biological relevance // *Human Mol. Genetics*. - 2005. Vol. 14. P. 421-427.
- 26 Atambaeva S.A., Khailenko V.A., Ivashchenko A.T. Changes of introns and exons length in genes of *Arabidopsis thaliana*, rice, nematode and human // *Mol. Biol. (Russ.)*. - 2008. - Vol. 42. – P. 1-10.
- 27 Irimia M., Penny D., Roy S.W. Coevolution of intron number and splice site // *TRENDS in Genetics*. - 2007 – Vol. 23. – P. 321-325.

28 Jacq C., Alt-Morbe J., Andre B., Arnold W., Bahr A. et al. The nucleotide sequence of *Saccharomyces cerevisiae* chromosome IV // *Nature*. - 1997. - Vol. 387. – P. 75-78.

29 Wood V., Gwilliam R., Rajandream M.A., Lyne M., Lyne R. et al. The genome sequence of *Schizosaccharomyces pombe* // *Nature*. - 2002. – Vol. 415. – P. 871-880.

Тұжырым

32 геномдардың хромосомалары зерттелген. Бір геномның құрамына кіретін хромосомалар бір-біріне гендердің тығыздығы мен интрондары бар гендердің үлесі және гендегі интрондардың орташа саны жағынан өзара ұқсастығы көрсетілді.

Summary

The chromosomes in each of 32 examined genomes are similar on gene density, portion of genes with introns and average intron number per gene. Dependence between average intron number per gene and portion of genes with introns was established in low and higher eukaryotic genomes.

ӘОК 573.086.83.;581.085

Сартбаева И.Ә., Амирова А.К., Бишимбаева Н.Қ.

БИДАЙДЫҢ СУСПЕНЗИЯЛЫ КУЛЬТУРАСЫНЫҢ ӨСУ ДИНАМИКАСЫ ЖӘНЕ КЛЕТКАЛАР ПОПУЛЯЦИЯСЫНЫҢ ҚҰРАМЫ

(Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты)

Бидайдың суспензиялы культурасының клеткалар популяциясының құрамы және өсу динамикасы анықталды. Суспензия культурасы ұзын каллусты клеткалардан, жеке орналасқан эмбриогенді клеткалардан, эмбриогенді клеткалық кешендерден және бағдарланып жойылу белгісі бар клеткалардан тұратындығы көрсетілді. 1,0 мг/л 2,4-Д МС ортасындағы суспензия культурасының өсу қарқындылығының жоғарылауы және бағдарланып жойылу белгісі бар клеткалардың санының артуы өсірудің 28-ші күніне, ал 5,0 мг/л 2,4-Д МС ортасында өсірудің 21-ші күніне сәйкес келді. Суспензия культурасының өсу динамикасы және клетка популяциясының құрамы 2,4-Д концентрациясына байланысты болды.

In vitro жағдайында өсетін өсімдік ұлпаларының морфогенез және дифференциация процестерін зерттеу өсімдіктер биотехнологиясы саласындағы маңызды мәселелердің бірі. Себебі, өсімдіктердің гендік және клеткалық технологияларының негізінде жеке бір клеткадан тұратын эмбриогенді клеткалардан пайда болатын регенерация процесі жатады. Бұдан бұрын біздің жұмыстарда бидайдың ұзақ мерзім өсірілген борпылдақ эмбриогенді (БЭ) каллустарының басқа эмбриогенді емес каллустардан айырмашылығы оның құрамында бағдарланып жойылу (БЖ) белгісі бар клеткалар болатындығы және клетка кешендерінің арасында клетка сыртына бөлінген қоймалжың заттардың бар екені көрсетілді [1]. БЭ каллустарының құрамында неғұрлым БЖ белгісі бар клеткалар көп болса, соғұрлым өсу жылдамдығы және клетка сыртына бөлінетін заттардың мөлшері жоғары болады [1].

Біздің лабораторияда гистохимиялық және электронды цитохимия әдістері арқылы БЖ белгісі бар клеткалар полисахаридті және гликопротеинді заттарды сыртына бөлетіндігі анықталды [1, 2]. Клетка сыртқылық полисахаридтерді және ақуызды заттарды бөліп алып, олардың өсу реттегіштік және стресске қарсы биологиялық белсенділігі көрсетілді [1].

Осы анықталынған биологиялық белсенді заттарды бөліп алу биотехнологиясын жасау үшін суспензия культурасындағы белсенді заттарды бөлетін БЖ белгісі бар клеткалардың санының артуын және өсу жылдамдығының жоғарылауын анықтау өте маңызды. Сол себепті, жұмыстың мақсаты бидайдың суспензия культурасының клетка популяциясының құрамын және өсу динамикасын анықтау болды.

Зерзаттары және әдістері

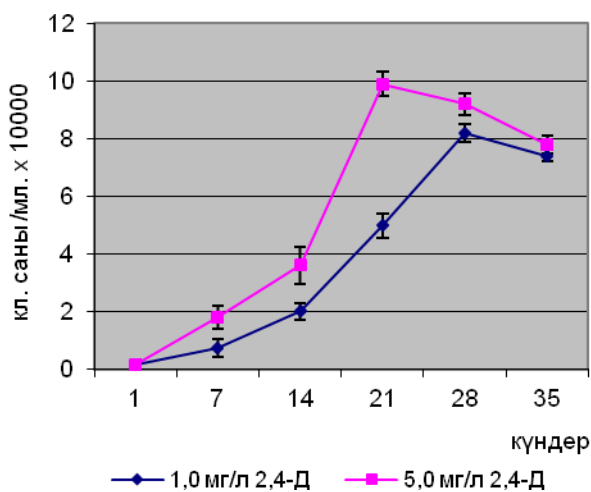
Зерттеу объектісі ретінде бидайдың (*Triticum aestivum L.*) Отан сортының ұзақ мерзім өсірілетін БЭ ұлпаларынан [3, 4] алынған клеткалық суспензиялы культурасы (КСК) болды. КСК алу үшін салмағы 2 гр. ақшыл-сары БЭ ұлпалары 2,4-дихлорфеноксисірке қышқылының (2,4-Д) әртүрлі концентрациясы (1,0 мг/л және 5,0 мг/л) қосылған сұйық Мурасиге – Скуг (МС) [5] қоректік ортасына (30 мл) көшірілді. Суспензия 24-26 °С температурада, шайқағыштың 160 айн/мин жылдамдығында өсірілді. Жоғары дисперсияланған КСК-ны алу үшін бастапқы колбадан 15-ші күнде жекеленген клеткалары бар суспензия культурасының ортаңғы гомогенді фракциясы жаңа сұйық МС

ортасына көшірілді (1:1 қатынасында). Одан кейін әр 15 күн сайын бірнеше рет жаңа қоректік ортасына көшірілгеннен соң біртекті, өсу жылдамдығы жоғары жекеленген клеткалардан тұратын эмбриогенді суспензия культураны алынды. Әр 7 күн сайын КСК-ның өсу динамикасы, тіршілікке қабілеттілігі және клеткалар популяциясының құрамы зерттеліп тұрды. Өсу динамикасы суспензия культураның 1 мл көлеміндегі клеткалар саны Фукс-Розенталь камерасын қолдану арқылы анықталды. Суспензия клеткаларының тіршілікке қабілеттілігі метилен көгі бояуымен анықталды [6]. Клеткалар популяциялар құрамы ұзын каллусты клеткаларды, жеке орналасқан эмбриогенді клеткаларды, эмбриогенді клеткалық кешендерді және БЖ белгісі бар клеткаларды санау арқылы анықталды [1, 7]. БЖ белгісі бар клеткалар морфологиялық қасиеттері бойынша анықталды: плазмолизға ұшырауы, ядросының конденсациялануы және фрагментациялануы, үлкен вакуольдің пайда болуы, клетка қабырғасының қалындауы [8, 9]. Цитологиялық зерттеу барысында Micros MC-300 (Австрия) микроскобы қолданылды.

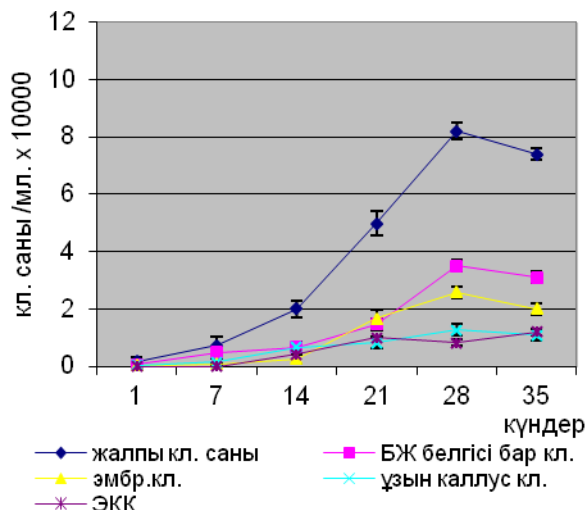
Нәтижелері және оларды талдау

Бидайдың БЭ каллустары бос жатқан бір-бірінен ерекшеленген клеткалардан және эмбриогенді кешендерден тұрады [3, 7]. Сондықтан, сұйық қоректік ортаға көшірген кезде каллус құрылымдары тез бір-бірінен ажырайды; сол себептен бұл каллус типтерінен біркелкі клеткалық суспензия культураны алу оңайға түсті. Суспензияны жиі (15 күн сайын) жаңа сұйық қоректік ортаға көшіру нәтижесінде белсенді өсетін суспензия алынды.

Тәжірибе барысында суспензия культураның өсу қарқындылығы 35 күнге дейін бақыланды. 1,0 мг/л және 5,0 мг/л 2,4-Д концентрациялары қосылған сұйық МС ортасындағы суспензия клеткаларының жалпы бастапқы тығыздығы – $0,175 \times 10^4$ кл/мл болды (1 сурет).



Сурет 1- 1,0 және 5,0 мг/л 2,4-Д концентрациялары қосылған сұйық МС ортасында суспензия культураның өсу динамикасы



Сурет - 2 1,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасында суспензияның өсу динамикасы және әр түрлі клетка типтерінің қатынасының өзгеруі

1,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасындағы КСК-ның клетка популяциясы 7 күнде – $0,740 \times 10^4$ кл/мл болды, 14-21 күнде – $2,000 - 4,980 \times 10^4$ кл/мл тығыздықты құрады. 5,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасында КСК-ның клетка популяциясы 7-14 күнде – $1,800-3,600 \times 10^4$ кл/мл, 21 күнде – $9,900 \times 10^4$ кл/мл құрайды. Яғни, клеткалардың көбею қабілеттілігінің жоғарғы шегі 1,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасында өсірудің 28-ші күніне, ал 5,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасында өсірудің 21-ші күніне сәйкес келді. 1,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасындағы клеткалардың өсу қарқындылығы 5,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасына қарағанда баяу өсетіндігі байқалды. Бұл 2,4-Д концентрацияларының клеткалардың бөлінуіне әр түрлі әсер ететінін көрсетеді (1 сурет).

1,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасындағы КСК-ның өсуі 7 күндік лаг-фазасынан кейін 28-ші күнге дейін созылған экспоненциалды фазаға ауысып, одан кейін стационарлы фазасына өтеді. 5,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасында клетка культураларының

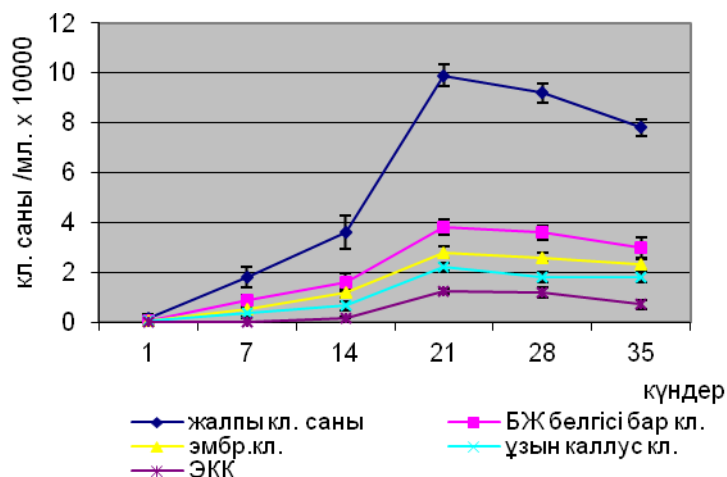
өсуі 7 күндік лаг-фазасынан кейін 21-ші күнге дейін созылған экспоненциалды фазаға ауысты. 21-28-ші күндер арасында стационарлы фазасына өтіп, КСК біртіндеп қартая бастайды.

Сонымен, өсірілген клетка культурасының экспоненциалды фазасының 14-28 күндер (1,0 мг/л 2,4-Д) және 14-21 күндер аралығында (5,0 мг/л 2,4-Д) биологиялық белсенді заттарды бөліп алуға болады.

1,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасында бидайдың клетка культураларындағы БЖ белгісі бар клеткалар мен эмбриогенді клеткалар санының артуы өсірудің 28-ші күніне сәйкес келді (2 сурет). Мысалы, ұзын каллусты клеткалар – $1,270 \times 10^4$ кл/мл, жеке бір клеткадан тұратын эмбриогенді клеткалар – $2,600 \times 10^4$ мл/кл болса, эмбриогенді клеткалық кешендер – $0,830 \times 10^4$ кл/мл және БЖ белгісі бар клеткалар саны $3,500 \times 10^4$ кл/мл болды. Яғни, өсірудің 28-ші күнінде 1,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған сұйық МС коректік ортасында КСК-ның эмбриогендік потенциалы жоғары болатындығы анықталды.

5,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған сұйық МС ортасында өсірілген бидайдың клетка культураларында БЖ белгісі бар клеткалар мен эмбриогенді клеткалар санының артуы өсірудің 21-ші күніне сәйкес келді (3 сурет). Мысалы, ұзын каллусты клеткалар – $2,200 \times 10^4$ кл/мл, жеке бір клеткадан тұратын эмбриогенді клеткалар – $2,800 \times 10^4$ мл/кл болса, эмбриогенді клеткадан тұратын кешендер – $1,250 \times 10^4$ кл/мл болса, БЖ белгісі бар клеткалар саны $3,800 \times 10^4$ кл/мл болды. Сонымен, 5,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС коректік ортасында КСК-ның эмбриогендік потенциалы өсірудің 21-ші күнінде жоғары болатындығы анықталды.

Жалпы, зерттеу жұмысы барысында биологиялық белсенді заттарды бөлетін клетка культурасының клеткалық құрамы мен өсу динамикасы көрсетілді. Клетка культурасы жиі ұзын каллусты клеткалардан, жеке бір клеткадан тұратын эмбриогенді клеткалардан, эмбриогенді клеткалық кешендерден және БЖ белгісі бар клеткалардан тұрады.



Сурет - 3 5,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасындағы суспензияның өсу динамикасы және әр түрлі клетка типтерінің қатынасының өзгеруі

Тәжірибе нәтижесінде ұзақ мерзім өсірілген эмбриогенді каллустардан алынған суспензия культурасының өсу қарқындылығы және клетка популяциясының құрамы МС ортасындағы 2,4-Д концентрациясына байланысты болатыны көрсетілді. Яғни, 1,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы қосылған МС ортасында өсірілген суспензия культурасындағы клеткалар санының артуы өсірудің 28-ші күніне, ал 5,0 мг/л 2,4-Д концентрациясы бар МС ортасында өсірудің 21-ші күніне сәйкес келді. Экспоненциалды фазасының жоғарғы шегіне жеткенде эмбриогенді клеткалар мен БЖ белгісі бар клеткалардың саны КСК-ның өсу қарқындылығының көрсеткіштерімен тікелей байланысты болды (1, 2, 3 сурет). Бұл мәліметтер бұрын біздің каллус ұлпаларын зерттеу барысында алынған нәтижелермен сәйкес [7, 10]. БЖ белгісі бар клеткалардың заттарды сыртқа бөлетінін еске алсақ, өсірудің 14-28-ші және 14-21-ші күндер аралығында суспензия культурасының экспоненциалды фазасында (сәйкесінше 1,0 мг/л және 5,0 мг/л 2,4-Д) белсенді заттарды бөліп алу қолайлы болып табылды. Алынған нәтижелерді суспензия культурасынан белсенді заттарды бөліп алу технологиясында қолдануға болады.

Әдебиеттер

- 1 Bishimbayeva N.K. A role for apoptosis and polysaccharides secretion in the long-term somatic embryogenesis of cereals //Bull. of State Nikit. Bot. Gard.– 2002.- № 86. – P. 47-52.
- 2 Бишимбаева Н.К. Автореферат докт. дисс. Алматы: 2007. - С.148-154.
- 3 Амирова А.К., Бишимбаева Н.К. Получение длительно культивируемых рыхлых эмбриогенных каллусов пшеницы под действием 2,4-Д и KH_2PO_4 //Биотехнология. Теория и практика. – 2002. – №1. - С. 60-65.
- 4 Амирова А.К., Бишимбаева Н.К. Характеристика рыхлых эмбриогенных тканей пшеницы, полученных в процессе изучения метаморфоза //Материалы 54-й Республиканской научной конференции молодых ученых и студентов, посвященной году поддержки культуры «Молодежь – новому тысячелетию» Актуальные вопросы современной биологии и биотехнологии. – Алматы. – 2000. – С. 100-102.
- 5 Murashige T., Scoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures //Physiol. Plant., 1962. – V.15, №13. – P. 473-497.
- 6 Паушева З.П. Практикум по цитологии растений М.: ВО «Агропромиздат».– 1988.- 272 с.
- 7 Бишимбаева Н.К., Денебаева М.Г., Амирова А.К., Рахимова Е.В. Особенности гистологического строения рыхлых эмбриогенных каллусов ячменя //Известия НАН РК, серия биологическая и медицинская. – 2002. - №1. – С. 60-65.
- 8 McCabe P.F., Pennell R.I. Apoptosis in plant cells in vitro in *Techniques in Apoptosis* (Citer T.G., Martin S. I., eds) //London: Portland Press, 1996. –P. 301-326.
- 9 Бишимбаева Н.К. Электронно-микроскопическое исследование программированной гибели клеток в культуре ткани зерновых злаков //Доклады НАН РК.– 2007. – №2. – С. 75-79.
- 10 Бишимбаева Н.К. Регуляция соматического эмбриогенеза и длительное поддержание тотипотентности в культуре тканей пшеницы и ячменя //Доклады НАН МОН РК. – 2007. – №4. – С. 71-76.

Резюме

Изучена динамика роста и состав клеточных популяций суспензионной культуры клеток пшеницы. Выявлено, что суспензионная культура клеток состоит из удлиненных каллусных клеток, одиночных эмбриогенных клеток, эмбриогенных клеточных комплексов и клеток с признаками программированной гибели. Установлено, что на среде МС с 1,0 мг/л 2,4-Д максимум роста суспензионной культуры клеток и увеличение количества клеток с признаками программированной гибели приходится на 28 день культивирования, а на среде МС с 5,0 мг/л 2,4-Д – на 21 день культивирования. Показана зависимость интенсивности роста и состава клеточных популяций суспензионной культуры от концентрации 2,4-Д.

Summary

The growth dynamics and composition of cell population suspension cultures of wheat have been studied. It was revealed, that the cell suspension culture consists from elongated calli cells, single embryogenic cells, embryogenic cell complexes and cells with signs of programmed cell death. It was found, the growth of suspension culture and proportion of cells with signs of programmed cell death reached at maximum in 28 days of cultivation on medium with 1,0 mg/l 2,4-D and on the medium with 5,0 mg/l 2,4-D – in 21 days of cultivation. It was established that the growth dynamics and composition of cell population suspension cultures depend from 2,4-D concentration.

УДК 577.1:664.6/7

Ыргынбаева Ш.М., Кузовлев В.А., Фурсов О.В.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ, СВОЙСТВА И РЕГУЛЯЦИЯ β -АМИЛАЗЫ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ

(Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А.Айтхожина)

Установлена локализация β -амилазы на алейроновых зернах выделенной из зерновок пшеницы. Показана полиморфная природа β -амилазы. Выделена и очищена собственная протейназа зерновки обладающая способностью активировать и модифицировать β -амилазу.

Биологическое значение амилаз при созревании семян пшеницы исключительно велико. В то же время целый ряд технологических процессов пищевых производств имеет в своей основе гидролитические превращение крахмала под влиянием амилаз зерна [1].

β -Амилаза или α -1,4-глюканмальтогидролаза, гидролизует α -1,4-глюкановые связи в полисахаридах, последовательно отщепляя остатки мальтозы от нередуцирующих концов полисахаридной цепи. β -амилаза в отличие от α -амилазы не действует на гранулы нативного крахмала, а декстринирует клейстеризованный полисахарид. Конечными продуктами действия этого фермента являются мальтоза и предельный декстрин [2].

Исследования свойств и особенности β -амилазы проводятся весьма активно в течении последних лет, в связи с особой ролью фермента в процессах тестоведения, брожения и др. Особо следует отметить работы финских [3] и французских исследователей [4], где показана полиморфная природа фермента, существование «свободной» и «связанной» форм фермента.

Однако, до настоящего времени, для зерна пшеницы практически отсутствуют данные о локализации β -амилазы в периферических частях зерновки, о физиологических механизмах активации этого фермента в процесса прорастания. Существующие данные о модифицирующем и активирующем действии экзогенных протеаз типа папаина, до сих пор не получили своего подтверждения, на собственных протеолитических ферментах зерновки.

Сказанное выше послужило основанием для проведения настоящего исследования.

Материалы и методы

Материалом служило созревающее, покоящее и прорастающее зерно пшеницы сорта Казахстанская-10. β -Амилазу выделяли из зерна пшеницы экстракцией 0,01 М раствором NaCl в присутствии различных агентов (тритон X-100, папаин, собственная протеаза зерна). Очистку фермента осуществляли осаждением гликогеном в присутствии 40% этанола [5] с последующей аффинной хроматографией на циклодекстрин-эпокси-сефарозе. Причем стадия гликогеновой преципитации проводилась дважды. Молекулярная масса β -амилазы определялась ДС-Na₂ электрофорезом по Лэммли [6].

При изучении локализации фермента в зерновке выделяли фракции алейроновых зерен и крахмальных гранул эндосперма. В качестве материала для получения алейроновых зерен использовали свежие пшеничные отруби, которые просеивали через сито №20, для удаления зародыша и гомогенизировали в хлопковом масле (1:1,5) при комнатной температуре 5 минут. Гомогенат фильтровали через два слоя марли и центрифугировали при 1000g 10 минут. Осадок фракционировали центрифугированием в смеси хлопкового масла и CCl₄ различной плотности: 1,25; 1,30; 1,35 [7]. Осадки обезжиривали и анализировали на содержание фермента амилазы. Изоэлектрофокусирование фермента проводили в пластине 6% ПАГ в градиенте pH от 4,0 до 6,5 с использованием фармалитов фирмы Фармация (Швеция). Активность β -амилазы определялась при использовании в качестве субстрата растворимого крахмала по методу Марчилло [8].

При изучении действия папаина и протеиназы зерна, ферменты использовались в одинаковых единицах активности (0,5 единиц/мг белка). За 1 единицу активности принято количество фермента, которое гидролизует 1 μ M N-benzoyl-L-arginine ethyl ester (BAEE) за одну минуту при pH 6,2 и 25⁰C.

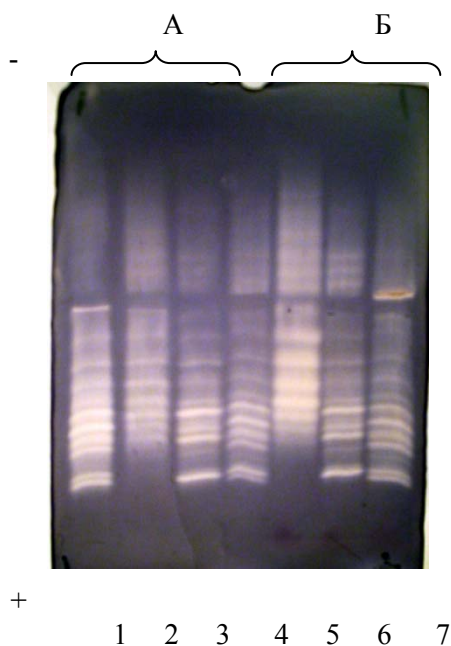
Результаты и их обсуждение

В литературе неоднократно упоминалось о латентизации β -амилазы на белковых телах эндосперма зерна злаковых [9]. Сведения о связи фермента с алейроновыми структурами зерна пшеницы отсутствуют. В связи с этим выделялись алейроновые гранулы, из которых экстрагировались амилитические ферменты. Установлено, что амилаза ассоциирована только с фракцией алейроновых зерен осаждаемых из раствора с $\rho=1,35$.

В качестве факторов высвобождающих и активирующих были использованы SH-агенты (β -меркаптоэтанол, глутатион) и фермент – папаин. Использование факторов дифференциации α - и β -амилаз (прогрев при температуре 70⁰C 15 минут, субстрат β -ограниченный декстрин) позволило идентифицировать амилазу алейроновых зерен как β -амилазу. Изучение компонентного состава амилазы алейроновых зерен методом ИЭФ, при воздействии SH-агентов и протеазы папаина (рисунок 1) показало его идентичность, спектру β -амилазы алейронового слоя покоящегося зерна пшеницы.

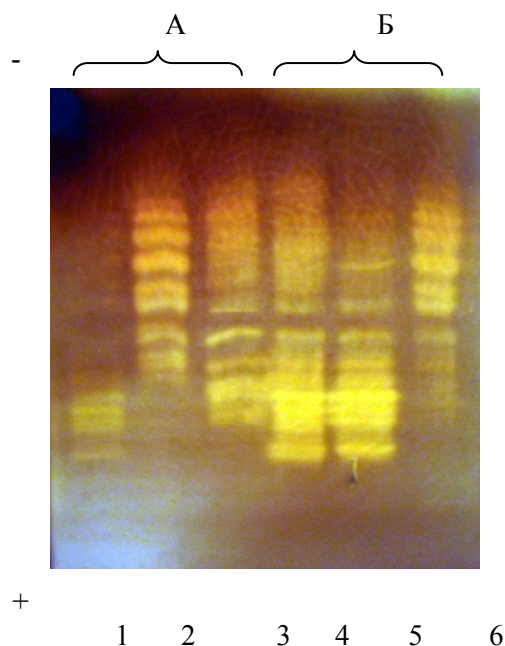
В результате действия SH-агентов происходит частичная редукция анодных и появление новых катодных компонентов. Папаин в этом отношении оказывал наиболее существенное воздействие.

Аналогичное исследование проведено с β -амилазой эндосперма зерна пшеницы. Показано, что основное количество фермента ассоциировано с запасными белками. В «свободное» состояние β -амилаза переводилась теми же SH-агентами и папаином (рисунок 1)



А-осадок, Б-супернатант; 1- контроль; 2, 5 - 0,1% папаин; 3, 6 – 10 мМ 2-МЭТ; 4, 7 – 10 мМ глутатион.

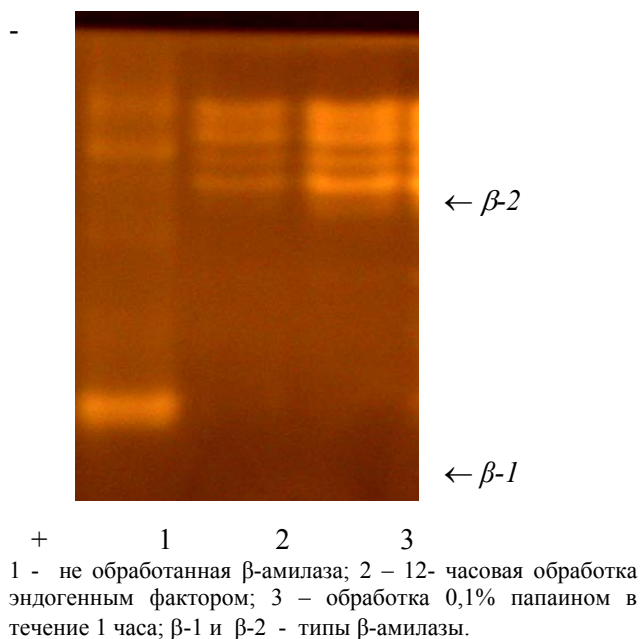
Рисунок 1 - Влияние SH-агентов и папаина на компонентный состав β -амилазы алейроновых зерен.



А - осадок, Б - супернатант; 1 – контроль – 0,05М ацетатный буфер рН 5,0; 2 – 0,1% папаин; 3 – 0,01 М МЭТ; 4 – контроль – 0,05М ац. буфер рН5,0; 5 – 0,01М МЭТ; 6 – 0,1% папаин

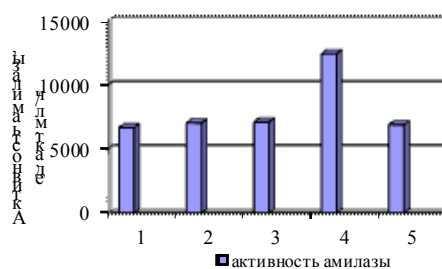
Рисунок 2 - Действие SH-агентов и папаина на компонентный состав амилазы муки эндосперма

Спектры β -амилазы эндосперма и алейроновых зерен по числу компонентов и изоэлектрическим точкам оказались схожими (рисунки 1, 2). Действие протеолитического фермента на β -амилазы эндосперма, как и в случае с алейроновыми зернами приводило к существенному изменению ИЭФ-спектра, что предполагает участие собственной протеиназы зерна в регуляции этой амилазы.



1 - не обработанная β -амилаза; 2 – 12- часовая обработка эндогенным фактором; 3 – обработка 0,1% папаином в течение 1 часа; β -1 и β -2 - типы β -амилазы.

Рисунок 3 - Действие *in vitro* эндогенного фактора из 3-х дневных проростков и папаина на β -амилазу из покоящихся семян пшеницы



1- контроль – H_2O дист. 2 - 0,05 мл. папаин; 3 - 0,05 мл. собственной протеазы (соотношение амилаза:протеаза – 10:1); 4 - 0,1 мл. собственной протеазы (соотношение амилаза:протеаза - 5:1); 5 - очищ. β -амилаза + 0,05 мл. собств. протеаза (соотношение амилаза:протеаза - 10:1)

Рисунок 4 - Влияние собственной протеазы на активность латентной β -амилазы из зерна пшеницы

Для определения роли эндогенных протеиназ зерна в качестве активаторов и модификаторов латентных форм β -амилазы, изучалось действие экстракта из прорастающей зерновки обладающего протеолитической активностью на препарат β -амилазы из покоящегося семени (рисунок.3).

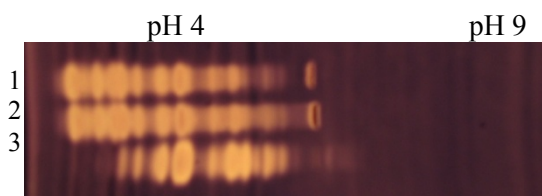
Обработка β -амилазы экстрактом из прорастающего зерна приводила к существенной модификации спектра, исчезновению анодных компонентов и появлению катодных компонентов. Введение в инкубационную среду ингибиторов протеаз: леупептина и антипапаина подавляло изменение электрофоретического спектра β -амилазы. Следует вывод о том, что присутствующий в экстракте из прорастающего зерна фактор является протеиназой, роль которой сводится к активированию латентных форм фермента и модификации компонентного состава мультиферментного комплекса β -амилазы.

С целью изучения влияния собственных протеиназ зерновки на активацию и модификацию β -амилазы, аффинной хроматографией на бацитрацин-сефарозе был получен высокоочищенный препарат протеиназы. В последующем этим препаратом обрабатывался осадок алейроновых зерен (рисунок 4).

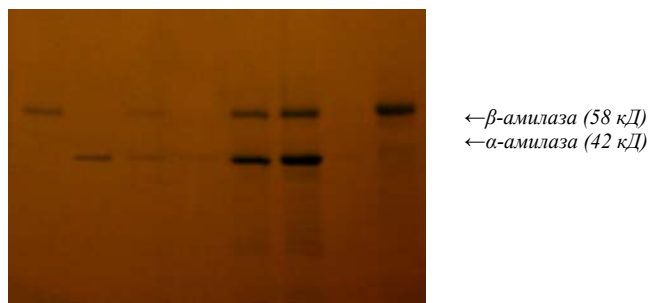
Из представленного рисунка 4 видно что, оптимальная активность собственной протеиназы по сравнению с контролем, приводила к 2-х кратной активации «связанной» формы β -амилазы. Изменялся набор компонентов с 13-14 (контроль) до 9-10 с рI 5,0-6,2, т.е. произошло смещение зон активности в область более щелочных значений рI и частичная редукция компонентного состава (рисунок 5).

Таким образом очевидно модифицирующее и активирующее воздействие собственных протеаз зерновки на β -амилазный комплекс.

Для изучения свойств β -амилазы зерна пшеницы была оптимизирована схема разделения α - и β -амилаз с последующей очисткой ферментов. Для этого амилазы сначала осаждались гликогеном (дважды) в присутствии 40% этанола. Затем проводилась аффинная хроматография на колонне с циклодекстрин-эпоксисефарозой. Установлено, что циклодекстрин сефароза избирательно сорбирует α -амилазу. При этом фермент β -амилаза не обладает сродством к данному аффинному лиганду. В результате аффинного осаждения гликогеном и хроматографии на циклодекстрин сефарозе получены гомогенные препараты α - и β -амилаз.



1-контроль, 2 – обработка 10 мМ цистеином, 3 – обработка протеазой +10мМ цистеин.



1 - β -амилаза после очистки на ЦД-сефарозе; 2- α -амилаза после очистки на ЦД-сефарозе; 3, 4 – α и β -амилазы после гликоеновой преципитации; 5- β -амилаза, очищенная из зрелого алейрона.

Рисунок 5 – Влияние собственной протеазы на ИЭФ-спектр β -амилазы из покоящегося зерна пшеницы

Рисунок 6 - ДДС-электрофорез очищенной α и β -амилаз

Молекулярные массы очищенных α - и β -амилаз из зерна пшеницы соответственно равны 42 и 58кД. Причем молекулярная масса β -амилазы из целой зерновки соответствует таковой из алейрона (рис.6), что позволяет говорить об идентичности ферментов.

В дальнейшем очищенный препарат β -амилазы разделялся гель-фильтрацией на Sephacryl HR100 (колонка 80-1,6 см). В результате получены фракции фермента с молекулярной массой 60-70 кД (мономерная форма) и свыше 120 кД (димерная форма). Последняя фракция была представлена 13-14 компонентами с рI 4,2 – 6,4. Обработка полимерной фракции SH-агентами и собственной протеазой зерна приводила к увеличению активности фермента почти на 20% и изменению электрофоретического спектра, т.е. деполимеризации β -амилазного комплекса.

Таким образом нами впервые установлена локализация β -амилазы на алейроновых зернах зерна пшеницы. Показана полиморфная природа β -амилазы. Выделена и очищена собственная протеиназа зерновки обладающая способностью активировать и модифицировать β -амилазу, что позволяет

предположить существование в зерновке механизмов взаимодействия протеиназ и β -амилаз, приводящих к изменению активности последних на этапах созревания и прорастания семени пшеницы.

Литература

- 1 Muralikrishna G, Nirmala M. Cereal alpha-amylases – an overview. Carbohydrate Polymers, 2005. V.60 (2). P.163-173.
- 2 Sarikaya E, Higasa T, Adachi M, Mikami B. Comparison of degradation abilities of α - and β -amylases on raw starch granules. Process Biochemistry. 2000. V. 35(7). P.711-715
- 3 Nummi M., Daussant J. et al. Comparative immunological and chromatographic study of some plant β -Amylases. J. Sci. Food Agric. 1970.V. 21. P.258-260.
- 4 Daussant J., Sadowski J. et al. The dependent Regulatory Aspects and Posttranslational Modifications of Two β -Amylases of Rye. Plant Physiol. 1991. V. 96. P. 84-90.
- 5 Гильманов М.К., Фурсов О.В., Францев А.П. Методы очистки и изучения ферментов растений. - Алма-Ата: Наука, 1981. С. 91.
- 6 Laemmler U. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T-4 // Nature.1970.V.227. P.680-683.
- 7 Lui N. S. T., Altschul A. M. Isolation of globoids from cottonseed aleurone grains. Arch. Biochem. Biophys. 1967. V. 121. P.678-684.
- 8 Marchylo R.A., Kruger J.E., Irvine G.N. α -Amylase from immature hard spring wheat. I Purification and some chemical and physical properties // Cereal Chem. 1976. V. 53. N 2. P.157-173.
- 9 Fincher G.B. Molecular and cellular biology associated with endosperm mobilization in germinating cereal grains. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1989. V.40. P.305-346.

Тұжырым

Бидай тұқымының алейрон түйіршіктеріндегі β -амилазаның локализациясы анықталды. β -Амилазаның полиморфты табиғаты көрсетілді. β -Амилазаны белсенділейтін және модифицирлейтін қасиеті бар тұқымның протеиназасы бөлініп алынып, тазаланды.

Summary

It was established that β -amylase localized in aleurone cells of wheat grains. β -Amylase have polymorphic nature. From the wheat seeds was isolated and purified the proteinase which able to activate and modify β -amylase.

УДК 575.224.23:599.323.4

Джокебаева С.А.

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ЦИАНОБАКТЕРИЙ НА УСТОЙЧИВОСТЬ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР К ПОНИЖЕННЫМ ТЕМПЕРАТУРАМ И ПЕРЕГРЕВУ

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Изучено влияние биологически активных препаратов из цианобактерий на устойчивость озимой пшеницы и сои к неблагоприятным температурным факторам. Установлено, что в лабораторных условиях некоторые из препаратов в низких концентрациях индуцируют повышение холодо- и жароустойчивости растений.

Микроводоросли являются продуцентами разнообразных биологически активных соединений, оказывающих разностороннее влияние на ростовые процессы. В связи с этим рассматривается вопрос об их использовании для регуляции процессов роста и развития, а также создании на их основе средств защиты растений. Установлено наличие среди водорослевых метаболитов регуляторов и ингибиторов роста растений (фитогормонов, индольных и фенольных соединений, стероидов, терпеноидов и др.). Доказано, что для многих микроводорослей характерна продукция ауксинов, гиббереллиноподобных и цитокининоподобных соединений [1-3]. Известно, что водорослевые экстракты и фильтраты при предпосевной обработке стимулируют развитие семян, ускоряют рост растений и протекание фаз онтогенеза, способствуют увеличению их биомассы и урожайности [4-5], повышают иммунитет, а при обработке растений задерживают в них после скашивания развитие процессов старения, разрушения белка, хлорофилла, каротиноидов. Кроме того, у многих

синезеленых водорослей обнаружены метаболиты, оказывающие бактерицидное, фунгицидное, гербицидное и антивирусное действие [6].

Очень важным является тот факт, что биологически активные соединения микроводорослей действуют в очень низких концентрациях, вплоть до 10^{-9} мг/мл [7-8]. Мы предполагаем, что при замачивании в них семян эти вещества, проникая в ткани зародыша, выполняют роль сигнальных медиаторов и индукторов различных биохимических и физиологических процессов, способствуя более полной реализации генетической программы развития. Современный взгляд на теорию индуцированной устойчивости растений, высказан С.Л. Тютеревым, который исходя из постулата, что все растения обладают генами устойчивости и способны отвечать на заражение, выдвинул гипотезу о том, что можно найти вещества - стимуляторы фитоиммунных реакций и на их основе создать препараты, активирующие эти реакции в растениях [10-11].

В связи с этим нами проведено испытание влияния замачивания семян озимой пшеницы и сои в различных концентрациях биологически активных препаратов (БАП), полученных из смешанной культуры микроводорослей *Amorphanostoc paludosum*+*Anabaenopsis Issatschenkoii*, на устойчивость к низким температурам (холодоустойчивость) и жароустойчивость.

Материалы и методы

В опытах использованы семена и проростки озимой пшеницы сорта Эритроспермум 350 и сои сорта Мисула. Предобработку предварительно простерилизованных 3%-ной перекисью водорода семян проводили путем замачивания их на 16-20 часов в разведениях препаратов от 10^{-1} до 10^{-9} г/л. Препараты получены по методике, описанной ранее [7].

Холодоустойчивость. Для изучения влияния препаратов на устойчивость к низким температурам проростки пшеницы выдерживали по 5 - 7 суток при температурах: $+10^{\circ}\text{C}$, $+7^{\circ}\text{C}$, $+2^{\circ}\text{C}$, -2°C последовательно. После проведения такой холодной обработки растения выставляли в освещенное помещение с комнатной температурой [12].

Жароустойчивость (стойкость листьев к перегреву) оценивали методом Мацкова [12]. Листья проростков озимой пшеницы выдерживали в водяной бане при 40, 50 и 60°C в течение 30 минут. Затем их опускали в холодную воду на 20 мин., после чего переносили в раствор 0,2 н НС1. О повреждении листа высокой температурой судили по появлению первых пятен феофитина. При определении жароустойчивости замеряется время, прошедшее от начала нагревания до появления пятен феофитина. Более жаростойкими считаются растения, у которых это время больше.

Результаты и их обсуждение

Результаты проведенных опытов показали, что среди 13 испытанных БАП только препарат БВ-14 при концентрациях от 10^{-3} до 10^{-5} и 10^{-7} г/л способствует приобретению проростками холодоустойчивости (рисунок 1). Из представленного рисунка можно видеть, что растения в опытных вариантах более жизнеспособные и высокорослые, в то время как в контрольном варианте наблюдается угнетение роста и повреждение стеблей.

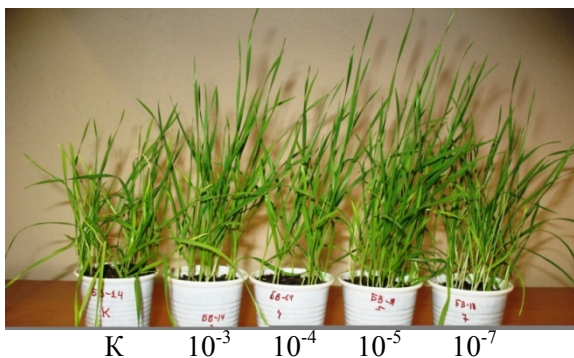


Рисунок 1 – Влияние БАП на холодоустойчивость проростков озимой пшеницы

Рисунок 1 показывает, что под влиянием БАП БВ-14 в концентрациях 10^{-3} - 10^{-7} мг/мл растения после многодневной обработки низкими положительными и отрицательными температурами не только более жизнеспособные, чем в контроле, но и превышают по высоте контрольные растения. Такие же результаты были получены и при определении жизнеспособности клеток эпидермиса путем окрашивания и плазмолизирования. В контрольных вариантах жизнеспособность клеток не превышала 40-63%, в то время, как в опытных - эта величина составляла от 87 до 100%.

При определении влияния препаратов на жароустойчивость полив опытных и контрольных растений был прекращен на 5 дней, то есть создавались условия, приближенные к естественным,

наблюдающимся при летней засухе, сопровождающейся максимальными температурами. Установлено, что предобработка семян яровой пшеницы препаратом БВ-8 и БВ-21 достоверно увеличивала стойкость листьев к перегреву (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние предобработки препаратами на жароустойчивость пшеницы

Вариант	40°		50°		60°	
	Время (мин.)	%	Время (мин.)	%	Время (мин.)	%
Контроль	8,2414 ±0,53	100,0	5,1402 ±0,35	100,0	3,1245 ±0,32	100,0
БВ-8 10 ⁻⁷	12,1415 ±0,48**	147,3	9,2808 ±0,39**	186,6	4,4244 ± 0,24*	141,6
БВ-21 10 ⁻⁷	12,0024 ±0,37**	145,6	8,1751 ±0,53**	159,0	4,5612 ±0,48*	146,0

Примечание: * - p<0,001 в сравнении с контрольными значениями
** - p<0,01 в сравнении с контрольными значениями

Так, при температуре 40 градусов время появления пятен феофитина составляет наибольшее значение по сравнению с более высокими температурами. Однако в процентном выражении наибольшее значение определено при температуре 50 градусов. Это связано с тем, что при 40 градусах время появления пятен феофитина в контроле составляет довольно высокое значение. А при температуре 50 градусов значение контроля резко снижается. В связи с этим в опытном варианте БВ-8 10⁻⁷ жаростойкость листьев пшеницы составила 186,6%, а в варианте БВ-21 10⁻⁷ – 159,9 %. При повышении температуры до 60°С время появления пятен феофитина как в контроле, так и в опытных вариантах снижается по сравнению с показателями, полученными при 50°С. Однако в опытных вариантах значение жароустойчивости все же выше на 41-46%.

В соответствии с таблицей 2 предобработка семян сои в изучаемых препаратах показала, что жаростойкость в опытных вариантах при температурах 40° и 50°С достоверно выше, чем в контроле.

Таблица 2 - Влияние предобработки препаратами на жароустойчивость сои

Вариант	40°		50°		60°	
	Время (мин.)	%	Время (мин.)	%	Время (мин.)	%
Контроль	11,1389 ±0,52	100,0	5,2000±0,10	100,0	2,5996 ±0,30	100,0
БВ-21 10 ⁻⁷	13,0242 ±0,42*	116,9	6,3000± 0,23*	121,2	2,5295 ±0,55	97,3
БВ-30 10 ⁻³	14,0408 ±0,41**	126,1	7,2651± 0,57*	139,7	4,2409±0,48*	163,1
БВ-35 10 ⁻⁸	13,4602 ±0,33**	120,8	6,3974 ±0,23*	123,0	3,1416± 0,31	120,8
БВ-37 10 ⁻⁷	14,3659 ±0,63**	129,0	6,4584 ±0,38*	124,2	2,7842±0,36	107,1

Примечание: * - p<0,001 в сравнении с контрольными значениями
** - p<0,01 в сравнении с контрольными значениями

В контроле и варианте БВ-21 (10⁻⁷) при температуре 60°С жаростойкость листьев сои резко снижается. В варианте БВ-37 (10⁻⁷) разница с контролем статистически не достоверна. Предобработка БАП БВ-35 в концентрации 10⁻⁸ повысила жаростойкость растений на 20,8% к контролю. Самое высокое значение получено в варианте БВ-30 (10⁻³), что составило 163,1% к контролю.

Таким образом, изученные препараты в очень низких дозах способствуют приобретению растениями пшеницы и сои устойчивости к неблагоприятным температурным условиям окружающей среды.

Литература

- 1 Андреев Е.И., Коптева Ж.П., Занина В.В. Цианобактерии. Киев. 1990. 279 с.
- 2 Григорьева Л.В., Кирпенко Ю.А., Орловский М.В. и др. Об антимикробном действии токсических метаболитов некоторых синезеленых водорослей // Гидробиологический журнал. 1999. №3. С. 57-62.
- 3 Hellebust J.A. Extracellular products /Algal Physiol.and Biochem -Oxford e.a..1974. P.838-863.
- 4 Сакевич А.И. Экзометаболиты пресноводных водорослей. Киев: Наук. думка. 1985. 200 с.
- 5 Сиренко Л.А., Козицкая В.Н. Биологически активные вещества водорослей и качество воды. Киев: Наук. думка. 1988. С. 115-117.
- 6 Dakshiny Inderjit, Dakshini K.M.M. Algal allelopathy // Bot.rev.,1994.60.N2.P.182-196.

7 Джожебаева С.А., Колумбаева С.Ж., Оразова С.Б., и др. Препараты биологически активных метаболитов дикультуры *Amorphonostoc paludosum*+*Anabaenopsis issatschenkoi* // Вестник КазНУ, серия биологическая, №1 (36) 2008. - С. 96-100.

8 Джожебаева С.А., Колумбаева С.Ж., Оразова С.Б. Биологическая активность вторичных метаболитов смешанной культуры цианобактерий // Вестник КазНУ, серия биологическая, №3 (38) 2008. - С. 45-50

9 Горовой Ф., Кошевский И.И., Редько В.В., Теслюк В.В. Препараты нового поколения для защиты растений // Мат. 6-й конф. Москва-Щелково, 22-24 октября, 2001. М.: Изд-во ВНИРО, 2001. - С. 78-87.

10 Тютюрев С.Л. Научные основы индуцированной болезнестойчивости растений - Санкт-Петербург, 2002.- 328 с.

11 Третьяков Н.Н., Карнаухова Т.В., Паничкин Л.А. Практикум по физиологии растений – М.: «Агропромиздат», 1990.- 271 с.

12 Еремеев Г. Н. Определение засухоустойчивости плодовых и других древесных растений - Физиология растений. 1963. т. 10. № 6. с. 122-121.

Тұжырым

Цианобактериялардан алынған биологиялық активті препараттардың күздік бидай мен соя өсімдіктердің қолайсыз температуралық факторларға әсері зерттелді. Кейбір препараттардың төменгі концентрациялары лабораториялық жағдайда өсімдіктердің суыққа және ыстыққа төзімділігін қоздыратыны анықталды.

Summary

It was studied the influences of cyanobacterium biological active substances on wheat tolerance to stress temperatures. It was known that low concentrations of some biological active substances raised increased the wheat tolerance.

УДК 581.143.5

Богуспаев К.К.

ИНДУКЦИЯ ПРОЦЕССОВ МОРФОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ ПЫЛЬНИКОВ У ГИБРИДОВ И РОДИТЕЛЬСКИХ ФОРМ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ *Triticum durum*

(НИИ проблем биологии и биотехнологии

Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

В работе представлены экспериментальные данные по сравнительному изучению процессов андрогенеза в культуре изолированных пыльников и микроспор твердой пшеницы (*Triticum durum*) и гибридных линий. Показана различная степень отзывчивости сортов и линий твердой и мягкой пшеницы при культивировании на среде Блейдза.

Несмотря на успехи, достигнутые в получении дигаметоидных линий с помощью метода культуры изолированных пыльников и микроспор, получение гаплоидных растений пшеницы и особенно из твердых сортов, все еще сопряжено с известными трудностями. Еще не до конца разработаны методы и условия культивирования. Использование метода ограничивает низкий процент выхода регенерантов и высокий процент альбиносов среди них. Между тем, для Казахстана, являющегося основным поставщиком зерна сильной пшеницы, расширение генетических возможностей производства зерна высоких кондиций имеет большое значение.

В связи с этим в работе изучены потенциальные возможности получения морфогенных каллусов в культуре изолированных пыльников и микроспор у сортов и гибридов твердой пшеницы (*T. durum*), предоставленных отделом селекции пшеницы НИИ земледелия и растениеводства МСХ РК.

Материалы и методы

Объект исследований. Для проведения экспериментов растения выращивали в условиях мелкоделяночных полевых опытов на экспериментальных полях НИИ земледелия и растениеводства МСХ РК.

В экспериментах использованы сорта и линии *T.aestivum*, *T.durum* представляющие интерес для селекционеров: 8 межвидовых гибридов *T.aestivum* с дикой формой *T. timopheevi* и *T.durum*, а также 4 родительские формы и 16 внутривидовых гибридных линий твердой пшеницы (*T.durum*). В качестве

родительских форм использованы сорта Алмаз, Оренбургская-10, Алтайка, Светлана. Гибриды получены в результате реципрокных скрещиваний их между собой и с перспективными линиями из коллекции НИИ земледелия и растениеводства МСХ РК.

Культивирование изолированных пыльников. Для изолирования пыльников, растения срезали на одноядерной стадии развития микроспор, морфологическим показателем которой является расположение второго листа на середине колоса, находящегося в трубке [1].

Срезанные колосья твердой пшеницы подвергали холодной предобработке при +6-8⁰С в течение 3-10 суток [2]. Для культивирования пыльников использована среда Блейдза с 0,25 мг/л 2,4-Д [3]. Пробирки и чашки Петри с изолированными пыльниками культивировали в темноте при 26⁰ С в термостате. Через 15, 25, 35 и 40 суток культивирования, определяли количество образовавшихся андрогенных структур. На основании этих данных вычисляли частоту андрогенеза в % к общему количеству культивируемых пыльников.

Цитоэмбриологические исследования. Для приготовления цитоэмбриологических препаратов использовали общепринятую методику описанную З.П. Паушевой [4].

Результаты и их обсуждение

В результате многочисленных экспериментов, проведенных как в нашей лаборатории, так и исследователями процессов андрогенеза *in vitro* в лабораториях других стран, установлено, что в культуре изолированных пыльников и микроспор мягкой пшеницы (*T.aestivum*) возможно образование трех типов андрогенных структур: каллусов, эмбриоидов и глобул [5]. Разделение и выделение этих структур очень важно для характеристики полученных растений-регенерантов. При образовании растений из эмбриоидов (прямой андрогенез) можно ожидать получения истинных гаплоидов, тогда как из морфогенного каллуса могут быть получены регенеранты с различной плоидностью (эуплоиды, анеуплоиды) [6]. Глобулы, внешне похожие на эмбриоиды, через короткое время после появления, приостанавливают свой рост и могут находиться в таком состоянии неограниченно долго.

Таблица 1 - Влияние генотипа на частоту андрогенеза в культуре пыльников гибридных линий пшеницы

Гибридные комбинации	Количество пыльников	Андрогенные структуры			Общее количество андрогенных структур	Частота андрогенеза в % к общему количеству
		Каллусы	Эмбриоиды	Глобулы		
1. Казахстанская-10 x <i>T.timopheevi</i> (F2)	150	-	-	-	0	0
2. Саратовская-29 x <i>T.timopheevi</i> (F3)	480	-	-	-	0	0
3. Казахстанская-15 x <i>T.timopheevi</i> (F2)	420	4	12	-	16	3,81
4. Казахст.ранняя x <i>T.timopheevi</i> (F2)	780	1	2	-	3	0,38
5. Казахстанская-17 x <i>T.timopheevi</i> (F2)	570	1	3	-	4	0,70
6. Омская рубиновая x Казахстанская-17 (F1)	210	-	1	-	1	0,48
7. Омская рубиновая x Казахстанская-15 (F1)	630	-	-	-	0	0
8. Алмаз x 190 (211) (F1)	360	-	-	-	0	0

Как показывают данные таблицы 1, у межвидовых гибридов мягкой пшеницы с *T.timopheevi* и *T.durum* отзывчивость к каллусогенезу на среде Блейдза с постоянной концентрацией 2,4-Д (0,25мг/л), одинаково низкая, около нуля.

Только линия (Казахстанская-15 x *T.timopheevi*) дает более значительную величину частоты андрогенеза (3,81%). Во всех других линиях эта величина колеблется около нуля. В данном случае можно лишь утверждать, что использованные линии оказались не отзывчивы к каллусогенезу при

культивировании пыльников на среде Блейдза. Следовательно, среда Блейдза с 0,25 мг/л 2,4-Д не подходит для данных линий.

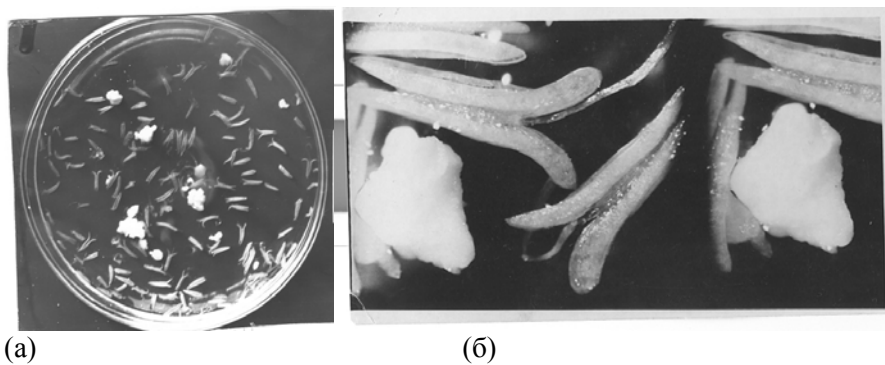
Известно, что отдельные компоненты питательной среды играют важную роль в индукции процессов андрогенеза. Решающее значение при этом, в частности для пшеницы /9/, имеет концентрация использованного в качестве ауксина, 2,4-Д. Возможно, что в наших экспериментах, использованная концентрация (0,25 мг/л) оказалась недостаточной.

Хотя общая частота андрогенеза у твердых пшениц, на этой же среде так же невысока, вместе с тем, есть линии, которые оказались довольно отзывчивыми к каллусогенезу. Например, у линии 4 (Алмаз х Алтайка) процент частоты андрогенеза составил 9,87%, в следующей гибридной комбинации с сортом Оренбургская-10, максимальный процент наблюдали у линии 8 – 3,40%. Следует отметить, что частота образования андрогенных структур у исходных сортов была в основном выше чем у гибридных линий (Таблица 2).

Таблица 2 - Влияние генотипа на частоту андрогенеза в культуре пыльников у линий и гибридов твердой пшеницы

Генотип	Количество пыльников	Андрогенные структуры			Общее количество андрогенных структур	Частота андрогенеза в % к общему количеству
		каллусы	эмбриоиды	глобулы		
1. Алмаз	525	11	-	-	11	2,19
2. Алмаз х Оренбургская-10	576	4	-	2	6	1,06
3. Алмаз х 17144	723	5	-	4	6	1,33
4. Алмаз х Алтайка	459	45	-	-	45	9,87
5. Алмаз х Светлана	447	4	-	-	4	0,86
6. Оренбургская-10	390	12	-	-	12	3,15
7. Оренбургская-10 х Алмаз	300	10	-	-	10	3,33
8. Оренбургская-10 х Алтайка	694	24	-	-	24	3,40
9. Оренбургская-10 х Светлана	315	3	-	-	3	0,95
10. Оренбургская-10 х 17144	330	3	-	-	-	0,91
11. Алтайка	623	13	1	-	14	2,24
12. Алтайка х Алмаз	399	5	-	3	8	2,00
13. Алтайка х Оренбургская-10	410	3	-	-	-	0,73
14. Алтайка х 17144	379	2	-	-	2	0,53
15. Светлана	290	6	1	1	8	2,72
16. Светлана х Алмаз	809	5	-	-	5	0,62
17. Светлана х Оренбургская 10	319	5	-	-	5	1,56
18. Светлана х Алтайка	367	1	-	-	1	0,27
19. Светлана х 17144	380	12	-	-	12	

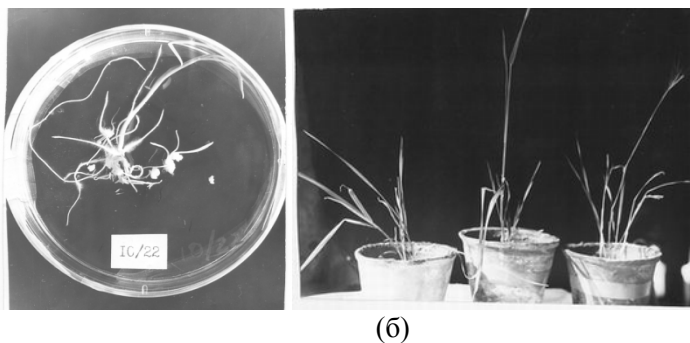
Для стимуляции роста андрогенных структур они были пассированы на модифицированную среду МС с 2 мг/л 2,4-Д. Каллусы, полученные в культуре пыльников твердой пшеницы, характеризовались очень медленным ростом (Рисунок 1).



а- изолированные пыльники на среде Блэйдза, б- каллусогенез в культуре изолированных пыльников

Рисунок 1 - Каллусогенез в культуре пыльников гибридных линий твердой пшеницы

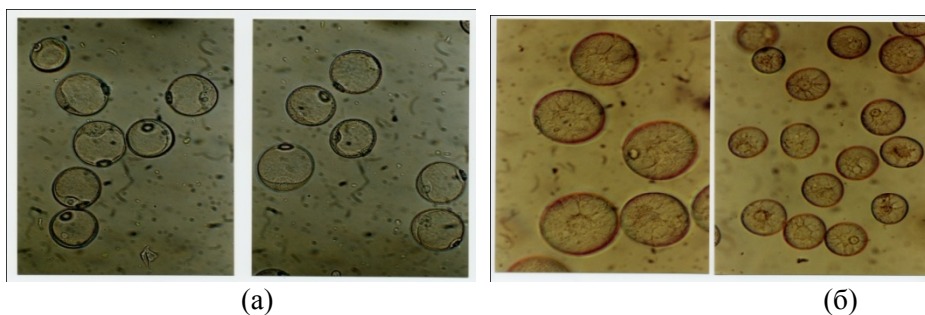
В дальнейшем с целью индукции процессов морфогенеза и регенерации растений каллусы и эмбриониды переносили на среду МС с добавками различных фитогормонов: ИУК, БАП, кинетин. В результате было получено незначительное количество полноценных регенерантов - 9, 4 из них оказались гаплоидными, остальные анеуплиды. Большинство регенерантов – альбиносы, которые не доживали до момента пересадки в грунт (Рисунок 2).



а- регенеранты-альбиносы, б- зеленые растения регенеранты гибридных форм твердой пшеницы

Рисунок 2 - Регенерация растений в культуре пыльников твердой пшеницы

Цитологические исследования развития микроспор пшеницы *in vitro* показали, что в момент вычленения пыльников из колосьев от 77 до 99% микроспор находились на одноядерной стадии развития, а остальная часть (1-23%) - на двуядерной. Дальнейшее развитие микроспор в культуре определяется, как правило, первым и вторым митотическим делением. В процессе культивирования в условиях *in vitro* на 5-6-й после посадки пыльников у большинства линии наблюдали от 10 до 30 % делящихся микроспор. На 12-й день после первого неравного деления наблюдалось преимущественно развитие вегетативных ядер по А-пути (по Сандерленду) [7].



а- микроспоры пшеницы на 3-4 день после культивирования
б- морфологические изменения после 15-18 дней культивирования

Рисунок 3 - Морфологические изменения микроспор пшеницы в процессе культивирования

Этот путь развития в дальнейшем приводит к дегенерации генеративных клеток, а интенсивное деление вегетативных ядер приводит к образованию проэмбрио. В наших экспериментах наблюдали как прямой эмбриогенез, что и подтверждают данные таблицы 1, так и в процессе культивирования выявлены с различной частотой все типы развития микроспор.

Б-путь приводит к образованию каллусов, когда наблюдается преимущественное деление генеративных клеток. Здесь также возможно образование проэмбрио, но с заметной задержкой по времени. Иногда после первого неравного деления наблюдалось независимое деление как вегетативных, так и генеративных ядер (АБ-путь). При этом образуется многоклеточный комплекс, приводящий к образованию каллусов.

У многих изучаемых линий пшеницы наблюдалась сильная вакуолизация микроспор и последующая дегенерация ядер, что по-видимому, и является причиной отсутствия андрогенных структур в культуре пыльников [8]. Однако данные процессы требуют более глубокого изучения для установления связи между условиями, создаваемыми в культуре и теми или иными преобладающими путями развития микроспор в условиях *in vitro*. Возможно, разработка механизмов регуляции развития микроспор по пути прямого андрогенеза или каллусогенеза, что будет способствовать совершенствованию гаплоидной технологии [9]. Особенно это важно, как уже подчеркивалось ранее, для твердых форм пшеницы.

Литература

1 Dunwell J.M. and Sanderlend N., *Pollen ultrastructure in anther culture of Nicotiana glauca II. Changes associated with embryogenesis.*// *J.Exp.Bot.* 1974.N.25, P.363-373.

2 De Buyser J., Henry Y. And Taleb G. *Wheat androgenesis: Cytogenetical Analysis and agronomic performance of doubled haploids*// *Z.Pflanzenzuchtg* 1985., N95, P.24-33

3 He D.G., Quyang J.W. *Callus and plantlet formation from cultured wheat anthers at different development stages.* //1984.*Plant Science Letter.*,N.33.P.71-79

4 Паушева З.П. *Практикум по цитологии.*- М. Агрпромиздат, 1988, С. 56-95. 5.

5 Barnabás B., Szakács É., Karsai I., Bed Z. *In vitro androgenesis of wheat: from fundamentals to practical application*// *Euphytica*, 2001.V. 119, N. 1-2, P. 211-216(6)

6 Богуснаев К.К., Кударов Б.Р., Анапияев Б.Б., Шамров И.И., Батыгина Т.Б. *Pathways of morphogenesis in culture of wheat anther* // В Трудях XI International symposium "Embryology and seed reproduction", S-Petersburg,1990, С. 45-48

7 Sanderland N., and Evans L.J., *Multicellular pollen formation in cultured barley anthers.II. The A,B and C pathways.*// *J.Exp.Bot.* 1980. N.31.P.501-514.

8 Eva Szakacs and Beata Barnabas. *Cytological aspects of in vitro androgenesis in wheat (Triticum aestivumL.) using fluorescent microscopy*//*Sexual Plant Reproduction*, 1988., N1.,P. 217-222

9 Touraev A., Indrianto A., Wratschko I.,Visente E. And Heberle-Bors. *Efficient microspore embryogenesis in wheat (Triticum aestivum) induced by starvation at high temperature.*// *Sex. Plant Reprod.* 1996. N9, P.209-215

Тұжырым

Блэйдз оратсында өсірілген әртүрлі *Triticum durum* бидай сорттарының тозаңдықтарды және микроспораларды *in vitro* жағдайында өсіру барысында андрогенез процесстерді салыстырмалы зерттеуінің эксперименталдық нәтижелер мақалада көрсетілген.

Summary

In work are presented experimental data on comparative studying processes of androgenesis in culture of isolated anther and microspores of wheat (*T.durum*) and hybrid lines. It is shown the various degree of responsiveness of grades and lines of firm and soft wheat at cultivation on Bleids medium.

УДК 582.263: 573.6.086.

Мусалдинов Т.Б.

ВЛИЯНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СУСПЕНЗИИ МИКРОВОДОРОСЛИ *Chlorella vulgaris* Beijr., УА-1-20 НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И ИНДУКЦИЮ УСТОЙЧИВОСТИ ОГУРЦОВ К КОРНЕВОЙ ГНИЛИ В ЗАЩИЩЕННОМ ГРУНТЕ

(Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина)

*В результате проведенных исследований установлено положительное влияние предпосевной обработки культуральной суспензией *Chlorella vulgaris* Beijr., УА-1-20 на посевные качества семян огурцов. При этом улучшаются рост и развитие растений, биохимические показатели. Отмечена устойчивость растений к заболеваниям, биологическая эффективность против корневой гнили составила 63,7%, количество женских соцветий увеличилось на 49%, прибавка урожая составила 23% по сравнению с контролем.*

Известно, что овощи имеют большое значение в питании людей. Они богаты витаминами, углеводами, белками, макро- и микроэлементами. Овощные культуры, в том числе огурцы, возделываются во всех регионах нашей Республики. В последние годы уделяется большое внимание дальнейшему увеличению производства, огурцов в открытом и закрытом грунте.

Важным звеном в получении высокого и устойчивого урожая огурцов является сокращение потерь от широко распространенного и вредоносного фузариозного заболевания - корневая гниль. Преждевременная гибель растений в теплицах, вызываемая болезнью, ежегодно составляет 10-30%, а в отдельные годы пораженность этим заболеванием достигает 60-70%, что приводит к качественному и количественному снижению урожая огурцов [1, 2]. Болезни данной культуры Республики Казахстан изучались А.А. Джаймурзиной и др. [3]. Ими разработан ряд мероприятий против комплекса болезней, в том числе и корневой гнили.

Наиболее актуальной задачей на сегодняшний день является поиск альтернативных способов (путем использования биологически безопасных препаратов), индукторов устойчивости, защитно-стимулирующих составов, способствующих повышению урожайности и качества продукции растениеводства. Уменьшение агрессивных химических реагентов возможно за счет использования регуляторов роста растений (РРР), органических нуклеиновых кислот, препаратов геоорганического происхождения – гуминовых веществ, микробиологического [4, 5] и растительного происхождения [6].

В настоящее время предлагаются различные системы новых технологий земледелия (органическая, органо-биологическая, биологическая и др.), основанные на полном или частичном отказе от применения минеральных удобрений и химических средств защиты растений.

Одним из главных принципов биологического земледелия является сохранение и повышение плодородия почвы за счет использования органических удобрений (навоз, солома, сидераты и т.д.), азотфиксирующих микроорганизмов и водорослей. Биологизация земледелия при правильном использовании является не только источником питательных элементов для растений, но и обеспечивает высокую продуктивность почв, стимулирует роста численности микроорганизмов и влияет на биологическую активность почвы [7, 8].

Научные исследования о биологических способах обеззараживания, стимуляции роста семян и растений изучены недостаточно. Среди биологических препаратов повышенный интерес представляют водоросли, которые широко распространены в природе и отличаются разнообразием форм. Азотфиксирующие и не азотфиксирующие сине-зеленые и зеленые водоросли почти не имеют "конкурентов" по способности синтезировать различные физиологически активные вещества. Во вторичных метаболитах водорослей обнаружено множество витаминов, ферментов, аминокислот, макро- и микроэлементов. В них найден широкий спектр фитогормонов (индольной природы, ауксины, цитокинины и др.), способных оказывать регулирующее влияние на многие процессы роста, развития и корнеобразования растений. Они повышают резистентность и устойчивость растений к различным стрессовым факторам [9, 10, 11].

Цель работы – изучить влияние культуральной суспензии микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijr., УА-1-20 на рост, развитие, продуктивность и биохимические показатели растений, а также на повышение индукции устойчивости огурцов к корневой гнили в защищенном грунте

Материалы и методы

Опыты проводились в лабораторных и производственных условиях на естественном инфекционном фоне согласно методическим указаниям [12]. Нарработку суспензионной культуры

Chlorella vulgaris Beijr., VA-1-20 проводили на среде Тамия по методике М.Г Владимировой и В.Е. Семененко [13].

В лабораторных условиях проверяли влияние обработки семян огурца, сорта ТСХА-211, на их посевные качества (энергия прорастания и лабораторная всхожесть) путем замачивания в растворе препаратов по 100 шт. с экспозицией 12 часов [14]. Продолжительность опыта - 15 суток, повторность 3-х кратная. В качестве эталона использовали, проводимое хозяйством обеззараживание семян, марганцовокислый кали (KMnO₄). В качестве аналогов брали обработку семян органическим стимулятором «Гумат натрия», а также смесь микроэлементов (MnSO₄, ZnSO₄ * 7H₂O, MoO₃, H₃BO₃, CuSO₄ * 5 H₂O) из расчета 300 мг каждого на литр воды. Варианты опыта: 1. Контроль - вода. 2. KMnO₄ (1%) - эталон. 3. Микроэлементы (Mn, Zn, Mo, B, Cu) концентрация каждого 0,03%. 4. Гумат натрия - 30 мг/л; 5. Микроводоросль хлорелла (30 млн. кл/мл). По истечению времени экспозиции, семена огурцов извлекались из лабораторных стаканов, затем подсушивали на солнце до кондиционной влажности и высевали их в чашки Петри с фильтровальной бумагой согласно вариантам опыта. Чашки Петри с семенами огурцов в контрольном и опытных вариантах поливали дистиллированной водой один раз в сутки до полного увлажнения фильтровальной бумаги. Проращивание семян проводили при температуре 22°C на приборе Якобсона. На 4 сутки определяли энергию прорастания и на 8 сутки - лабораторную всхожесть семян огурцов. Для определения биометрических показателей обработанные семена каждого варианта по 10 шт высевали в вазоны с стерильным песком и помещали в электротеплицу «Флора-1» и проводили наблюдения за посевными качествами семян, а также биометрические измерения.

В производственных условиях оценивали эффективность этих же вариантов. Исследования проводились в теплице «Гринхаус компани» (г. Алматы) на заранее подобранном естественном инфекционном фоне. Площадь делянок 0,1 га, повторность опыта 4-х кратная. Результаты опыта обрабатывались согласно методике Б. А. Доспехова [15]. На опытах регулярно, один раз в неделю, проводились учеты за развитием болезни и фенологические наблюдения по общепринятым методикам [16,17 18]. Биохимические показатели и содержание нитратов в продукции определяли в биохимической лаборатории КазНИИЗР. Результаты экспериментов представлены в таблицах 1, 2, 3, 4.

Результаты и их обсуждение

Результаты лабораторного опыта показали, что во всех вариантах опыта по предпосевной обработке семян отмечается положительное влияние на посевные качества семян и биометрические показатели по сравнению с контролем (таблица 1).

Таблица 1 - Влияние обработок семян на их посевные качества и биометрические показатели проростков огурцов (лабораторный опыт, 2003 г)

Вариант опыта	Концентрация препаратов	Посевные качества семян %		Биометрические показатели			
		энергия прорастания	лабораторная всхожесть	высота стеблей, см	длина корней, см	ширина листа, см	вес корня, мг
1	2	3	4	5	6	7	8
1. Контроль -	-	58	78	8,5 ± 0,4	4,9 ± 0,1	15,4 ± 0,5	50,7 ± 3
2. KMnO ₄ (1%) - эталон.	0,03	62	88	8,8 ± 0,6	5,1 ± 0,3	16,1 ± 0,4	56,3 ± 3
3. Микроэлементы (Mn, Zn, Mo, B, Cu) концентрация каждого 0,03%.	0,03	64	85	9,1 ± 0,5	5,2 ± 0,2	16,3 ± 0,3	62,1 ± 4
4. Гумат натрия - 30 мг/л	30	68	88	10,3 ± 0,9	6,5 ± 0,7	17,1 ± 0,6	84,2 ± 5
5. Микроводоросль хлорелла (30 млн.	30	79	98	12,2 ± 0,4	7,5 ± 0,4	17,7 ± 0,8	104,0 ± 6

Из полученных данных таблицы 1 видно, что наилучшие результаты отмечаются в варианте замочки семян в суспензии микроводоросли хлорелла. Так, энергия прорастания и лабораторная всхожесть, в этом варианте выше, чем в контроле и эталоне на 21-17%, 20-16%, соответственно; высота стебля, длина корней, ширина листа и весь корня выше на 1,8-1,2 см; 2,6-2,4; 2,3-1.6см; 53,3-43,7мг соответственно. Положительные результаты при обработке семян суспензией микроводоросли хлорелла получены и при производственной проверке (таблица 2).

Таблица 2 - Влияние обработок семян на биометрические показатели и образование соцветий на огурцах в закрытом грунте (производственный опыт, среднее за 2003-2005 гг.)

Варианты опыта	Число цветков, шт		Диаметр листа, см	Количество междоузлий, шт
	женские	мужские		
1. Контроль - вода.	2,8± 0,2	7,3± 0,3	23,2± 1,8	13,3± 2,1
2. KMnO ₄ (1%) - эталон.	3,3 ± 0,1	7,2 ± 0,4	24,5 ± 2,1	14,8 ± 2,1
3. Микроэлементы (Mn, Zn, Mo, B, Cu) концентрация каждого 0,03%.	4,1± 0,2	6,8± 0,3	25,6± 1,8	15,6± 1,1
4. Гумат натрия - 30 мг/л	5,8 ± 0,3	3,6 ± 0,2	28,3 ± 1,5	16,5 ± 0,9
5. Микроводоросль хлорелла (30 млн. кл/мл)	7,4 ± 0,4	1,5 ± 0,1	30,3 ± 1,4	17,1 ± 0,7

Результаты опыта таблицы 2 показывают, что в варианте с хлореллой диаметр листа, количество междоузлий, значительно выше, чем в остальных вариантах. Кроме того, количество женских цветков на 49% больше, чем мужских. В то время как в контрольном и эталонном вариантах, количество мужских цветков в 3-2 раза соответственно больше, чем женских. Следовательно, предпосевной обработкой семян огурца суспензией хлореллы можно регулировать количество образования женских соцветий.

Таблица 3 - Влияние обработок семян на биохимические показатели огурцов в закрытом грунте (производственный опыт, среднее за 2003-2005 гг.)

Вариант опыты	Первичная влага, %	Азот общий, %	Сырой протеин, %	Сахар, %	Витамин С мг, в сырой продукции	Нитраты в мг/кг, в сыром виде
1. Контроль - вода.	97,7	2,63	16,20	2,62	2,8	186,5
2. KMnO ₄ (1%) - эталон.	97,6	2,70	16,80	2,72	3,0	178,0
3. Микроэлементы (Mn, Zn, Mo, B, Cu) концентрация каждого 0,03%.	97,5	2,68	16,91	2,75	3,1	144,8
4. Гумат натрия - 30	97,2	2,70	17,02	2,80	3,2	110,2
5. Микроводоросль хлорелла (30 млн.	97,1	2,75	17,19	2,90	3,6	70,0

Обработка семян суспензией хлореллы оказывает также положительное влияние на ряд биохимических показателей (таблица 3). Как видно из данных таблицы 3, огурцы, полученные в варианте с суспензией хлореллой, содержат больше сырого протеина, сахаров, витамина С по сравнению с другими вариантами. Особый интерес представляют результаты по содержанию нитратов. В сыром виде их количество в варианте с хлореллой снизилось на 108 мг по сравнению с эталоном (KMnO₄) и на 40,2 мг по сравнению с гуматом натрия. Следовательно, обработка семян огурца суспензией хлореллы улучшает также качество овощной продукции.

Оценка эффективности обработки семян суспензией микроводоросли хлорелла в производственных условиях показала, что данный прием индуцирует устойчивость огурцов к корневой гнили и повышает их продуктивность (таблица 4).

Таблица 4 - Эффективность обработки семян огурцов суспензией микроводоросли хлореллы против корневой гнили в закрытом грунте, производственный опыт (среднее за 2003-2005гг)

Варианты опыта	Распространенность болезни, %	Степень развития болезни, %	Биологическая эффективность, %	Урожай, кг/м ²	Прибавка урожая	
					кг/м ²	% к контролю
1. Контроль - вода.	24,8	12,4	-	19,2	-	-
2. KMnO ₄ (1%) - эталон.	18,3	8,8	29	20,0	0,8	4,2
3. Микроэлементы (Mn, Zn, Mo, B, Cu) концентрация каждого 0,03%.	16,5	7,3	41,1	20,4	1,2	6,2
4. Гумат натрия - 30	14	6,2	48,3	21,2	2,0	10,4
5. Микроводоросль хлорелла (30 млн.	6,8	4,5	63,7	23,3	4,1	21,3
НСР ₀₀₅	-	-	-	1,2	-	-

В результате испытаний установлено, что в варианте с хлореллой биологическая эффективность против корневой гнили составляет по сравнению с контролем 63,7% в то время как в других вариантах 41,1-48,3%. Прибавка урожая в этом варианте также выше, чем в других вариантах и составляет 18,7% по сравнению с контролем.

Таким образом, результаты исследований показали, что обработка семян огурцов суспензией микроводоросли хлорелла положительно влияет на посевные качества семян, биохимические показатели и продуктивность огурцов, а также индуцирует устойчивость к корневой гнили.

Литература

- 1 Льевейке Х.М. Распространение, возбудители и меры борьбы с фузариозом огурца в закрытом грунте Эстонской ССР. // Автореф. дис. канд. биол. наук. Таллинн, 1972. С. 40.
- 2 Кулдыбаев М.М. *Actinomyces roseoflavus aria A 23/791* в борьбе с корневой гнилью огурцов в гидропонных условиях возделывания. // Автореф. дис. канд. биол. наук. Алматы, 1974. С. 25.
- 3 Джаймурзина А.А., Карбозова Р.Д. Физико-химический способ обработки семян огурцов в открытом и защищенном грунте. // Информ. листок. Алма-Ата. КазНИТИ, 1987, 4 с.
- 4 Билай В.И. Биологические активные вещества микробиологических грибов и их применение. Киев: Наукова думка.1965.С.267.
- 5 Кристенсен М.К. Микрофлора и ухудшение качества семян.//Жизнеспособность семян. М.: Колос,1978.С.63-91.
- 6 Кинтя П.К., Фадеев Ю.М., Акимов Ю.А. Терпеноиды растений. Кишинев: Штиинца,1990. С.152.
- 7 Саданов А.К., Курманбаев А.А. Экологические технологии в биологизации земледелия. - Алматы: Ғылым, 1999. – 220 с.
- 8 Петров В.Б., Чеботарь В.К.; Казаков А.Е. Микробиологические препараты в биологизации земледелия России // Достижения науки и техники АПК. 2000. №10. С. 16-20.
- 9 Музафаров А. М., Таубаев Т. Т. Культивирование и применение микроводорослей. Ташкент, 1984. 130 с.
- 10 Таутс М. И., Семененко В.Е. Выделение и идентификация физиологически активных веществ индольной природы во внеклеточных метаболитах хлореллы // Доклады Академии наук СССР, 1971. Том 198, № 4. С. 970-973
- 11 Кадырова Г.Х. Продуцирование ауксина цианобактериями // Узбекский биологический журнал. 2004.№4. С.9-13
- 12 Методические указания по проведению регистрационных испытаний фунгицидов протравителей семян и биопрепаратов растениеводстве. Алматы-Акмолла, 1997, 64 с.
- 13 Владимировна М.Г. и Семененко В.Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. М.; 1962. с.4-8.
- 14 Нургасенов Т.Н., Сулейменова С.Е., Каракальчев А.С., Арыстангулов С.С. Сортоведение, семеноводство и семеноведение полевых культур. - Алматы: Агроуниверситет,2005.-153с.

15 Доспехов Б.А. Методика полевого опыта М.: Агропромиздат, 1985. 351с.

16 Чумаков А.Е. Основные методы фитопатологических исследований. ВАСХНИЛ М.: 1974, 89с.

17 Хокряков М.К. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов. Л.: 1974, 64 с.

18 Кирай З.И. Методы фитопатологии. М.: Колос, 1976, 343с.

Тұжырым

Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде қиярдың тұқымын себер алдында *Chlorella vulgaris* Beijr., UA-1-20 культуралы суспензиясымен өңдеу тұқымның өнгіштік сапасына жақсы әсер еткені анықталды. Өсімдіктің өсіп дамуы мен қиярдың биохимиялық көрсеткіштері жақсарды. Өсімдіктің ауруларға төзімділігі – тамыр шірігіне қарсы биологиялық тиімділік 63,7% құрып, аналық гүл шоғының саны 49% жоғарылап, бақылаумен салыстырғанда 23% қосымша өнім алынды.

Summary

As a result of the spent researches positive influence of preseeding processing by suspension *Chlorella vulgaris* Beijr is established., UA-1-20 on sowing qualities of seeds of cucumbers. Growth and development a plant, biochemical indicators thus improve. Stability of plants to diseases is noted, biological efficiency against root decay has made 63,7 %, the quantity of female inflorescences has increased by 49 %, the crop increase has made 23 % in comparison with the control.

УДК 575.113:12+576.354.4

Есимбекова М.А.

**СКОРОСТЬ РАЗВИТИЯ ДО КОЛОШЕНИЯ В РАЗЛИЧНЫХ
ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОНАХ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ
В КАЗАХСТАНЕ – СИСТЕМА Vrn ГЕНОВ**

(Казахский научно - исследовательский институт земледелия и растениеводства)

Изучением изогенных серий сортов Triple Dirk, Скороспелка 3б и Мироновская 808 по генам Vrn 1-3 на удлиненном (Шортанды, Петропавловск, Омск, Тюмень) и укороченном (Алматы) фотопериодах выявлено различие в соотношениях по скорости развития до колошения между моногенно – доминантными локусами Vrn 1-3. Установлено что на удлиненном фотопериоде (Петропавловск) независимо от фоточувствительности генофона основного сорта соотношение по силе действия между моногенно – доминантными локусами Vrn 1-3 соответствует классическому (Vrn 1 > Vrn 3 > Vrn 2), ген Vrn 1 был наиболее сильным в фенотипическом проявлении. На укороченном фотопериоде (Алматы) ген Vrn 3 был равен по силе действия Vrn 1. Наименьшим эффектом аддитивности обладал ген Vrn 2, который удлинял период до колошения по сравнению со средней вариантой, как на удлиненном, так и на укороченном фотопериоде.

В современной интерпретации сорт представляется как категория, в которой высокий генетический потенциал продуктивности и лучшие технологические показатели качества продукции определяются оптимальным для зоны возделывания вегетационным периодом в сочетании с устойчивостью к стрессам, комплексным иммунитетом, отзывчивостью на технологии возделывания [1]. Для каждой эколого - географической зоны должна быть своя средне - оптимальная скорость развития, овладение генетическим разнообразием по которой существенно снизит роль не контролируемых температурно-световых факторов, и приведет к получению стабильных гарантированных урожаев [2]. Наиболее важные из генов адаптивности – это гены отзывчивости на яровизацию (Vrn – гены) доминантные аллели которых определяют не только яровость, но и скороспелость [3-6]. Генотипы ряда местных сортов мягкой пшеницы Казахстана определены по типу развития [7], в том числе и с использованием анеуплоидного анализа [8]. Однако вопросы геногеографии генов Vrn, которые рассматриваются в последнее время не только в пределах континентов и стран, но и территорий внутри страны – зон действия того или иного селекционного центра остаются не изученными и представляют интерес как для теоретических так и для практических исследований в области селекции яровой пшеницы в Казахстане.

В этой связи были поставлены следующие задачи - изучить величины генетических эффектов Vrn 1-3 генов по скорости развития до колошения в различных по климатическим условиям зонах возделывания мягкой пшеницы в Казахстане

Материалы и методы

Материалом исследования служили изогенные серии сортов Triple Dirk, Скороспелка 3б и Мироновская 808 по генам Vrn 1-3. Фенологические наблюдения проведены по методам общепринятым в международной селекционной практике [9]. Генетические эффекты локусов Vrn 1-3 у мягкой пшеницы определены согласно методике предложенной ВСГИ [10].

Результаты и их обсуждение

Пшеница является длиннодневным растением и с продвижением на север несколько ускоряет колошение и цветение. Как правило, сорта пшеницы произрастающие в северных широтах длиннодневные, а на юге короткодневные. На длиннодневные растения влияет только избыток темноты, а на короткодневные – как избыток, так и ее недостаток. В высоких широтах, в условиях длинного дня, растения находятся в иных условиях освещения, чем в низких широтах при коротком дне [11]. Влияние длины дня на величину периода до колошения (ПДК) было прослежено сравнительным изучением «скорости развития до колошения» моногенно – доминантных локусов Vrn 1-3 сорта Triple Dirk в условиях длинного (Шортанды, Петропавловск, Омск, Тюмень) и короткого дня (Алматы), таблица 1.

В условиях короткого дня Юго – Востока РК эффект ускорения периода до колошения (исходя из величины эффекта аддитивности локусов Vrn 1 и Vrn 3 – d 1 и d 3 соответственно) у генотипов с

моногенно доминантным локусом Vrn 3 был равен таковому для генотипов с локусом Vrn 1 независимо от фото чувствительности генофона. Установленная идентичность эффектов ускорения моногенно - доминантных локусов Vrn 1 и Vrn 3 несколько изменяет ранее установленную формулу отношений между 3-мя доминантными генами Vrn по силе фенотипического проявления, согласно которой локус Vrn 1 обеспечивает большую скорость до колошения чем локус Vrn 3 для которого характерно в среднем 4-х дневное отставание [5, 6]. Наблюдаемое объяснимо с позиции проведения исследований на Юго – Востоке РК, где вегетация проходит в условиях относительно высоких температур короткого дня, что способствует проявлению специфики доминантного аллеля Vrn 3, который по оценкам А.Ф. Стельмах [12] существенно ускоряет развитие при повышении температуры (зачастую выколашивается раньше доминантных по Vrn 1 генотипов, несмотря на более медленное начальное развитие).

Таблица 1 - Эколого-географические пункты испытания моногенно – доминантных локусов Vrn 1-3 сорта Triple Dirk

Эколого-географические пункты	НИУ	Широта	Долгота	Высота над уровнем моря
Юго–Восток РК, Алматы	НПЦЗиР	43 ⁰ 14' N	76 ⁰ 56' E	851m
Север РК, Шортанды	НПЦЗХ	51 ⁰ 10' N	71 ⁰ 25' E	350m
Север РК, Петропавловск	СК ГУ	54 ⁰ 50' N	69 ⁰ 11' E	142m
Западная Сибирь, Омск	Сиб.НИИСХ	54 ⁰ 56' N	73 ⁰ 24' E	123m
Северное Зауралье, Тюмень	НИИСХСЗ	57 ⁰ 09' N	65 ⁰ 32' E	70m

Изменение величины периода до колошения у изогенных линий Triple Dirk. при изучении в различных эколого-географических пунктах представлено в таблице 2, рисунке 1.

Таблица 2 - Изменение величины периода до колошения у изогенных линий Triple Dirk в различных эколого-географических пунктах

Генотип Triple Dirk.	Эколого-географические пункты				
	Алматы	Шортанды	Петропавловск	Омск	Тюмень
	ПДК, дни				
Vrn 11	63	45	40	43	41
Vrn 22	69	53	50	46	48
Vrn 33	62	44	38	43	40
Среднее	65	-17,1	-21,8	-20,5	-21,5

Знак (-) указывает на сокращение количества дней до колошения в низких широтах по сравнению с высокими.

От 17 (Шортанды - 51⁰ 10' N) до 22 дней (Петропавловск - 54⁰ 50' N) был сокращен в среднем период до колошения в низких широтах по сравнению с высокими (43⁰ 14' N - Алматы). По величине периода до колошения, обеспеченной определенными локусами, в частности локусами Vrn 1 и Vrn 3, эколого-географические пункты могут быть объединены в группы близкие по степени проявления признака – 1) Омск и Шортанды; 2) Петропавловск и Тюмень. Петропавловск выделен как пункт, где отмечен наименьший период до колошения по локусам Vrn 1и Vrn 3, Омск по локусу Vrn 2. В то же время по средней (-21,8; -20,5; -21,5) степени ускорения развития до колошения Vrn 1-3 локусов - Петропавловск, Тюмень и Омск могут быть объединены в один эколого-географический пункт. Во всех пунктах изучения для изогенной серии Triple Dirk сохранено отмеченное ранее в условиях короткого дня (Юго – Восток РК) соотношение между генотипами по степени ускорения колошения: Vrn 11= Vrn 33 > Vrn 22, т.е. не установлено достоверной разницы по степени фенотипического

выражения признака между локусами Vrn 1 и Vrn 3, но оба гена по скорости развития до колошения были скороспелее Vrn 2.

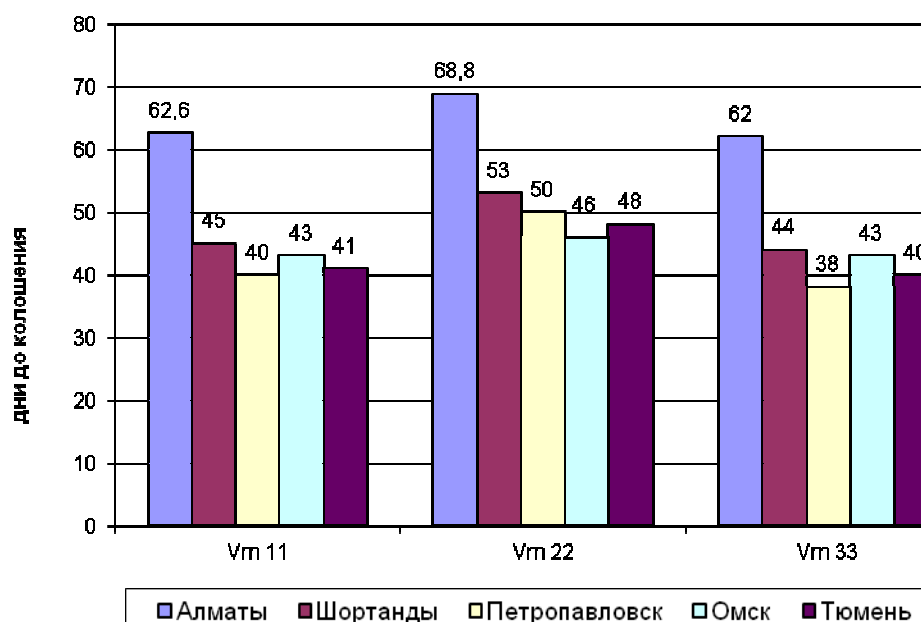


Рисунок 1 - Изменчивость признака "количество дней до колошения" у изогенных линий Triple Dirk

В Петропавловске, дополнительно к тестерной серии Triple Dirk в изучение были включены изогенные линии по локусам Vrn 1-3 сортов Скороспелка 3б и Мироновская 808. На удлинённом 18 – часовом фотопериоде Петропавловска, где наиболее полно были удовлетворены фотопериодические потребности культуры величина эффекта аддитивности первых 3-х локусов была выше, чем на Юго – Востоке и не зависела от реакции генофона на фотопериод. На изогенных сериях Vrn 1-3 сортов Скороспелка 3б и Мироновская 808 достоверно подтверждено классическое соотношение по силе действия между моногенно – доминантными локусами Vrn 1-3 ($Vrn 1 > Vrn 3 > Vrn 2$), ген Vrn 1 был наиболее сильным в фенотипическом проявлении. На уровне достоверности была разница по количеству дней до колошения между генотипами с локусами Vrn 1 и Vrn 3 (более 4-х дней). Моногенно – доминантный локус Vrn 2 обладал наименьшим эффектом аддитивности - был наиболее слабым в фенотипическом проявлении: удлинял период до колошения от 3,3 (Скороспелка 3б) до 11 (Triple Dirk) дней по сравнению со средней.

В условиях короткого дня Юго – Востока РК комбинация локусов Vrn 1 и Vrn 2 приводила к эффекту двойного эпистаза, выражающегося по характеру наследования в депрессии, приводящей к достоверному сокращению ПДК у дигенно – доминантных гомозигот Vrn 1122 по сравнению с моногенно – доминантными гомозиготами Vrn 11 и Vrn 22. Короткий день Юго – Востока РК привел к ожидаемым типам наследования - сверхдоминированию в генофоне Скороспелка 3б и депрессии в генофоне Мироновской 808 и Triple Dirk при комбинации локусов Vrn 1 и Vrn 3 (равных по величине генетических эффектов в условиях Ю-В. РК) в генотипе Vrn 1133. Эпистатические взаимодействия между локусами Vrn 2 и Vrn 3 (локус Vrn 3 подавляет действие локуса Vrn 2) выразилось на Юго – Востоке РК в промежуточном типе наследования в генофоне Скороспелка 3б и депрессии в генофонах Мироновской 808 и Triple Dirk.

В условиях удлинённого фотопериода эффект двойного эпистаза наиболее сильно был выражен в генотипе Vrn 1133 изогенных серий Triple Dirk и Мироновская 808 – 24 и 25 дней соответственно, таблица 3.

Интервал между крайними вариантами (наиболее скороспелым и наиболее позднеспелым генотипами) изогенной серии одного сорта, выраженный в абсолютных величинах, был значительным и достигал у Скороспелки 3б - 7 (Vrn 1и Vrn 2); Triple Dirk - 10 (Vrn 1122 и Vrn 2); Мироновской 808 - 15 дней (Vrn 1и Vrn 2).

В условиях длинного дня эпистатичность локуса Vrn 1 по отношению к локусу Vrn 2, выразилась в промежуточном типе наследования ПДК генотипами Vrn 1122 изогенных серий

Мироновская 808 и Скороспелка 36 и депрессией у соответствующей линии Triple Dirk. Сверхдоминирование отмечено для генотипов Vrn 1133 в генофонах Скороспелка 36 и Мироновской 808 как в условиях длинного, так и короткого дня. В Петропавловске генотип с локусом Vrn 2233 в генофоне Мироновская 808 показал промежуточное наследование с уклоном в сторону исходного генотипа с более высоким уровнем выраженности признака (Vrn 22) и к полному отрицательному доминированию и депрессии в генофонах Скороспелки 36 и Triple Dirk соответственно.

Таблица 3 - Генетические эффекты локусов Vrn 1-3 в различающихся по фотопериодической отзывчивости фонах, Петропавловск

Генофон	признак	Величина эффекта							НСР _{0,05}
		М	d1	d 2	d 3	i 12	i 13	i 23	
Скороспелка 36	ПДК	43	-10	-3	-7	8	11	3	2,6
Triple Dirk	ПДК	63	- 23	-13	-25	3	24	12	2,6
Мироновская 808	ПДК	41	-16	-1	-12	9	25	10	4,3

Коэффициент фото-чувствительности (Кфпч) равный T2/T1, где T1 и T2 продолжительность периода всходы – колошение (сутки) у растений, выращенных соответственно в условиях длинного (ДД) и короткого дня (КД) показывает реакцию изогенных линий на длину дня и дифференцирует генотипы соответственно на скороспелые слабочувствительные и позднеспелые сильночувствительные к фотопериоду /13/. Наибольшая реакция на длину дня отмечена у линий фоточувствительного сорта Мироновская 808, которые от 2,4 до 2,7 раз (Vrn 1и Vrn 3 соответственно) сокращают ПДК в условиях длинного дня, по сравнению с коротким. В фото - нейтральном генофоне все линии также реагируют на изменение длины дня, но в меньшей мере. Наиболее чувствительным был генотип 1122 Triple Dirk, который в 2,0 раза сократил период до колошения в условиях длинного дня по сравнению с выращиванием в условиях короткого дня, таблица 4.

Таблица 4 - Коэффициент фото-чувствительности у линий – аналогов, идентифицированных по локусам Vrn 1-3, в генофоне 3 сортов: Скороспелки–36, Мироновской 808, Triple Dirk

Генотип	Скороспелка 36	Triple Dirk	Мироновская 808
11	1,7	1,6	2,7
22	1,6	1,4	1,8
33	1,6	1,6	2,4
1122	1,5	2,0	1,8
1133	1,6	1,6	1,7
2233	1,7	1,6	1,7

Наиболее прогнозируемым по скорости колошения был доминантный Vrn 2 генотип, который независимо от генофона и условий оказался наиболее позднеспелым. Наиболее скороспелым независимо от условий был генотип Vrn 1122 в генофоне Triple Dirk. В условиях длинного дня Севера Казахстана в генофонах сортов либо доминантных по системе генов Ppd (Скороспелка 36) либо полностью рецессивных по локусам системы ppd (Мироновская 808) наиболее скороспелым был генотип моногенно – доминантный по локусу Vrn 1, таблица 5.

На удлинённом 18 – часовом фотопериоде Петропавловска ген Vrn 1 был наиболее сильным в фенотипическом проявлении. На изогенных сериях Vrn 1-3 сортов Скороспелка 36 и Мироновская 808 достоверно подтверждено классическое соотношение по силе действия между моногенно – доминантными локусами Vrn 1-3 (Vrn 1> Vrn 3> Vrn 2). Величина эффекта аддитивности первых 3-х локусов была выше, чем на Юго – Востоке и не зависела от реакции генофона на фотопериод. На уровне достоверности была разница по количеству дней до колошения между генотипами с локусами Vrn 1 и Vrn 3 (более 4-х дней). Моногенно – доминантный локус Vrn 2 обладал наименьшим эффектом аддитивности - был наиболее слабым в фенотипическом проявлении: удлинял период до колошения от 3,3 (Скороспелка 36) до 11 (Triple Dirk) дней по сравнению со средней.

Таблица 5 - Прогнозируемые отличия по скорости колошения доминантных по разным Vrn генам гомозигот от средней, дни

Генотип	Triple Dirk		Скороспелка -3б		Мироновская 808	
	Алматы	Петропавловск	Алматы	Петропавловск	Алматы	Петропавловск
11	-9,4	-23	-9,3	-10	-15,7	-16
22	-3,1	-13	-1,5	-3	-10,5	-1
33	-10	-25	-9,5	-7	-15,8	-12
1122	-11,2	-33	-9,5	-5	-24,5	-8
1133	-11,0	-24	-9,0	-6	-21,2	-3
2233	-11,0	-26	-6,7	-7	-19,5	-3
М	72	63	67	43	85	41

В фоточувствительном генофоне Мироновской 808 эпистатическое взаимодействие между локусами привело на Юго – Востоке РК к сокращению ПДК (депрессия) и к промежуточному типу наследования в Петропавловске при комбинации локусов, различающихся по степени фенотипического выражения (Vrn 1122, 2233) и к сверхдоминированию при одинаковой силе действия локусов (Vrn 1133). Эффект двойного эпистаза наиболее сильно был выражен в генотипе Vrn 1133 изогенных серий Triple Dirk и Мироновская 808 – 24 и 25 дней соответственно.

Литература

- 1 Гончаров П.Л. Оптимизация селекционного процесса в растениеводстве.//Международная конференция. «Развитие ключевых направлений сельскохозяйственных наук в Казахстане: селекция, биотехнология, генетические ресурсы», Алматы, 2004, С.23-26.
- 2 Вавилов Н.И. Научные основы селекции пшеницы., М., Л., Сельхозгиз, 1935,С.91;
- 3 Akerman A., McKey J. Attempts to improve the yield of spring wheat. Crosses between spring and winter wheat// Description of Svalof Ella spring wheat. Svering, Ursaderforen. Tidskr, 1949.В. 19(3).S.105-117;
- 4 Worland A. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats// Euphytica, 1996, 89: P.49-57;
- 5 Stelmakh A.F. Genetic systems regulating flowering response in wheat// Euphytica, 1998, 100, P.359-369;
- 6 Stelmakh A.F. Geographical distribution of Vrn genes in landraces and improved varieties of spring bread wheat// Euphytica, 1990, 45, P.113-118;
- 7 Джалпакова К.Д., Гончаров Н.П., Берсимбаев Р.И. Генетический контроль типа развития у сортов мягкой пшеницы Казахстана // Генетика. 1996. Т. 32.№ 1. С. 73-78.
- 8 Берсимбаев Р.И., Шулембаева К.К. Цитогенетические исследования мягкой пшеницы в Казахстане// Информационный Вестник ВОГис, 2005, т.9, № 3, С. 317-323
- 9 Instructions for the Management and Reporting the Results// CIMMYT/ICARDA/OSU 2000. 14 pp;
- 10 Стельмах А.Ф. Возможности определения генетических эффектов локусов Vrn у мягкой пшеницы// Научно – техн. бюллетень ВСГИ, №2, 1980, С.16-19.
- 11 В. А. Зыкин, В.П. Шаманин, И.А. Белан // Экология пшеницы. Омск. 2000, 124 с.
- 12 А.Ф.Стельмах Генетические эффекты локусов Vrn 1-3 и специфическое действие доминантного Vrn 3 аллеля у мягкой пшеницы// Цитология и генетика, 1987, 21, 4, С.278-285
- 13 И.А.Косарева, В.А. Кошкин. Развитие физиологических исследований в ВИР//Тр. По прикладной ботанике, генетике и селекции. Том 164. Санкт – Петербург. 2007. С. 350-359

Тұжырым

Салыстырмалы зерттеу нәтижесі бойынша «масақтануға дейінгі жылдамдық» көп генді – доминантты локустар Vrn 1-3 және Triple Dirk сорттарына географиялық белдеулер әсер етеді. Жоғары белдеуге (Шортанды, Петропавловск, Омск, Тюмень) және төменгі белдеуге (Алматы) жатады. Масақтану кезеңінің ұзақтығына байланысты бұл эколого-географиялық пункттер көрсеткіштері жағынан топқа біріктіріледі. Петропавлск масақтану кезеңі қысқа пункт болып саналады. Айта кететін жайт, барлық пункттерде генотип пен масақтануды қысқарту арасында байланыстылық сақталған. Изогендік линиялардың күннің ұзақтығына әсерінің фото-сезімталдық коэффициенті саналған.

Summary

In article influence of geographical latitude on the value of the trait «period up to heading» by a comparative study dominant locuses Vrn 1-3 of varieties Triple Dirk, Skorospelka 3b, Mironovskay 808 in high (Shortandy, Petropavlovsk, Omsk, Tyumen) and low geographical latitude (Almaty) is observed. Petropavlovsk is selected as the item of the greatest cutting of the period up to heading on locuses Vrn 1и Vrn 3 (till 24 days), Omsk on locus Vrn 2 (23 days).

УДК 631.527:633.11

Жангазиев А.С.

СЕЛЕКЦИЯ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ЖЕЛТОЙ РЖАВЧИНЕ В УСЛОВИЯХ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

(Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства)

Сорта и селекционные линии из КСИ, ПСИ и линий гибридов проходили иммунологическую оценку на естественном фоне заражения. Показано, что из подавляющего большинства (85-90%) линий и сортов озимой пшеницы, восприимчивых к листовельным заболеваниям, лишь 3-4% проявляли высокую устойчивость к желтой ржавчине. Среди них сорт Алмалы, Майра, Аран отличались высокой устойчивостью к желтой ржавчине.

Наиболее вредоносными и распространенными заболеваниями озимой пшеницы на предгорных зонах Казахстана являются желтая и бурая ржавчина. Вредность этих болезней заключается в том, что в результате массового образования пустул на листьях растений резко сокращается функциональная активность фотосинтетического аппарата. Потери зерна от болезней в годы эпифитотий могут достигать до 30-60% от общего урожая. Вполне реальным и экономически оправдавшим себя на практике средством борьбы с заболеваниями является создание устойчивых сортов. С этой целью необходимо выявить и использовать новые источники, доноры и гены общей неспецифической устойчивости (толерантных) при создании устойчивых к болезням озимой пшеницы.

Для выполнения поставленных целей нами были осуществлены следующие задачи:

- идентификация линий в конкурсном, предварительном сортоиспытании, перспективных и районированных сортов, а также гибридных линий озимой пшеницы на устойчивость к желтой ржавчине
- выделение доноров устойчивости к желтой ржавчине и отбор селекционно-ценных линий озимой пшеницы.

Материалы и методы

Исследование проводили в условиях полуобеспеченной осадками и на орошаемых почвах предгорной зоны Алматинской области. Зона характеризуется резко континентальным климатом с большим суточным и годовым колебанием температуры воздуха, неодинаковой по годам и сезонам суммы осадков (350-650 мм).

Исходным материалом для селекции озимой пшеницы послужили выделившиеся константные линии, полученные путем отбора из поколения гибридов (F_1 и F_2) от внутривидовых и межвидовых скрещиваний, а также сортообразцы и сорта селекции Украины, России, стран Европы.

Заражение перспективных линий, сортообразцов, а также оценку устойчивости материала проводили согласно методическим рекомендациям по зерновым культурам [1], а также методике международного классификатора СЭВ [2].

Результаты и их обсуждение

В последние годы желтая ржавчина и септориоз стали наиболее серьезной болезнью пшеницы на полях республики. Так, например, в 2002 году в КазНИИЗиР Карасайском районе степень поражения желтой ржавчиной и септориозом коммерческих сортов Стекловидная-24, Богарная-56, составила до 60-100%.

По многолетним данным сумма осадков за вегетационный период составляет 280 мм, при этом большая их часть выпадает на март, апрель и май месяцы.

Метеорологические условия 2008-2009 гг. весеннего периода для развития растений сложились благоприятно в сравнении с многолетними. Количество выпавших осадков в весенние месяцы почти вдвое превышали среднемноголетние. Температурные условия в марте характеризовались

положительным балансом (13,7⁰C) при сумме среднесуточных температур за месяц (5,6-9,6⁰C) в сравнении с многолетними значениями. Сумма положительных температур за вегетационный период отличалась уменьшением тепловых ресурсов и повышенной влажности, что привело к увеличению заболеваний желтой ржавчины и септориозом.

По результатам проведенных исследований сортообразцы и линии разделены на 3 группы: устойчивые (R), среднеустойчивые (MR) и восприимчивые (S).

Результаты воздействия стрессовых факторов внешней среды показывают, что на естественном фоне заражения из 30 перспективных и допущенных к использованию сортов к группе устойчивых относятся три сорта: Алмалы, Арап и Майра, что составляет 12,0% от общего их количества. К группе среднеустойчивых (MR) входят 6 сортов (или 22%) с оценкой 5-6 баллов: Дербес, Рассад, Карасай, Казахстанская-16, Мереке-70, Сапалы. У остальных образцов (72%) поражение составило 60-100%.

Сильную восприимчивость к желтой ржавчине особенно показали коммерческие сорта: Стекловидная-24, Богарная-56. Особый интерес для селекции представляют выделившиеся перспективные линии из питомников конкурсного сортоиспытания. Интенсивность поражения в селекционных посевах озимой пшеницы у восприимчивых сортов (Богарная-56, Стекловидная-24) в 2008-2009 году находилась в пределах 60-80%. После полного проявления болезней у восприимчивых сортов в период восковой спелости проведена окончательная оценка на устойчивость растений к видам ржавчины по 9-ти бальной шкале Международной классификации (1980).

Результаты иммунологической оценки на поражаемость к болезням представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Иммунологическая характеристика перспективных линий в питомниках: КСИ, ПСИ и линий F-2, 2008-2009 г.

Питомники	Количество изученных линий	Распределение линий по типу устойчивости к желтой ржавчине, в %		
		R (7-8 балл)	MR (5-6 балл)	S (2-4 балл)
КСИ	50	2,0	24,0	74,0
ПСИ	65	2,0	6,0	92,0
Линий F-2	735	6,6	22,0	71,6

Результаты иммунологической оценки показали, что из 735 перспективных линий в условиях жесткого естественного инфекционного фона 6 % линий оказались более устойчивыми к желтой ржавчине, 22% слабовосприимчивыми и 73-92% сильно восприимчивыми к изучаемой болезни. При изучении линий гибридов КСИ, особое внимание уделено комплексу хозяйственно-ценных признаков: в первую очередь на урожайность линий гибридов, затем, на качество зерна и в целом на устойчивость к различным видам болезней. По комплексу хозяйственно-ценных признаков из КСИ выделено 10 линий: МК 3677, ИМ78, 17272, 18423-4, SWW2/120 (F₇-138 x Сапалы-42-6), 18897-3 17368 (Альбатрос одесская x Наз), SWW 2/121 (F₇ 138 x Сапалы 13-1), SWW 2/95 (F₇ 132 x Арап-21-2.) Урожайность выделенных перспективных линий гибридов из КСИ колебалась от 70 ц/га до 86,0 ц/га. Среди них по урожайности зерна достоверно превышали линии гибридов, полученных от скрещивания с суперпшеницей из Мексики: SWW 2/121, SWW 2/120, SWW 2/95, которые превышают стандарты – Жетысу и Алмалы на 6-12,0 ц/га.

Результаты проведенных исследований показали, что из перспективных и допущенных к использованию 30 сортов озимой пшеницы высокоустойчивыми к желтой ржавчине являются: Алмалы, Майра и Арап. К группе среднеустойчивых – Дербес, Сапалы, Карасай, Рассад, Алия, Казахстанская-16. Все остальные сорта являются неустойчивыми к желтой ржавчине. Изучение перспективных линий из КСИ, ПСИ и линий гибридов, позволило выделить высокоурожайные, короткостебельные линии, сочетающие высокую продуктивность с высокой устойчивостью к желтой ржавчине.

Литература

- 1 Жангазиев А.С., Куттумбетова Н.Д. Определение характера наследований полевой устойчивости к желтой и бурой ржавчине внутри и межвидовыми гибридами озимой пшеницы и F1 // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана "Бастау", 2005. № 1. – С. 11-12.
- 2 Международный классификатор СЭФ рода *Triticum* L. Л., 1984. С. 83.

Тұжырым

Таубөктерде және суармалы жерлерде күздік бидай селекциясын жүргізуде келешегі бар және аудандастырылған сорттарды сары тат ауруына төзімділігін зерттеу нәтижесінде Алмалы, Майра, Арап сорттанрының жоғары дәрежеде төзімді екендігі анықталды. Дербес, Сапалы, Қарасай, Расад, Алия, Қазақстан-16 сорттары орташа төзімділерге жататындығы анықталды. Басқа аудандастырылған сорттар сары тат ауруына төзімсіз болып шықты.

Summary

Results of the lead researches have shown, that from the grades admitted touse (27) winter wheas highsteadі to yellow rust are: Almaty, Naz and Arap. To group middlesteadі – Derbes, Maira, Karasai, Rasad, Alia, Kazakhstan-16. All other grades are unstable to a yellow rust.

УДК 575.224.23:599.323.4

Колумбаева С.Ж.

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ЧАСТОТУ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ СУЛЬФАТОМ КАДМИЯ

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

*Изучено модифицирующее влияние растительных экстрактов из растений *Limonium myrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum* и *L. suffruticosum*, содержащих комплекс биологически активных веществ, на мутагенный эффект сульфата кадмия. Установлено, что при совместном применении сульфата кадмия и растительных экстрактов наблюдается достоверное снижение уровня хромосомных aberrаций в клетках зародышевой корневой меристемы семян ячменя, индуцированных ТМ.*

Поиск корректоров мутагенных эффектов различных факторов внешней среды не теряет своей актуальности в связи с увеличением антропогенного пресса на окружающую среду [1-7]. Многими авторами отмечается, что биологически активные вещества (БАВ) природного происхождения, в числе которых витамины, растительные флавонолы, фитогормоны, полипептиды, аминокислоты, являются эффективными модификаторами мутагенного эффекта. Многие из них являются антиоксидантами и могут повысить устойчивость организма к мутагенному и токсическому действию широкого ряда загрязнителей [8, 9]. В связи с этим одной из важных задач является проведение скрининга растений богатой дикорастущей флоры Казахстана на антимутогенную активность.

В работе представлены результаты исследования антимутогенной активности субстанций из разных видов растений *Limonium* семейства *Plumbagenaceae* в тесте по учету хромосомных aberrаций в клетках корневой зародышевой меристемы семян ячменя.

Материалы и методы

В качестве испытуемых химических соединений были взяты водные растворы экстрактов из подземной части 5 видов растений *Limonium* семейства *Plumbagenaceae*: *Limonium myrianthum* (Schrenk) Kuntze, *L. otolepis* (Schrenk) Kuntze, *L. popovii* Kubansk., *L. leptophyllum* (Schrenk) Kuntze, *L. suffruticosum* (L.) Kuntze [10]. В качестве мутагенного фактора был использован водный раствор сульфата кадмия в концентрации $1 \cdot 10^{-4}$ М. Растительные экстракты каждого вида *Limonium* использовали также в виде водного раствора в концентрации 100 мг/л.

Воздушно-сухие семена ячменя сорта Одесская 100 замачивали в растворах $CdSO_4$ и растительных экстрактов в течение 6 часов отдельно, а также по очереди – вначале в растворе ксенобиотика, а затем переносили в раствор экстрактов. После замачивания семена проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой, при $t = 24-26^{\circ}C$ в условиях термостата. Контролем служили семена, замоченные в дистиллированной воде.

Структурные мутации хромосом анализировали с помощью метафазного метода на временных давленных препаратах, окрашенных водным раствором фуксинсернистой кислоты [11, 12]. Метафазные пластинки анализировали и фотографировали в световом микроскопе Аxioskop-40 (Zeiss), подаренном фондом А. фон Гумбольдта биологическому факультету КазНУ им. аль-Фараби.

Статистическую обработку результатов наблюдений проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента [13].

Результаты и их обсуждение

Результаты цитогенетического изучения спонтанного и индуцированного мутагенеза в семенах ячменя представлены в таблице 1. Естественный уровень мутирования в семенах ячменя составил 1.14 перестроек на 100 просмотренных метафаз. Под воздействием экстрактов как из подземной, так и надземной частей 5 видов растений *Limonium* частота структурных мутаций в клетках зародышевой корневой меристемы семян ячменя оставалась на уровне контроля.

При обработке ячменя препаратами из подземной части *L. myrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum*, *L. suffruticosum* уровень хромосомных aberrаций на 100 просмотренных метафаз соответственно составил 1.18, 1.32, 0.98, 1.16 и 1.35. При воздействии экстрактов из надземной части – 1.20, 1.17, 1.10, 1.18 и 1.27, соответственно.

Сульфат кадмия при воздействии на семена ячменя индуцировал структурные перестройки хромосом с частотой, достоверно превышающей контрольный уровень. Общая частота aberrантных клеток составила 7.86 % ($p < 0.001$), в то время как число хромосомных aberrаций на 100 просмотренных метафаз – 8.84 ($p < 0.001$). Увеличение числа хромосомных aberrаций на 100 метафаз связано с наличием мультиaberrантных клеток (в одной метафазе обнаружено более одной поврежденной хромосомы).

Таблица 1 - Частота и спектр структурных нарушений хромосом, индуцированных $CdSO_4$ и экстрактами из подземной и надземной частей 5 видов растений *Limonium*

Вариант опыта	Всего изучено клеток	Частота aberrантных клеток ($M \pm m\%$)	Число хромосомных aberrаций на 100 метафазных клеток		
			всего aberrаций	хромосомного типа	хроматидного типа
Контроль	525	1.14 ± 0.46	1.14 ± 0.46	0.57 ± 0.33	0.57 ± 0.33
Экстракты из подземной части растений					
<i>Limonium myrianthum</i>	508	1.18 ± 0.48	1.18 ± 0.48	0.39 ± 0.28	0.79 ± 0.39
<i>L. otolepis</i>	531	1.32 ± 0.50	1.32 ± 0.50	0.56 ± 0.32	0.76 ± 0.38
<i>L. popovii</i>	510	0.98 ± 0.44	0.98 ± 0.44	0.39 ± 0.28	0.59 ± 0.34
<i>L. leptophyllum</i>	518	1.16 ± 0.47	1.16 ± 0.47	0.58 ± 0.33	0.58 ± 0.33
<i>L. suffruticosum</i>	520	1.35 ± 0.51	1.35 ± 0.51	0.58 ± 0.33	0.77 ± 0.38
Экстракты из надземной части растений					
<i>Limonium myrianthum</i>	499	1.20 ± 0.49	1.20 ± 0.49	0.40 ± 0.28	0.80 ± 0.40
<i>L. otolepis</i>	511	1.17 ± 0.48	1.17 ± 0.48	0.59 ± 0.34	0.58 ± 0.34
<i>L. popovii</i>	459	1.10 ± 0.49	1.10 ± 0.49	0.44 ± 0.31	0.66 ± 0.38
<i>L. leptophyllum</i>	595	1.18 ± 0.44	1.18 ± 0.44	0.50 ± 0.29	0.68 ± 0.34
<i>L. suffruticosum</i>	551	1.27 ± 0.48	1.27 ± 0.48	0.73 ± 0.36	0.54 ± 0.31
$CdSO_4$	509	$7.86 \pm 1.19^{***}$	$8.84 \pm 1.26^{***}$	$3.73 \pm 0.84^{***}$	$5.11 \pm 0.98^{***}$
Примечание: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$ в сравнении с контрольными значениями					

Спектр хромосомных перестроек, индуцированных сульфатом кадмия, был представлен всеми типами с превалированием нарушений хроматидного типа. Были отмечены парные концевые делеции, одиночные концевые и точечные фрагменты. Увеличение уровня aberrантных клеток и числа хромосомных aberrаций на 100 клеток происходило за счет нарушений всех типов перестроек хромосом ($p < 0.001$).

Результаты цитогенетического анализа клеток корневой зародышевой меристемы семян ячменя, обработанных экстрактами из подземной и надземной частей 5 видов растений *Limonium*, свидетельствуют об отсутствии мутагенной активности у изучаемых препаратов в использованных концентрациях. Напротив, сульфат кадмия оказал выраженный генотоксический эффект, увеличив

общую частоту aberrantных клеток и число хромосомных aberrаций соответственно в 6.89 и 7.75 раз по сравнению с контролем.

Результаты цитогенетического анализа семян ячменя, подвергнутых совместному воздействию сульфата кадмия и экстрактов из подземной и надземной частей 5 видов растений *Limonium*, представлены в таблице 2. Как видно из представленных данных, совместная обработка семян ячменя растительными экстрактами и сульфатом кадмия привела к достоверному снижению индуцированных ксенобиотиком хромосомных aberrаций в клетках корневой зародышевой меристемы.

При воздействии сульфата кадмия возникали структурные нарушения хромосом с частотой 8.84 на 100 метафаз. В результате совместного воздействия кадмия и субстанций из подземной части растений кермека частота aberrantных клеток и число хромосомных aberrаций на 100 метафаз составили соответственно: *L. myrianthum* – 3.58 % ($p < 0.01$) и 3.58 ($p < 0.001$), *L. otolepis* – 3.05 % ($p < 0.001$) и 3.24 ($p < 0.001$), *L. popovii* – 2.60 % и 2.60 ($p < 0.001$), *L. leptophyllum* – 3.35 % ($p < 0.01$) и 3.54 ($p < 0.001$), *L. suffruticosum* – 3.33 % ($p < 0.01$) и 3.72 ($p < 0.001$).

Во всех вариантах опыта наблюдалось достоверное снижение aberrаций как хромосомного, так и хроматидного типов. С высокой достоверностью произошло снижение хромосомных aberrаций хроматидного типа. Если сульфат кадмия индуцировал нарушения хромосомного типа с частотой 3.73 на 100 метафаз, то при дополнительном воздействии субстанций из *L. myrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum* и *L. suffruticosum* этот показатель снизился соответственно в 2.35, 2.45, 3.36, 2.38 и 1.90 раза.

Таблица 2 - Частота и спектр структурных нарушений хромосом, индуцированных $CdSO_4$ и экстрактами из подземной и надземной частей 5 видов растений *Limonium*

Вариант опыта	Всего изучено клеток	Частота aberrantных клеток ($M \pm m\%$)	Число хромосомных aberrаций на 100 метафазных клеток		
			всего aberrаций	хромосомного типа	хроматидного типа
Контроль	525	1.14 ± 0.46	1.14 ± 0.46	0.57 ± 0.33	0.57 ± 0.33
$CdSO_4$ + экстракты из подземной части растений					
$CdSO_4$	509	7.86 ± 1.19***	8.84 ± 1.26***	3.73 ± 0.84***	5.11 ± 0.98***
<i>Limonium myrianthum</i>	503	3.58 ± 0.83**	3.58 ± 0.83***	1.59 ± 0.56*	1.99 ± 0.62**
<i>L. otolepis</i>	525	3.05 ± 0.75***	3.24 ± 0.77***	1.52 ± 0.53*	1.72 ± 0.57**
<i>L. popovii</i>	539	2.60 ± 0.69***	2.60 ± 0.69***	1.11 ± 0.45**	1.49 ± 0.52**
<i>L. leptophyllum</i>	508	3.35 ± 0.80**	3.54 ± 0.82***	1.57 ± 0.55*	1.97 ± 0.62**
<i>L. suffruticosum</i>	511	3.33 ± 0.79**	3.72 ± 0.84***	1.96 ± 0.60	1.76 ± 0.58**
$CdSO_4$ + экстракты из надземной части растений					
<i>Limonium myrianthum</i>	518	3.86 ± 0.85**	3.86 ± 0.85**	1.74 ± 0.57	2.12 ± 0.63*
<i>L. otolepis</i>	515	3.50 ± 0.81**	3.69 ± 0.83***	1.55 ± 0.54	2.14 ± 0.64*
<i>L. popovii</i>	515	2.91 ± 0.74***	2.91 ± 0.74***	1.16 ± 0.47**	1.75 ± 0.58**
<i>L. leptophyllum</i>	520	3.85 ± 0.84**	4.04 ± 0.86**	1.73 ± 0.57*	2.31 ± 0.66*
<i>L. suffruticosum</i>	478	3.77 ± 0.87**	3.97 ± 0.89**	1.67 ± 0.59*	2.30 ± 0.69*
Примечание: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$ в сравнении с контрольными значениями					

Число хромосомных aberrаций хроматидного типа при дополнительном воздействии *L. myrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum* и *L. suffruticosum* снизилось в 2.58, 2.97, 3.43, 2.59 и 2.61 раза, соответственно, по сравнению с ТМ (5,11).

В результате совместного воздействия кадмия и субстанций из надземной части растений кермека частота aberrantных клеток и число хромосомных aberrаций на 100 метафаз уже составили соответственно: *L. myrianthum* – 3.86 % и 3.86 ($p < 0.01$), *L. otolepis* – 3.50 % ($p < 0.01$) и

3.69 ($p < 0.001$), *L. popovii* – 2.91 % и 2.91 ($p < 0.001$), *L. leptophyllum* – 3.85 % и 4.04 ($p < 0.01$), *L. suffruticosum* – 3.77 % и 3.97 ($p < 0.01$).

Как и в предыдущем варианте опыта, субстанции всех 5-ти видов растений *Limonium* проявили антимуtagenную активность. При дополнительном воздействии субстанций из *L. myrianthum* и *L. otolepis* наблюдалось достоверное снижение аберраций хроматидного типа, число которых на 100 метафаз составило, соответственно, 2.12 и 2.14 ($p < 0.05$). При дополнительном воздействии *L. popovii*, *L. leptophyllum* и *L. suffruticosum* наблюдалось достоверное снижение структурных нарушений как хромосомного, так и хроматидного типов, которые, соответственно, составили 1.16 и 1.75 ($p < 0.01$), 1.73 и 2.31 ($p < 0.05$), 1.67 и 2.30 ($p < 0.05$), в то время как при воздействии сульфата кадмия эти показатели были равны 3.73 и 5.11.

По степени модификации мутагенного эффекта сульфата кадмия растительными экстрактами из корней и корневищ в сторону его снижения виды кермека можно расположить в следующем порядке: *L. popovii* > *L. otolepis* > *L. leptophyllum* > *L. myrianthum* > *L. suffruticosum*.

По степени модификации мутагенного эффекта сульфата кадмия растительными экстрактами из надземной части в сторону его снижения виды кермека можно расположить в следующем порядке: *L. popovii* > *L. otolepis* > *L. myrianthum* > *L. suffruticosum* > *L. leptophyllum*.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о наличии антимуtagenной активности у субстанций, выделенных как из корней, корневищ и надземных частей изучаемых 5-ти видов *Limonium*. Сравнительный анализ частоты аберрантных клеток и числа хромосомных аберраций на 100 метафаз не выявил достоверной разницы в уровне модификации мутагенного эффекта сульфата кадмия комплексом БАВ из различных частей *L. popovii*, *L. otolepis*, *L. myrianthum*, *L. suffruticosum* и *L. leptophyllum*.

Литература

- 1 Дурнев А.Д. Модификация мутационного процесса в клетках человека // Вестн. РАМН. 2001. Т. 10. - С. 70–76.
- 2 Khetchoomian K., Teletin M., Tisserand J. et al. Loss of Trim 24 gene function confers oncogenic activity to retinoic acid receptor alpha // Nature. 2007. V. 39. № 12. - P. 1500–1505.
- 3 Засухина Г.Д., Васильева И.М., Ведерников А.И. и др. Антимуtagenные свойства диазакраун-соединений с N-карбокисильными заместителями // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2006. Т. 141. № 3. - С. 306–308.
- 4 Васильева И.М., Семячкина А.Н., Засухина Г.Д. и др. Защитное действие антимуtagenов в репаративно-дефектных клетках человека // Радиобиол. Радиоэкол. 2008. Т. 48. № 2. - С. 195–198.
- 5 Засухина Г.Д., Дурнев А.Д., Васильева И.М. и др. Исследование антимуtagenной и антиоксидантной активности краун-соединений в сравнении с эффектами экстракта чеснока // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2003. Т. 135. № 3. - С. 302–305.
- 6 Засухина Г.Д. Механизмы защиты клеток человека, связанные с генетическим полиморфизмом // Генетика. 2005. Т. 41. № 4. - С. 520–535.
- 7 Васильева И.М., Шагирова Ж.М., Синельщикова Т.А., Мавлетова Д.А., Кузьмина Н.С., Засухина Г.Д. Защита радиочувствительных клеток человека от воздействия тяжелых металлов антимуtagenными и адаптирующими факторами. связь с генетическим и белковым полиморфизмом // Генетика. 2009. Т. 45. № 6. - С. 753–757.
- 8 Кужир Т.Д. Антимуtagenны и химический антимуtagenез в системе высших эукариот. – Минск: Наукова думка. - 1999. - 263 с.
- 9 Засухина Г.Д., Синельщикова Т.А. Мутагенез, антимуtagenез, репарация ДНК // Вестник РАМН. 1993. № 1. – С.9-14.
- 10 Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР.- Л.: Наука, 1981.- 509 с.
- 11 Макаров В.П., Сафронов В.В. Цитогенетические методы анализа хромосом.-М.: Наука.1978. 85 с.
- 12 Немцева Л.С. Метафазный метод учета перестроек хромосом.-М.: Наука.1970. 126 с.
- 13 Рокицкий Н.Ф. Введение в статистическую генетику.- М.: Высшая школа. 1978.- 253 с.

Тұжырым

Кадмий сульфаттың мутагендік қабілеттілігіне биологиялық белсенді кешенді заттары бар *L. myrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum* және *L. suffruticosum* өсімдіктердің сығындыларының модификацияланған эсері зерттелді. Кадмий сульфаттың өсімдіктер сығындыларымен бірге қолданғанда ауыр металдармен өңделген арпа дәндерінің тамыр ұрық

меристемасының клеткаларында хромосомалық аберрацияларының сандық деңгейі сенімді ретінде төмендеуі анықталды. Өсімдіктердің жер асты және жер үсті бөлімдерінен алынған өсімдік сығындыларында антимуутагендік белсенділігінің деңгейі бойынша сенімді айырмашылық табылған жоқ.

Summary

Modifying influence of vegetative extracts from roots of *L. myrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum* and *L. suffruticosum*, biologically active substances containing a complex, on mutagen effect of cadmium sulphate is studied. It was established, that at joint application of xenobiotic and vegetative extracts authentic decrease in a level of chromosomal aberrations in seed barley induced by cadmium sulphate. It was not revealed authentic distinctions on a level of antimutagen activity of vegetative extracts from underground and overground parts of various kinds *Limonium*.

УДК 575.224.4, 575.1

Губицкая Е.Г.
**РЕПЛИКАТИВНЫЙ СИНТЕЗ ДНК В КЛЕТКАХ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
ПРЕДОБЛУЧЕННЫХ ДОЗАМИ 1-4 Гр**
(Институт общей генетики и цитологии)

Исследовали изменения репликативного синтеза ДНК в течение 96 часов культивирования после облучения дозами 1-4 Гр в клетках человека. Определено, что воздействие доз 1-3 Гр радиации не изменяет прохождение клеточного цикла, а доза 4 Гр вызывает снижение РПС, однако пик деления клеток отмечается на 96 часу роста клеточной суспензии.

Известно, что нестабильность генома обусловлена изменениями у выживших потомков облученных клеток, которые могут проявляться как отсроченная гибель клеток, дестабилизация хромосом, соматические мутации, изменение чувствительности и др. Следует отметить, что данное направление радиационной биологии в последние годы активно разрабатывается с применением разных объектов и культур клеток. Возможными механизмами, приводящими к радиационно-индуцированной нестабильности генома (РИНГ), считаются двойные разрывы ДНК, неправильная репарация, микроделеции, нарушение экспрессии генов, нарушение механизмов передачи сигналов, изменение статуса белка p53, амплификация генов и т.д. [1,2]. Для оценки негативного эффекта радиационного воздействия используются исследования, отражающие различные этапы функционирования клеток. В данном сообщении предпринят анализ радиационного индуцированного репликативного синтеза ДНК (РПС ДНК).

Одним многоэтапным генетически контролируемым процессом является репликация ДНК, протекающая во всех живых клетках и необходимая для самовоспроизведения нуклеиновых кислот, генов, хромосом. Повреждения в ДНК могут образовываться при воздействии ионизирующей радиации (гамма лучи, рентгеновские лучи), УФ- излучении, активных радикалов кислорода, химических мутагенов и т.п. Основными из которых, наблюдаются нарушения структуры, затрагивающие все четыре основания в ДНК (А, Т, С, G), которые могут быть ковалентно модифицированы в различных положениях. Потеря аминокислоты (дезаминирование), неправильное включение оснований, происходящее из-за ошибок в работе ДНК полимераз при репликации, при этом наиболее часто происходит включение урацила вместо тимина [3]. Кроме того, в ДНК могут происходить разрывы. Разрывы нуклеиновых цепей могут быть как одноцепочечными, так и парными, затрагивающими обе цепи ДНК.

При воздействии ионизирующего излучения в ДНК клеток млекопитающих возникает $(5-10) \cdot 10^3$ повреждений на клетку, приходящееся на одно летальное событие; в случаях УФ-облучения или действия некоторых алкилирующих агентов определено около 10^5 нарушений ДНК на клетку [3]. Тем не менее, барьером на пути реализации индуцированного повреждения являются репликация и репарация ДНК, постоянно функционирующие механизмы, поддерживающие целостность клеток, при воздействии экзогенных и эндогенных повреждающих агентов

Известно, что действие ионизирующей радиации формирует пул клеток с мутациями, которые могут сохраняться в потомстве, выступая в качестве одной из причин поддержания отдаленных последствий в поколении клеток. Реальность такого механизма подтверждается сведениями о том, что утрата контроля над сверхточными точками репликации и поврежденности ДНК в клеточном

цикле, например при инактивации белка Hus 1 у мышей, приводит к накоплению повреждений генома [4].

В данном исследовании была поставлена задача по выявлению стимуляции репликативного синтеза ДНК при воздействии больших доз радиации и установлению пролонгированности данного процесса в различных фазах клеточного деления.

Материалы и методы

Цельную донорскую кровь в стеклянных флаконах облучали γ -квантами на линейном электронном ускорителе ЭЛУ-2 с номинальной энергией ускоренных электронов 2 МЭВ с мощностью доз 0,01 Гр – 50 сГр/мин и 2 Гр – 100 сГр/мин. Уровень РПС измеряли как непосредственно после облучения, так и в течение времени культивирования клеток в питательной среде, содержащей 4,5 мл среды HAMS с глутамином, 20% сыворотки КРС, пенициллина 100 ед/мл, стрептомицина 100 ед/мл, 0,1% фитогеммаглютинаина. Клетки инкубировали при 37° С. При достижении требуемого срока роста культуры, суспензию клеток центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 мин.. Супернатант отделяли, клеточную массу ресуспендировали и раскапывали в равных количествах на микропанели. Каждый образец опыта исследовали в 5-и повторностях.

Уровень репликативного синтеза ДНК оценивали по включению ^3H -тимидина (2,5 мкКи/мл в течение 2 часов) в пул облученных и контрольных клеток крови. В работе использовался жидкостно-сцинтилляционный метод [5]. Клетки осаждали на нитроцеллюлозных фильтрах (0,4 мкм), промывали 5% раствором трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и фиксировали 70% этанолом. Фильтры помещали во флаконы со сцинтилляционной жидкостью. Счет радиоактивности проводили на Liquid Scintillation Analyzer TRI-carb 3100 TR (фирмы Packard BSC).

Об интенсивности репликативного синтеза ДНК судили по отношению радиоактивности в УФ-обработанных или в облученных γ -радиации клетках к радиоактивности в контрольных образцах (индекс стимуляции репликативного синтеза ДНК).

Результаты и их обсуждение

Изучение качественных и количественных закономерностей проявления радиобиологических феноменов в пострadiационном периоде - один из способов обнаружения нарушений, обуславливающих репродуктивную гибель, и путей реализации повреждений в облученных клетках. Известно, что ингибирование репликативного синтеза ДНК зависит как от дозы облучения, так и от фазы клеточного цикла в момент облучения, вида излучения и других факторов. Максимальное ингибирование РПС ДНК и удлинение S-периода наблюдается при облучении клеток, находящихся на границе G₁/S-фаз цикла, а также в начале и середине S-фазы; при облучении в поздней части S-периода эффективность подавления синтеза снижается. Облучение клеток в периоде G₁ незначительно подавляет процесс репликации.

В данном исследовании клетки крови человека облучали в фазе G₀ и далее культивировали на протяжении 4 суток. Для того, чтобы изучить участие репликативного (РПС) синтеза ДНК на формирование РИНГ необходимо было установить сначала степень активности данного процесса в условиях воздействия γ -излучения. При определении уровня стимуляции РПС ДНК через два часа после облучения клеток крови, отмечены различия протекания данного процесса в зависимости от дозы облучения (рисунок 1).

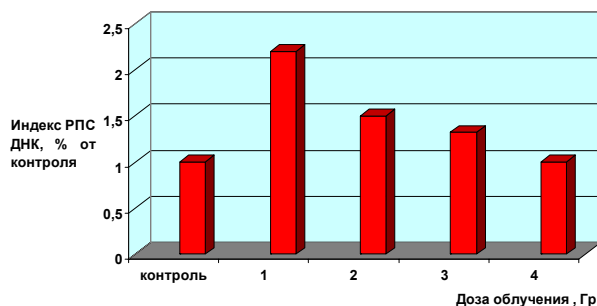


Рисунок 1 – Уровни стимуляции РПС ДНК при облучении большими дозами радиации в фазе G₀ клеточного цикла

Как следует из данных рисунка 1, наибольший уровень РПС ДНК отмечается при самой низкой из использованных доз. С возрастанием дозы облучения наблюдается снижение доли функционирующих клеток, включающих меченный тимидин. Увеличение дозы до 4 Гр приводит к

стабилизации контрольного уровня, т.е. стрессовое воздействие облучения столь велико, что культура клеток предпочитает не реагировать на облучение и поддерживает лишь уровень контроля.

Для определения отдаленных последствий действия γ – излучения, в использованных дозах, были проведены исследования по выявлению изменений стимуляции РПС ДНК до 96 часов (Рисунок 2).

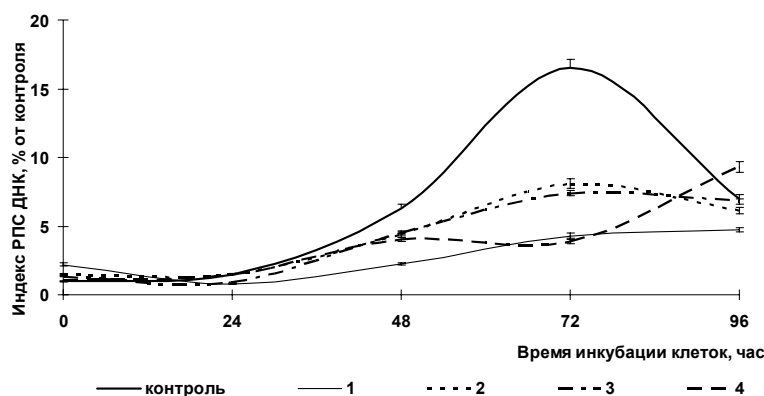


Рисунок 2 – Кинетика РПС ДНК после облучения дозами 1-4 Гр

Изучение кинетики данного процесса показало, что при дозах 2-3 Гр отмечается временная зависимость увеличения уровня РПС ДНК (1,5→4,4 →8,1→6,1% при 2 Гр), (0,91→4,5→7,4→6,8 % при 3 Гр). Доза 1 Гр показала низкую активацию РПС ДНК (0,8→2,23→4,3→4,73% при 1 Гр). Некоторое снижение индекса репликативного синтеза ДНК к четвертым суткам культивирования облученных клеток, вероятно связано с цикличностью данного процесса, наблюдаемого также и в необлученных (контрольных) клетках (1,5→6,3→16,3→7%). Иная картина отмечена при воздействии дозы 4 Гр, так если в первые сутки синтез не превышает уровня G_0 фазы, то в дальнейшем происходит стабилизация синтеза ДНК, однако к концу срока культивирования клеток определен высокий всплеск данного показателя (1,5→4,0→3,9→9,3 %).

Как следует из рисунка 2, пик деления культивированных клеток отмечен на 72 часу, сравнение полученных результатов и контрольного показателя, который принять за 100%, позволяет определить количество клеток участвующих в процессе репликации. Так, при дозах 2-3 Гр в делении участвует 49,7% и 41,7% клеток, тогда как доза 1 Гр снижает уровень делящихся клеток, который составил 26,4%. Если в случае предоблучения дозой 1 Гр можно говорить о стимулирующем действии, то снижение числа клеток до 32,9% при дозе 4 Гр свидетельствует о сбое как генетической программы так и клеточного цикла, чему соответствует смещение пика деления к 96 часу.

Проведенное Пелевиной И.И. и др. [6] исследование динамики нарушения и восстановления синтеза ДНК в клетках линии LL, облученных дозой 6 Гр, показало, что в первое время после облучения, вплоть до 2 часов, происходит прогрессивное уменьшение скорости синтеза ДНК. В дальнейшем способность клеток синтезировать ДНК повышается и через 4-5 часов скорость синтеза достигает контрольного уровня [6]. Эту зависимость авторы объясняют следующим образом. Сразу после облучения в клетках возникают одиночные разрывы ДНК, вызывающие релаксацию суперспирализованной ДНК, в результате чего из процесса синтеза выключаются отдельные кластеры репликонов. Образование разрывов в процессе эксцизии поврежденных оснований ДНК растянуто во времени. Поэтому ингибирование синтеза ДНК в некоторых кластерах также может быть отсрочено во времени после облучения. Одновременно идет и процесс восстановления суперспирализованной структуры ДНК, который завершается к 4-5 часам после облучения.

Методом ДНК-фиброавтордиографии проведено исследование репликации ДНК в клетках здоровых доноров и пациента с атаксией-телеангиэктазией (АТ) [7]. Продемонстрирован новый факт, что в АТ-клетках снижено число одновременно функционирующих кластеров репликонов и уменьшена степень тандемной сгруппированности таких кластеров по сравнению с таковыми в клетках здоровых доноров. Показано также, что облучение в дозе 5 Гр не влияет на частоту активации кластеров репликонов в АТ-клетках. В клетках же здоровых доноров частота активации после облучения снижается, так что они становятся сходными по этому признаку с клетками АТ. Эти данные обсуждаются в связи с представлениями о радиорезистентности синтеза ДНК.

В нашем исследовании различия в РПС ДНК выявлены на более поздних сроках облучения до 96 часов культивирования предоблученных клеток крови человека.

Таким образом, в клетках после облучения высокими дозами ионизирующей радиации особенности функционирования репликативного синтеза ДНК зависят, как от дозы воздействия, так и от сроков постоблученного культивирования клеток крови человека. Индукция и сохранение определенной части нерепарированных повреждений, индуцированных возрастающими дозами радиации, вероятно, создают предпосылки для формирования в последующей нестабильности генома.

Литература

- 1 Мазурик В.К., Михайлов В.Ф. Радиационно-индуцируемая нестабильность генома: феномен, молекулярные механизмы, патогенетическое значение // *Радиационная биология. Радиоэкология.* - 2001. - № 3. - С. 272-289.
- 2 Baverstock K. Radiation-induced genomic instability: a paradigm-breaking phenomenon and its relevance to environmentally induced cancer // *Mutat. Res.* -2000. -V.454.- N1-2. -P.89-109
- 3 Газиев А.И. Повреждения ДНК в клетках под действием ионизирующей радиации// *Радиационная биология. Радиоэкология.* -1999. -Т.39. -№6. -С.630-638.
- 4 Weiss RS, Leder P, Vaziri C. Critical role for mouse *Hus1* in an S-phase DNA damage cell cycle checkpoint. *Mol Cell Biol.* 2003 V.3(3).P. 791-803.
- 5 Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ. ВОЗ. Женева. 1989. С. 53-62
- 6 Выживаемость облученных клеток млекопитающих и репарация ДНК. Энергоатомиздат. 1985. 120 с.
- 7 Баренфельд Л. С., Нергадзе С. Г., Плескач Н.М., Михельсон В.М О механизме радиорезистентного синтеза ДНК при атаксии-телеангиэктазии // *Цитология* . 1997. Т. 39. Вып.1.С. 20-24

Тұжырым

Адам қан клеткаларын радиацияның 1-4 Гр мөлшерінде әсер етіп 96 сағат бойы дақылданған соң ДНК-н синтезінің репликативтік өзгерісін зерттелді. 1-3 Гр мөлшеріндегі радиация әсері клетка бөліну мерзімінен өткен соң өзгерістер тудырмағандығы, ал радиацияның 4 Гр мөлшеріндегі әсері РПС төмендетіндігі анықталды, бірақ клеткалардың бөлінуінің шегі 96 сағат шамасында байқалды.

Summary

It was studied the DNA replicative synthesis changes of human cells during 96 hours of cultivation after γ -ray treated. It is defined, that the cell cycle is not changed by influence of 1-3 Gr radiation dose, and dose 4 Gr decreases replicative synthesis but peak of cell division is observed on 96 hours of growth of cell suspension.

Турилова В.И.

ДИНАМИКА СТРУКТУРЫ КАРИОТИПА КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ИХ ДЛИТЕЛЬНОГО СУЩЕСТВОВАНИЯ *in vitro*

(Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург, Россия)

Множественная миелома (ММ) – одно из наиболее распространенных злокачественных новообразований кроветворной системы человека [1], которое развивается в течение длительного времени и сопровождается значительной перестройкой кариотипа клеток больного [2]. В настоящее время не представляется возможным исследовать динамику кариотипа клеток и различных молекулярных аспектов этого заболевания *in vivo*. Поэтому в качестве адекватных моделей широко используются клеточные линии ММ, полученные из опухолевого материала [3, 4]. Известно, однако, что в процессе длительного существования *in vitro* клетки ММ претерпевают существенные изменения кариотипа и генома в целом. В связи с этим вопросы характера и направленности динамического развития таких систем, взаимосвязи их кариотипической эволюции со специфическими механизмами онкогенеза данного типа опухолей становятся чрезвычайно актуальными. Целью настоящей работы было исследование кариотипической изменчивости длительно (в течение 30 — 40 лет) существующих в культуре клеточных линий ММ человека.

Материал и методика

В работе использовали клеточные линии RPMI 8226 [5], U-266 [6], L363 [7] и Karpas 707 [8]. Клетки RPMI 8226 получены из Российской коллекции клеточных культур (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). Клетки L-363, Karpas 707 и U-266 любезно предоставлены профессором К. Нильссоном (Университет г. Упсала, Швеция). Клетки культивировали в среде RPMI 1640 (Биолот, Россия) с добавлением 10 % эмбриональной бычьей сыворотки (Gibco, США), без антибиотиков. Препараты метафазных хромосом приготавливали по стандартной методике [9].

Рутинное окрашивание хромосом проводили в 1 %-ном растворе красителя Гимза (Merck, США) приготовленном на фосфатном буфере, pH 6.8 в течение 5 мин. Дифференциальное окрашивание метафазных хромосом на G-диски выполняли модифицированным методом [10].

Модальное число хромосом выявляли при подсчете хромосом в 100 рутинно окрашенных метафазных пластинках. Долю полиплоидных клеток в популяции определяли среди 1000 метафазных пластинок без точного подсчета числа хромосом. Для получения количественных характеристик кариотипов использовали 3–4 препарата метафазных хромосом клеток каждой линии.

Анализ структуры кариотипа и кариотипической изменчивости проводили среди 100 (клетки L 363) и 50 (клетки Karpas 707 RPMI 8226 U-266) окрашенных на G-диски метафазных пластинок. Препараты анализировали под световым микроскопом Axiophot (Opton, Германия), об.100 \times . Метафазные пластинки, окрашенные на G-диски, фотографировали на пленку «Микрат-изопан». Идентификацию нормальных и перестроенных хромосом проводили по микрофотографиям.

Определение доли численно и структурно перестроенных хромосом осуществляли следующим образом. В каждой клеточной линии подсчитывали количество численно и структурно измененных хромосом по сравнению с нормальным диплоидным кариотипом человека. Это количество относили к числу хромосом в кариотипе данной клетки и получали соответствующую долю. В результате подсчета этого показателя во всех проанализированных метафазных пластинках каждой линии получали его среднее значение.

Представление, а также описание кариотипов и структуры перестроенных хромосом выполнено в соответствии с Международной номенклатурой хромосом человека (ISCN 2005).

Результаты и их обсуждение

Количественные характеристики кариотипов. Клетки всех исследованных линий характеризовались стабильным, четко выраженным модальным числом хромосом (Таблица).

Таблица - Количественные характеристики кариотипов клеток линий Karpas 707, L363, RPMI 8226 и U-266.

Линия клеток	Модальное число хромосом*	Пределы изменчивости по числу хромосом	Доля полиплоидных клеток, %
L363	47 (92 %)	45 — 48	4.8
Karpas 707	45 (89 %)	43 — 46	7.8
RPMI 8226	67 (73 %)	65 — 68	8.2
U-266	44 (83 %)	43 — 45	21.4

* – В скобках указана доля клеток с модальным числом хромосом

Анализ структуры кариотипов. Кариотипическая изменчивость.

Клеточная линия L363. Анализ окрашенных на G – диски метафазных хромосом в 100 клетках с модальным числом хромосом 47 (преобладающая часть популяции) выявил две субпопуляции, условно обозначенные А и В, кариотипы которых отличались по характеру перестройки одного из гомологов хромосомы 14 (рисунок 1, 2). В кариотипе клеток той и другой субпопуляции структурно перестроенная хромосома 14 (add(14)(q24~q31)) содержала на длинном плече дополнительный материал, размер которого в клетках одной из субпопуляций больше (14q+, субпопуляция А), чем в другой (субпопуляция В).

Перестройки хромосом, обнаруженные в основных структурных вариантах кариотипа клеток L363 представляли собой, главным образом, несбалансированные транслокации, делеции и экстракопирование отдельных хромосом и хромосомных районов. Были выявлены численные изменения хромосом X (-X), 7(+add(7)), 8 (+der(8)) и структурные перестройки хромосом 1, 3, 5, 6, 7, 8, 12, 14, 15, 17, 20 и 22. Следует отметить трисомию по длинным плечам хромосом 1, 5, 7, 8 и моносомию по длинному плечу хромосомы 6. Доли численно и структурно перестроенных хромосом

в кариотипах которые подсчитывали отдельно для клеток двух субпопуляций различались и составляли 42.40 ± 0.23 % (субпопуляция А) и 40.54 ± 0.06 % (субпопуляция В) (t-критерий Стьюдента, $P < 0.001$).

Популяция клеток L363 характеризовалась определенной кариотипической изменчивостью. Клетки субпопуляции В достаточно однородны по структуре кариотипа (составу нормальных и структурно перестроенных хромосом) (рисунок 2). Наряду с основным структурным вариантом кариотипа (СВК) (90.70 % клеток) был выявлен один дополнительный СВК (9.30 % клеток), в котором обнаружили трисомию по хромосоме 16 ($2n=48$). Напротив, в клетках субпопуляции А кроме основного СВК (52.63 % клеток, рис.1) выявили ряд дополнительных СВК, представленных в разных соотношениях. Эти дополнительные варианты отличались, как правило, структурной перестройкой одной из хромосом кариотипа. При этом наблюдали только одну клетку с неклональной (редкой) структурной перестройкой хромосом.

Клеточная линия Каграс 707. Перестройки хромосом, обнаруженные в кариотипе клеток Каграс 707, также как в клетках L363 включали несбалансированные транслокации, делеции и экстракопирование отдельных хромосом. В кариотипе клеток Каграс 707 выявили численные изменения хромосом Y(-Y), 12(-12), 13(-13), 16(-16), 17(-17) и 21(+add(21)). Хромосомы X, 4, 5, 6, 11, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 21 и 22 вовлекались в структурные перестройки. Происхождение трех хромосом (mar1, mar2, mar3) установить не удалось (рис. 3). Доля численно и структурно перестроенных хромосом в кариотипе составляла 50.98 ± 0.24 %.

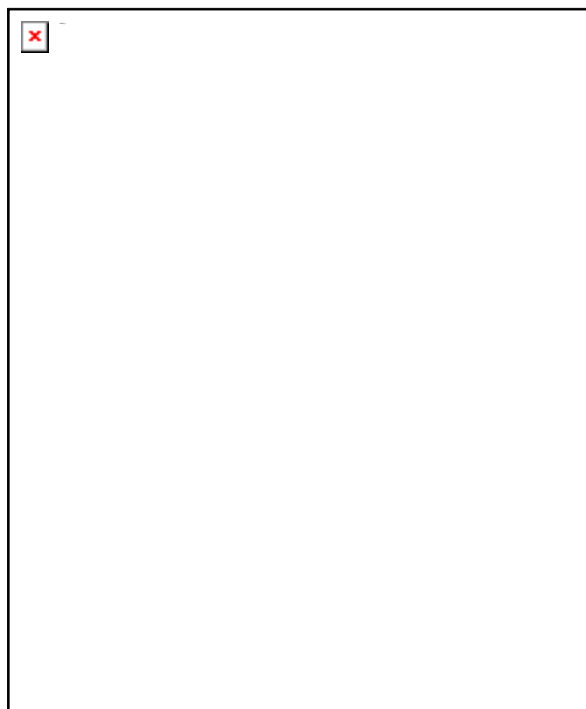


Рисунок 1 - Основной структурный вариант кариотипа клеток линии L363, субпопуляция А

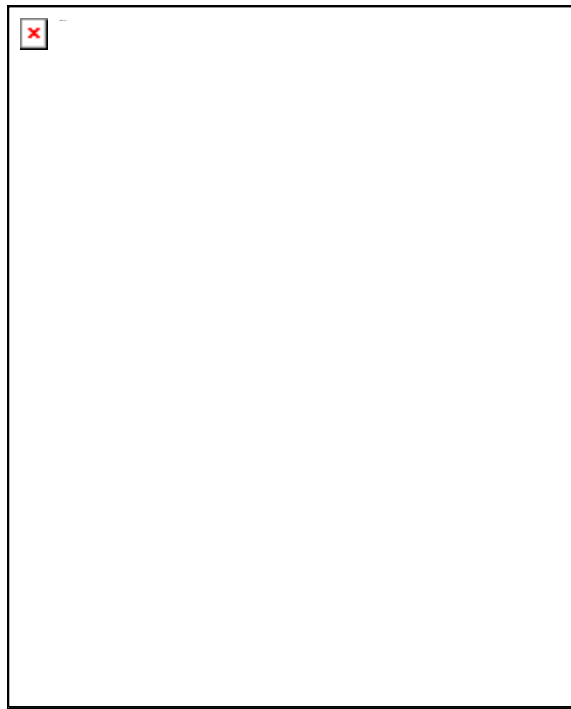


Рисунок 2 - Основной структурный вариант кариотипа клеток линии L363, субпопуляция В

47,X,-X,add(1)(?::p36.3→qter),add(3)(pter→q21::?),
 add(5)(pter→q11.2::?),add(6)(pter→q11::?),+add(7)(?::p13→qter),
 der(8)(8pter→8q24.??5q1?2→5qter)×2,+der(8)(1qter→1q12::8p11.2→8qter),
 del(12)(pter→p12::p11.2→qter),add(12)(?::p11.1→qter),
 add(14)(pter→q24~31::?),add(15)(pter→q22::?),der(17)(?::17p11.2→17q21::?),
 del(20)(pter→p11.2::p11.2→qter), add(20)(pter→q11.2::?),
 add(22)(pter→q11.2::?).

В отличие от клеток L 363, популяция клеток Каграс 707 имела иную кариотипическую структуру. В ней выявлено два СВК, которые отличались перестройкой хромосомы 19. Один СВК (36 % клеток) содержал два нормальных гомолога хромосомы 19. В другом, основном СВК (64 % клеток)

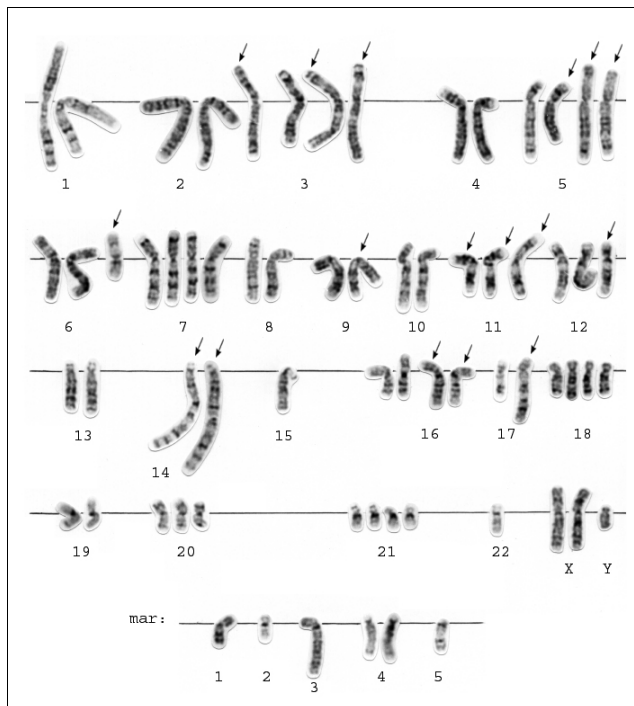
присутствовали нормальная хромосома 19 и аномальная хромосома add(19)(q13.3). При этом в клеточной популяции Каграс 707 обнаружили 30% клеток с неклональными перестройками хромосом, появление которых не было связано с каким-либо из СВК.

Клеточная линия RPMI 8226. В кариотипе клеток RPMI 8226 были обнаружены преимущественно несбалансированные транслокации (рис.4). Относительно численных изменений хромосом следует отметить те хромосомы и хромосомные районы, которые представлены в кариотипе числом копий большим или меньшим по отношению к уровню пloidности клеток. Так, хромосомы 7, 18, 21 и хромосомные районы 1q, частично 5q, 16p и частично 16q были представлены четырьмя копиями. Напротив, хромосомы 4, 8, 9, 10, 13, 14 и 19 присутствовали в основном в двух копиях. Хотя кариотип клеток RPMI 8226 содержал по одной нормальной копии хромосом 15 и 22, материал этих хромосом был вовлечен в структурные перестройки и в целом количественно соответствовал околотриплоидному уровню клеток.



45,der(X)(?:Xp22.1→Xq22:?:)-Y,
 add(4)(?:p12→qter),add(5)(?:p12→qter),
 add(6)(?:p21.3→qter),add(11)(pter→q14:?:),
 add(11)(pter→q14:?:),-12,-13,
 der(13)(13pter→13q12:?:13q12→13q14::13q14→13qter),
 add(15)(pter→q22:?:),-16,add(16)(pter→q12.1:?:),-
 17,der(17):(17p13→17q25:?:),
 der(18)(18pter→18q11.2:?:18q11.2→
 18q21.3:?:18q21.3→18qter),
 add(19)(pter→q13.3:?:),+add(21)(pter→q21:?:),
 add(22)(pter→q11.2:?:),+3mar.

Рисунок 3 - Основной структурный вариант кариотипа клеток линии Каграс 707.



67,XXY,-1,add(2)(pter→q33:?:),der(3)
 (3pter→3q26.3::3q25→3qer)×2,-4, add(5)(pter→q22:?:),der(5)
 (6pter→ 6p21.3:?:5p11→ 5qter),
 +der(5)(15qter→ 15q21:?:5p11→
 5qter),add(6)(pter→q13:?:),+7,-8,-9,
 add(9)(?:p13→ qter),-10,add(10)(pter→ q26:?:)×2,
 add(11)(pter→ q23::AgNOR)×2,der(11;17)(17qter→
 17q10::11q10→11qter),
 add(12)(pter→ q24.1:?:),-13,-14,der(14)(14pter→
 14q32::1p13~q12→ 1qter)×2, -15,-15,
 der(16)(16pter→16q23:?:22q11.2→ 22qter),
 +der(16)(16pter→16q23:?:22q11.2→ 22qter),-17,
 der(17)(17pter→17q25:?:8q22→8qter),
 +18,-19,+21,-22,-22,+mar1,+mar2,
 +mar3,+mar4:der(?) (?→?cen→?:1p32→1pter)×2,+mar5.

Рисунок 4 - Основной структурный вариант кариотипа клеток линии RPMI 8226.

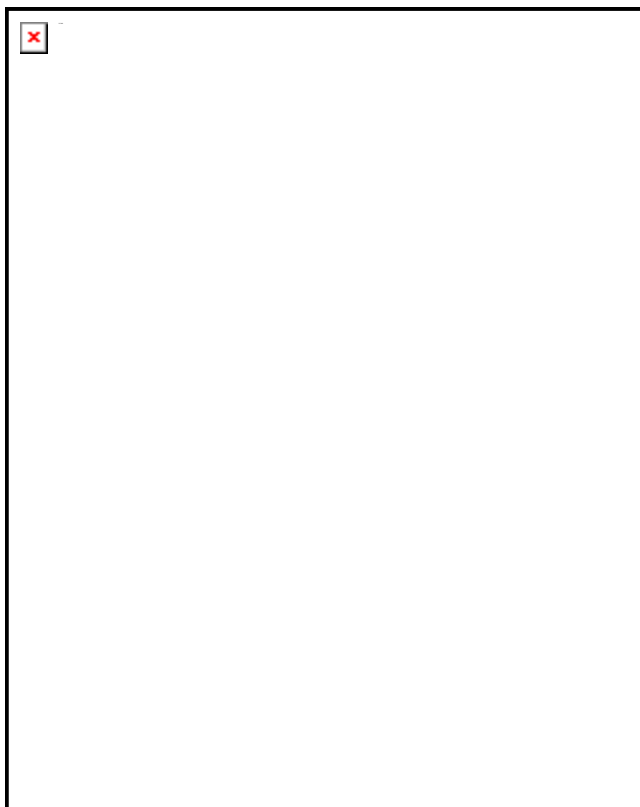
Выявлены структурные перестройки хромосом 1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17 и 22. Происхождение 5-ти хромосом (mar1 - 3, mar4 × 2, mar5) не установлено. Доля численно и структурно перестроенных хромосом в кариотипе составляла $66.68 \pm 0.27\%$. Популяция клеток RPMI 8226 характеризовалась значительной кариотипической изменчивостью. Основной СВК найден только в 42 % клеток. Остальные 58 % клеток содержали неклональные численные и структурные перестройки хромосом.

Клеточная линия U-266. Кариотип клеток U-266 содержал комплексные перестройки хромосомного материала. Хромосомы каждой пары, за исключением 2, 5, 19, 20, 21 и половых хромосом, вовлекались в клональные численные и структурные изменения. Происхождение 9-ти аномальных хромосом (mar 1-9) установить не удалось (рис. 5). Доля численно и структурно перестроенных хромосом в кариотипе составляла 77.73 ± 0.21 %.

Несмотря на множественные перестройки хромосомного материала, популяция клеток U-266 характеризовалась относительной кариотипической стабильностью. Основной СВК выявлен в 84 % клеток. Кариотипическая изменчивость обусловлена присутствием клеток с неклональными перестройками (16 % клеток).

Различные типы кариотипической структуры клеточных популяций, выявленные в настоящей работе свойственны не только клеточным линиям ММ человека. Сосуществование в популяции клеток с основным и дополнительными СВК, представленными в разных процентных соотношениях, а также клеток с неклональными перестройками было показано для клеточных линий различного опухолевого происхождения [11].

Многие авторы считают, что клональные перестройки хромосом обеспечивают пролиферативные преимущества опухолевых клеток *in vivo*, в то время как неклональные перестройки ответственны за их выживание. Полагают также, что динамические взаимоотношения между этими типами хромосомных нарушений определяют стабильность или нестабильность генома и играют ключевую роль в опухолевой прогрессии [12, 13]. По-видимому, эти же механизмы реализуются и в условиях длительного существования опухолевых клеток в культуре.



44,XY,add(1)(?:p13→qter),del(3)(pter→q26.2:),add(3)(pter→q25::?),-4,
der(4)(?:4p16::4p15.2→4p14::4p12→4q21::?),add(6)(pter→q21::?),
add(6)(pter→q13::?), add(7)(pter→q32::?)-8,
der(8)(8pter→8q24.1::?:7q31→7qter),-9,add(9)(pter→q34::?)-10,
der(10)(?:10q24→10q21::10p11.2→10qter),
der(11)(11pter→11q13::?:11q13→11q21::4q2?2→4qter),
add(12)(?:p11.1→qter),-13,-13,add(14)(pter→q13::?)-15,-15,-16,-17,-18,
add(22)(pter→q11.2::?),+9mar.
mar3: der(?10), mar5: der(?18), mar8: der(?13), mar9: der(?15).

Рисунок 5 - Основной структурный вариант кариотипа клеток линии U-266

Сопоставление данных настоящей работы с результатами цитогенетического анализа, проводившегося различными авторами на ранних этапах культивирования клеток ММ [8, 14, 15, 16], показало, что клетки трех клеточных линий остались на околодиплоидном уровне, сохранив ($2n = 45$, Karpas 707 и $2n = 44$, U-266) или незначительно уменьшив (с $2n = 49$ до $2n = 47$, L 363) модальное число хромосом. В клетках RPMI 8226 модальное число хромосом увеличилось с 39 до 67.

Сравнительный кариотипический анализ исследованных линий позволил выявить следующие группы перестроенных хромосом: 1) хромосомы, которые были вовлечены в характерные численные и структурные перестройки, выявленные на ранних этапах культивирования клеток и сохранившие специфику этих перестроек в ходе длительного культивирования; 2) хромосомы, которые были перестроены ранее и продолжали подвергаться изменениям *in vitro*; 3) хромосомы, которые подвергались клональным и неклональным перестройкам исключительно в условиях *in vitro*. Существенно отметить, что среди хромосом последней группы в перестройки нередко вовлекались нормальные гомологи или копии тех хромосом, которые уже были аномальными.

При анализе использованных в работе клеточных линий ММ человека нам не удалось выявить общих для этих линий хромосом и/или хромосомных локусов, участвующих в перестройках кариотипа, характерных для условий существования клеток в культуре. Вместе с тем, наблюдаемые в каждой клеточной линии структурные перестройки хромосом отмечались в различных случаях ММ человека на поздних этапах прогрессии опухолей [17]. Известно, что отличительным признаком кариотипа опухолевых клеток при ММ человека является комплексный характер реаранжировок хромосомного материала [18].

Таким образом, полученные данные в значительной степени свидетельствуют об однонаправленном характере кариотипической изменчивости клеток данного типа опухоли *in vivo* и *in vitro*.

Литература

- 1 Kyle R. A., Rajkumar S.V. 2008. Multiple myeloma. *Blood*. 111 : 2962—2972.
- 2 Fonseca R., Barlogie B., Bataille R., Bastard C., Bergsagel P. L., Chesi M., Davies F. E., Drach J., Greipp P. R., Kirsch I. R., Kuehl W. M., Hernandez J. M., Minvielle S., Pilarski L. M., Shaughnessy J. D. Jr., Stewart A. K., Avet-Loiseau H. 2004. *Genetics and cytogenetics of multiple myeloma: a workshop report. Cancer Res.* 64 : 1546—1558.
- 3 Drexler H. G., Matsuo Y. 2000. Malignant hematopoietic cell lines: *in vitro* models for the study of multiple myeloma and plasma cell leukemia. *Leuk Res.* 24 : 681—703.
- 4 Bergsagel P. L., Kuehl W., M. 2001. Chromosome translocations in multiple myeloma. - *Oncogene*. 20 : 5611—56 22.
- 5 Matsuoka Y., Moore G.E., Yagi Y., Pressman D. 1967. Production of free light chain of immunoglobulin by a hematopoietic cell line derived from a patient with multiple myeloma. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 125 : 1246—1250.
- 6 Nilsson K. 1971. Characteristics of established myeloma and lymphoblastoid cell lines derived from an E myeloma patient: a comparative study. *Int. J. Cancer.* 7 : 380—396.
- 7 Diehl V., Schaadt M., Kirchner H., Hellriegel K.P. Gudat F., Fonatsch C., Laskewitz E., Guggenheim R. 1978. Long-term cultivation of plasma cell leukemia cells and autologous lymphoblasts (LCL) *in vitro*: a comparative study. *Blut.* 36 (6) : 331—338.
- 8 Karpas A., Fischer P., Swirsky D. 1982. Human myeloma cell line carrying a Philadelphia chromosome. *Science.* 216 : 997—999.
- 9 Мамаева С. Е. 1988. Хромосомный анализ культивируемых клеток. В сб.: *Методы культивирования клеток.* Л., Наука. 78—98.
- 10 Seabright M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet.* 2 : 971—972.
- 11 Савельева Л.Г. 1988. Кариотипическая характеристика постоянных клеточных линий различного гистогенеза: Автореф. канд. дис. Л. 23 с.
- 12 Heng H.H, Liu G, Bremer S, Ye K. J, Stevens J, Ye C. J. 2006. Clonal and non-clonal chromosome aberrations and genome variation and aberration. *Genome.* 49 : 195—204.
- 13 Ye C.J, Liu G., Bremer S.W., Heng H.H. 2007. The dynamics of cancer chromosomes and genomes. *Cytogenet Genome Res.* 118(2-4): 237—246.
- 14 Moore G. E, Kitamura H. 1968. Cell line derived from patient with myeloma. *N Y State J Med.* 68 : 2054—2060.

15 Nilsson K., Bennich H., Johansson S.G.O., Ponten J. 1970. Established immunoglobulin producing myeloma (IgE) and lymphoblastoid (IgG) cell lines from an IgE myeloma patient. *Clin. Exp. Immunol.* 7: 477—489.

16 Diehl V., Schaadt M., Kirchner H., Hellriegel K.P. Gudat F., Fonatsch C., Laskewitz E., Guggenheim R. 1978. Long-term cultivation of plasma cell leukemia cells and autologous lymphoblasts (LCL) in vitro: a comparative study. *Blut.* 36 (6) : 331—338.

17 Gutiérrez N. C., García J. L., Hernández J. M., Lumbreras E., Castellanos M., Rasillo A., Mateo G., Hernández J. M., Pérez S., Orfao A., San Miguel J. F. 2004. Prognostic and biologic significance of chromosomal imbalances assessed by comparative genomic hybridization in multiple myeloma. *Blood.* 104 : 2661—2666.

18 Kuehl W. M. , Bergsagel P. L. 2002. Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions. *Nat Rev Cancer.* 2 : 175—187]

ГИСТОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 612.42:616.379.

Абрешов С.Н., Ахметбаева Н.А.
АДРЕНЕРГИЧЕСКАЯ ИННЕРВАЦИЯ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ КОНЕЧНОСТИ
У КРЫС В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ
 (Институт физиологии человека и животных)

В данной статье показано, что при условиях невесомости у крыс в стенке сосудов передней и задней конечности отмечается снижение плотности адренергического нервного сплетения, и слабое свечение сохранившихся нервных волокон и варикозных расширений.

В наземных условиях физиологические эффекты невесомости на организм изучаются в модельных опытах, в частности, используется антиортостатическое положение тела в пространстве [1, 2]. При антиортостатическом положении тела в пространстве при изменении силы тяжести в организме происходит перемещение большого количества крови из вен ног нижней части тела в сторону грудной клетки и в бассейн наружной яремной вены. Приток крови и тканевой жидкости в верхнюю часть тела приводит к повышению давления интерстициальной жидкости, к отекам тканей лица и в области шеи, иногда даже к носовым кровотечениям [3, 4, 5, 6]. Одним из экстремальным фактором является влияние длительного воздействия постоянного магнитного поля высокой напряженности на организм. В таких условиях исследователями отмечено активность адренергической и холинергической системы организма [7]. Было отмечено, что на 30-ые сутки облучения животных содержание адреналина и норадреналина в крови превышает уровень контроля, что, по мнению авторов, свидетельствовала, о повышении активности гормонального и медиаторного звеньев симпатико-адреналовой системы [7].

Поскольку в литературе отсутствуют сведения об адренергической иннервации кровеносных сосудов конечности при условиях изменения вектора гравитации, нами предпринято настоящее исследование.

Материалы и методы

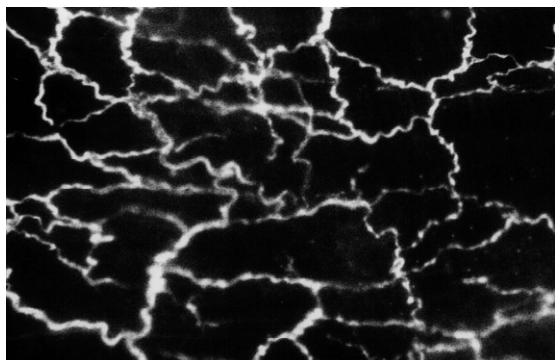
Эксперименты проводили на половозрелых белых лабораторных крысах (самцах массы тела 220-270гр). Первая группа животных – контроль (8 крыс), 2-я группа – опытная (12 крыс). Для моделирования микрогравитации использовалась установка, где крысы были подвешены на стендах вниз головой под углом $45^{\circ} \pm 5^{\circ}$ сроком на 14 суток, таким образом, чтобы полностью снять весовую нагрузку с задних конечностей. С помощью передней конечности животные свободно передвигались по решетчатому полу стенда [8]. Обе группы крысы содержались в обычных условиях вивария, на стандартном рационе со свободным доступом к пище и воде.

У крыс, декапитированных под эфирным наркозом, для исследования адренергической иннервации брали вену и артерию передней и задней конечностей. Для изучения адренергической иннервации сосудов использовали гистохимический метод Фалька в модификации В.А.Говырина с использованием глиоксалевого кислоты и флуоресцентного микроскопа ЛЮМАМ [9, 10]. На тотальных препаратах сосудов изучали архитектуру нервного сплетения. Для выявления области локализации адренергических нервных волокон в стенке сосудов готовились криостатные срезы толщиной 20 мкм. Всего было обследовано свыше 200 тотальных и криостатных срезов.

Результаты и их обсуждение

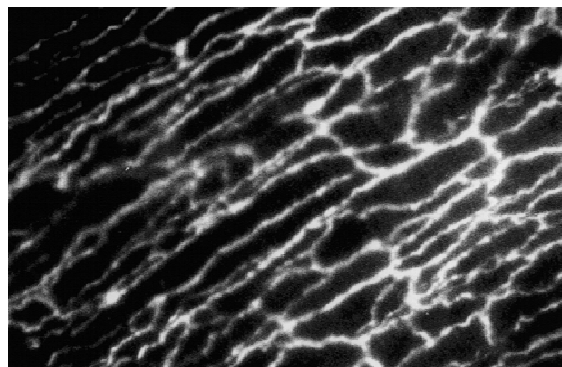
Адренергическая иннервация стенки вены и артерии передней и задней конечностей у интактной крысы был представлен развитой сетью яркофлуоресцирующих нервных волокон состоящих многочисленными регулярно расположенными варикозными расширениями. Сравнение адренергической иннервации вены и одноименной артерии передней и задней конечностей интактной крысы выявило следующие особенности: в стенке артерии плотность нервных волокон выше, более сложная архитектура нервного сплетения. В многочисленных петлях нервных сплетений в стенке артерий можно видеть отдельные конечные терминалы, которые дают сами несколько разветвлений, таким образом увеличивается плотность нервного сплетения (рисунок 1). В стенке венозного сосуда нервные волокна образуют крупные петли и нервное редкое разветвление. Терминальная нервных волокон, несколько разветвляясь, образуют концевые терминалы с варикозными утолщениями (рисунок 2).

В препаратах артерии и вены передней конечности крысы, длительно находившегося в антиортостатическом состоянии, отмечается снижение плотности нервного сплетения, вследствие исчезновения терминальных нервных волокон. Снижается свечение сохранившихся нервных структур, то есть нервных волокон и их варикозных утолщений.



Об. 30 ок. РК 6,3 х

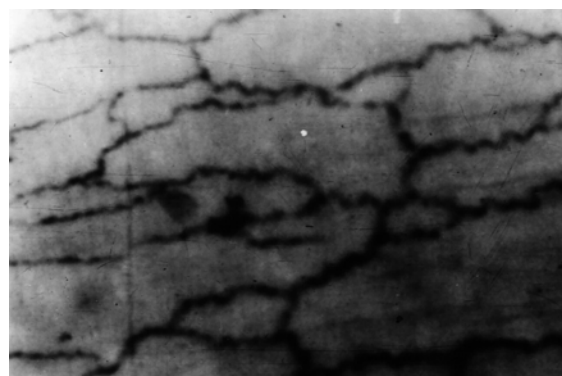
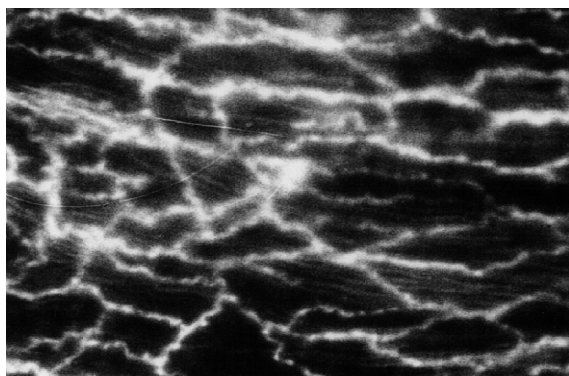
Рисунок – 1 Гистохимическая реакция на катехоламины. Адренергическая иннервация артерии передней конечности интактной крысы.



Об. 30 ок. РК 6,3 х

Рисунок 2 – Адренергическое нервное сплетения в стенке вены передней конечности интактной крысы

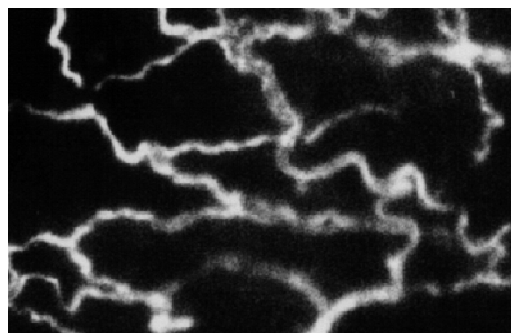
В стенке кровеносных сосудов, передней конечности наблюдали разрыхленность соединительнотканного каркаса (рисунок 3, 4).



Об. 30 ок. РК 6,3 х

Рисунок 3 – Адренергическое нервное сплетение в стенке артерии передней конечности крысы при антиортостатическом воздействии

Бедренная артерия и вена у интактных крыс имеют разную плотность и архитектуру нервного сплетения. При антиортостаза в стенке как артериального, так венозного сосуда наблюдается выброс катехоламинов и снижение свечения нервного волокна.



Об. 30 ок. РК 6,3 х

Рисунок 4 – Адренергическая иннервация стенки вены передней конечности крысы при антиортостатическом воздействии

Выявленные структурные изменения в стенке венозных сосудов возможно направлены на повышение емкостной функции и уменьшение их моторной функции. С диффузией катехоламинов из варикозных утолщений в окружающую соединительную ткань снижается дистантное действие катехоламинов на гладкомышечные клетки сосудистой стенки.

Таким образом, при длительном антиортостазе у крыс наблюдались структурные нарушения адренергической иннервации артерии и вены конечностей.

Литература

- 1 Ильин Е.А., Капланский А.С. Сравнительный анализ изменений, развивающихся у крыс в невесомости и при вывешивании в антиортостатическом положении // *Авиакосм. и эколог. мед.* - 1998. - Т. 32, - №6. - С. 43-50.
- 2 Gurfinkel V.S., Levik Y.S. The current problems of postural control // *Abstract. XXXIII Internat. Congr. of Physiol. Sciences: -St.Petersburg, -1997. -№ 1 078.08.*
- 3 Григорьев А.И., Гуровский Н.Н., Егоров А.Д. Основные механизмы невесомости // в кн. *Космическая биология и медицина.* - М., - 1987. - С.49-59.
- 4 Максименко Ю.А., Писаренко В.Н., Чапоров В.Н. Реакции системного и периферического кровообращения при анти- и ортостатических воздействиях // *Матер. научн. конф. студентов и асп-тов.* – Тверь, 2000. - С. 6-8.
- 5 Чирков А.М. Адаптивные возможности организма в условиях невесомости // *Проблемы экспериментальной физиологии.* - Киев, 1993. - С. 98-102.
- 6 Succi R.R., Wang M., Thierry-Palmer M. Cardiovascular responses to stimulated microgravity in spague dawley rats // *Clin. and Experimental Hypertension.* - 2000. - V. 22. - № 2. - P. 155-164.
- 7 Климовская Л.Д., Маслова А.Ф. 1982.
- 8 Ильин Е.А., Новиков В.Е. Стенд для моделирования физиологических эффектов невесомости в лабораторных экспериментах с крысами // *Космическая биология и авиакосмич. мед.* - 1988, - Т.14, - № 3. – С.79-81.
- 9 Falck B. Axelsson S., Bjorklund A., Lindvall O., Svensson Z. Glyoxylic acid condensation: a new fluorescence method for the histochemical demonstratin of biogenic monoamines // *Acta physiol. Scand.* 1973, -V.87. – P. 57-62.
- 10 Говырин В.А. Адаптационно-трофическая функция сосудистых нервов // *Развитие научного наследия акад. Л.А.Орбели.* Л.: Наука, - 1982, - С. 169-181.

Тұжырым

Қалыты жағдайдағы жануарларда адренергиялық жүйкелену жақсы байқалады. Микрогравитация жағдайында қан тамырлар жүйесінің жүйкеленуі төмендейтіндігі, сонымен бірге тамырлар қабырғасын қосатын дәнекер ұлпалардың босансуы байқалады.

Summary

Influence of microgravity influence is studied on adrenergic innervation of bloods vessels. Separate nervous fibres bedding in fabric of vessel regardless of of circulatory the microvessel form an nearfollicles a adrenergic nervous ring innervations follicles of vessel.

УДК 591.521.1.

Есимситова З.Б., Нуртазин С.Т., Синявский Ю.А., Манкибаева С.А.
**ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЖЕЛУДКА КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ
ГАММА - ОБЛУЧЕНИЯ И СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ**
(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Состояние здоровья и продолжительность жизни во многом определяются характером экологической среды и качеством питания. В статье приведены результаты исследования морфологического анализа желудка крыс при действии гамма - облучения в дозе 6 грей с использованием БАД. Биологически активные добавки к пище являются уникальной группой средств, которые предназначены для применения как здоровыми, так и больными людьми.

В настоящее время недостаточно разработаны и внедрены специализированные продукты и биологически активные добавки с направленными медико-биологическими свойствами, повышающие антиоксидантный, иммунный, детоксицирующий и радиопротекторный статусы организма космонавтов, отсутствуют специализированные продукты с полифункциональными свойствами. Проблема адаптации организма к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды, включая морфофункциональные изменения, остается по-прежнему одной из актуальных проблем современной биологии и медицины [1-4].

Таким образом, анализ патентной и научно-технической литературы свидетельствует о перспективности и актуальности избранной тематики и необходимости дальнейших работ в данном направлении.

Материалы и методы

Для выявления адаптационных возможностей крыс, получившие гамма облучение, в дозе 6 грей с использованием биологически активных добавок: радиопротекторного и детоксицирующего спецпродуктов было проведено экспериментальное исследование на 40-ти опытных половозрелых крысах – самцов линии Вистар, трёхмесячного возраста с исходной массой тела 280-300 грамм. Объектом гистологического исследования являлись основные популяции клеток желудка.

Весь эксперимент проводился в течение 30 дней, все животные были разделены на 4 группы по 10 крыс в каждой:

1 группа животных контрольная;

2 группа животных без биологически активных добавок, которые за день до забоя, получили гамма- облучение в дозе 6 грей;

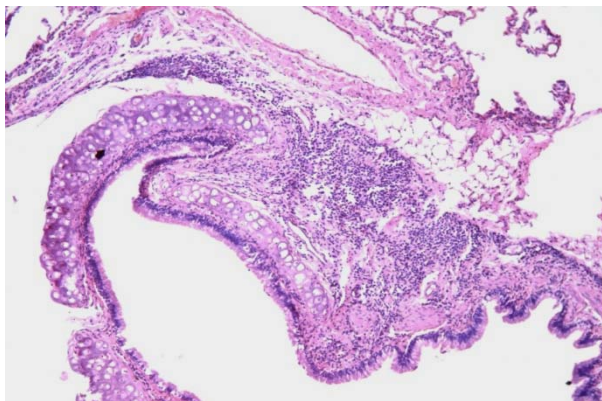
3 группу животных кормили радиопротекторным спецпродуктом в течение месяца, затем за день до забоя эти крысы получили гамма облучение в дозе 6 грей;

4 группу животных кормили детоксицирующим спецпродуктом в течение месяца, затем за день до забоя эти крысы получили гамма облучение в дозе 6 грей;

Воду экспериментальные животные получали неограниченно. Для гистологического исследования применялись общепринятые методики приготовления тонких срезов (Волкова 1982). Морфологическое описание и фотографии делали с помощью микроскопа МБИ-15.

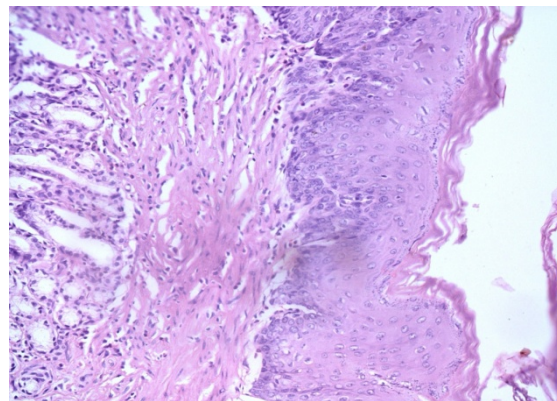
Результаты и их обсуждение

Результаты гистологического исследования экспериментальных животных первой контрольной группы показало, что слизистая оболочка желудка имеет неровные контуры. Выстилающий слизистую оболочку эпителий однослойный цилиндрический, железистый. В базальной части, поверхностных эпителиоцитов располагается ядро, в апикальной части находятся капли мукоидного секрета. Мышечная оболочка представлена тремя слоями переплетающихся гладкомышечных волокон, которые располагаются продольно, в косом направлении. Гистоструктура желудка крыс первой контрольной группы представлена на рисунке 1.



Полутонкий срез. Окраска гематоксилин - эозин.
Ув.х 210.

Рисунок 1 - Гистологическое строение желудка крыс в норме



Полутонкий срез. Окраска гематоксилин – эозин.
Ув.х 210.

Рисунок 2 - Гистологическое строение желудка крыс в эксперименте. Отек слизистой и мышечной оболочек.

Результаты гистологического исследования органов экспериментальных животных второй группы, которые подвергались гамма облучению без употребления биологически активных добавок видно, что в желудке – структура строения не сохранена, клеточный состав эпителия неоднороден, ядра расположены ближе к базальному полюсу, в цитоплазме клеток органов обнаружены деструктивных изменения. Отмечается выраженный отек слизистой оболочки желудка.

Результаты гистологического исследования органов экспериментальных животных третьей группы, которые подвергались облучению и получали радиопротекторный спецпродукт видно, что в желудке структура строения сохранена. Отмечается, небольшой отек слизистой оболочки. В отдельных клетках покровного эпителия появляются мелкие вакуоли, заполненные цитоплазматической жидкостью.

Результаты гистологического исследования органов экспериментальных животных четвертой группы, которые подвергались облучению и получали детоксицирующий спецпродукт, наблюдается выраженный отек слизистой и мышечной оболочек, множество ямочек-выходных, отверстий простых, трубчатых желез желудка, занимающих практически всю толщу собственного соединительно-тканного слоя слизистой поверхности и железистого эпителия цитоплазмы. Гистоструктура желудка крыс четвертой группы, которые подвергались, гамма облучению с использованием детоксицирующего спецпродукта представлена на рисунке 2.

В результате проведения комплексного макро- и микроскопического исследования внутренних органов крыс, которые подвергались облучению, без употребления БАД видны следующие результаты: в желудке очаговый отёк эпителиальных клеток, утолщение межальвеолярных перегородок, сопровождающееся десквамацией эпителия и полнокровием сосудов. Падёжа не обнаружено, состояние удовлетворительное. Вес в норме без изменений. Крысы третьей и четвертой группы не вызывали тяжёлых патологических и физиологических отклонений. Морфологический анализ показал лишь незначительные изменения. Таким образом, облучение крыс приводит к нарушению плазморрагии с последующей дистрофией и клеточной реакцией. Применение биологически активных добавок способствовало уменьшению нарушений дистрофических процессов.

Литература

- 1 Добровольский В.Ф. Питание космонавтов // В.Ф. Добровольский. – Москва, 2000. – 143с.
- 2 Патогенное действие факторов внешней среды // Н. Н. Зайко [и др.] – "Логос", 1996.
- 3 Rabin, B.M. *Effects of age and diet on the heavy particle-induced disruptions of operant responding produced by a ground-based model for exposure to cosmic rays* / B.M. Rabin, J.A. Joseph, Hale, B. Shukitt // *Brain Research*. – 1036(2005). – P.122–129.
- 4 Лебедев, В. И. *Личность в экстремальных условиях* // В. И. Лебедев. – М.: Политиздат, 1989.

Тұжырым

Денсаулықтың жағдайы және өмір сүру ұзақтығы көптеген экологиялық ортаның күйіне және қоректену сапасына байланысты. Мақалада ББҚ қолданылуымен мөлшері 6 грейге тең гамма сәулесінің әсеріне ұшыраған егеуқұйрық асқазанының морфологиялық анализінің зерттеу нәтижесі көрсетілген. Биологиялық белсенді қосындылар дені сау, сонымен қатар науқас адамдарға арналған, азықта өте сирек кездесетін топ болып саналады.

Summary

The condition of health and the lifetime in many times is formed by character of environment and quality of feeding. In this article given the results of morphological analyze of rat's stomach by effect of gamma irradiation in 6 gray doses with using of biologically active additives. The biologically active additives with food are unique group of measures, which are destine to using as healthy, so and sick peoples.

УДК 57.086.83

Супнязова Т.А., Перфильева Ю.В., Глеулиева Р.Т., Беляев Н.Н.
**РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОБОГАЩЕНИЯ ФРАКЦИИ МОНОНУКЛЕАРОВ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА CD34⁺ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИМИ
СТВОЛОВЫМИ/ПРОГЕНИТОРНЫМИ КЛЕТКАМИ (ГС/ПК)**

(Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А.Айтхожина)

Работа посвящена разработке метода увеличения выхода CD34⁺ клеток во фракции мононуклеаров периферической крови человека. Как известно, CD34 является маркером полипотентных гемопоэтических стволовых клеток, а также ранних предшественников (прогениторов) миелоидного и лимфоидного роста кроветворения. Однако содержание их в мононуклеарной фракции периферической крови с плавучей плотностью 1,076 г/мл составляет около 0,01%, что совершенно недостаточно для использования в клеточной терапии. В данной работе с помощью проточной цитофлуориметрии нами была проведена оценка содержания CD34⁺ клеток в трех изопикнических фракциях периферической крови. Оказалось, что CD34⁺ клетки присутствуют во всех фракциях, но наибольшее их содержание отмечалось во фракции с плавучей плотностью 1,09 г/мл. Учитывая среднее содержание клеток в каждой фракции и процент CD34⁺ клеток в этих же фракциях, мы рассчитали суммарный выход CD34⁺ клеток из 1 мл периферической крови при объединении трех фракций, который составил приблизительно 6×10^3 клеток.

По современным представлениям стволовыми клетками называются клетки, не имеющие специализации, то есть способные при определенных условиях делиться и превращаться практически в любой вид взрослой ткани: в скелетные мышцы, нейроны, ткани печени и т.д.

В качестве наиболее привлекательных источников стволовых клеток взрослых для целей клеточной терапии в настоящее время рассматривают костный мозг, периферическую кровь взрослых и пуповинную кровь новорожденных.

Новейшее направление в клеточной терапии связано с использованием феномена пластичности гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), который позволяет надеяться на кардинальное решение проблемы лечения большой группы тяжелых соматических заболеваний, таких как инфаркт миокарда, цирроз печени, инсульт, мышечная дистрофия, неврологические расстройства, аутоиммунные болезни, диабет, туберкулез кожи, болезни мышечной и хрящевой ткани. Как известно, гемопоэтические стволовые клетки представляют собой мультипотентные родоначальники всех типов клеток крови, и в настоящее время накоплен большой экспериментальный материал, свидетельствующий о потенциальной пластичности ГСК, то есть их способности трансформироваться в клетки не связанные с кроветворением (кардиомиоциты, нейроны, миоциты, гепатоциты, кератиноциты).

Сущность нового подхода заключается в выделении ГСК из костного мозга, пуповинной и периферической крови, размножении их вне организма и введении полученной клеточной массы больному.

Однако существует ряд серьезных проблем технологического характера, которые в настоящее время окончательно не решены. Во-первых, из-за относительной малочисленности ГСК существуют значительные трудности их отделения от других клеток периферической крови. Во-вторых, выделенных ГСК из одной порции крови совершенно недостаточно для проведения эффективной клеточной терапии, поэтому необходимо либо проводить предварительную мобилизацию ГСК из костного мозга с помощью рекомбинантных колониестимулирующих цитокинов в тех случаях, когда это возможно, либо использовать технологию культивирования ГСК в условиях *ex vivo*.

Исходя из вышесказанного, целью данной работы явилась разработка методических приемов процессинга образца гепаринизированной периферической крови человека для получения фракции мононуклеаров, обогащенной CD34⁺ гемопоэтическими стволовыми/прогениторными клетками.

Материалы и методы

Использовали периферическую гепаринизированную кровь здоровых доноров обоего пола. От каждого донора получали по 10-15 мл крови.

Приготовление раствора для лизиса эритроцитов.

Лизирующий раствор готовили по прописи, предлагаемой [1], используя деионизированную воду, содержащую 0,037% ЭДТА, 0,802% NaCl, 0,084% NaHCO₃.

Фракционирование клеток на градиенте перкола [2].

Суспензию клеток крови, лишенных эритроцитов, разделяли с помощью изопикнического центрифугирования на многоступенчатом градиенте плотности перкола (Pharmacia, Швеция), который готовили следующим образом. В стерильную пластиковую коническую пробирку осторожно последовательно наслаивали по 1 мл раствор перкола различной плотности: 1,100; 1,090; 1,076; 1,060 г/мл. Для получения требуемой плотности перкола следовали указаниям фирмы-производителя [3]. Суспензию клеток осторожно наслаивали на градиент и центрифугировали при 1400g в течение 20 мин. После центрифугирования клетки разделялись на 5 четких фракций, включая осадок. Фракцию с плавучей плотностью 1,090 г/мл отмывали от примеси перкола при 150g в течение 10 мин средой RPMI-1640. Концентрацию клеток подсчитывали в камере Горяева и оценивали процент жизнеспособных клеток, исключая окрашенные трипановым синим клетки.

В наших экспериментах мы ориентировались на разделение клеток на многоступенчатом градиенте перкола, исходя из предыдущих данных о том, что фракция CD34+ ГСК, выделенных из костного мозга мышей, имела плавучую плотность 1,09 г/мл [4]. Поэтому мы решили провести исследование содержания ГСК в данной фракции периферической крови человека.

Проточная цитометрия. Фенотип клеток, содержащихся во фракциях оценивали с помощью определения CD-маркеров методом проточной иммуноцитофлуориметрии. Для этого мононуклеарные клетки обрабатывали моноклональными антителами к CD-маркерам, меченными фикоэритрином (PE) или флуоресцеин-изотиоцианатом (FITC), согласно протоколу фирмы-производителя (Becton Dickenson, США). Неспецифическое окрашивание контролировали с помощью моноклональных мышиных IgG соответствующих изотипов. Полученные препараты клеток пропускали через проточный цитометр FACS Calibur.

Статистический анализ. Полученные данные обрабатывали методами математической статистики, используя прикладную программу Microsoft Excel. Вычисляли среднюю арифметическую, среднюю квадратическую ошибку средней арифметической и достоверность различия средних (P), используя функцию TTEST.

Результаты и их обсуждение

При фракционировании на градиенте перкола мы использовали несколько вариантов обработки цельной крови, для получения наиболее оптимального и чистого выхода клеток. Таким образом, на фракционирование мы брали: 1) цельную кровь; 2) кровь, подвергнутую лизису эритроцитов; 3) кровь, подвергнутую осаждению эритроцитов в 3% растворе желатина; 4) кровь, подвергнутую сочетанному воздействию лизирующего раствора и желатина; 5) кровь, подвергнутую осаждению эритроцитов в полиглюкине.

Известно, что удаление эритроцитов из образцов крови является важным этапом подготовки к фракционированию на плотностных градиентах.

В таблице 1 представлены результаты по разделению цельной крови на четырехступенчатом градиенте перкола. Как оказалось, данное разделение во всех экспериментах (n=3) приводило к редукции большинства фракций. Выделялась либо одна, либо две из пяти ожидаемых фракций. Отсюда следует, что использование многоступенчатого градиента принципиально изменяет разделение мононуклеарных клеток. Очевидно, присутствие эритроцитов модифицирует условия седиментации клеток в сложном изопикническом градиенте.

Таблица 1 - Разделение клеточных фракций цельной крови человека при изопикническом центрифугировании на четырехступенчатом градиенте перкола

Эксперимент	Количество выделенных клеток из 1 мл крови ($\times 10^3$)				
	Фракция				
	1,06 г/мл	1,076 г/мл	1,09 г/мл	1,1 г/мл	Осадок
1-й	1000		эритроциты		
2-й	-	1000	эритроциты		
3-й	-	500	153	эритроциты	

Процедура предварительного гемолиза эритроцитов с помощью лизирующей смеси, содержащей хлористый аммоний и ЭДТА, привела к полному удалению эритроцитов, однако, вместе с эритроцитами исчезли и клетки фракции 1,09 г/мл. Следовательно, использование хлористого аммония недопустимо при выделении обогащенной фракции ГС/ПК.

Далее мы использовали известный прием гравитационного осаждения эритроцитов и гранулоцитов в присутствии 3% желатина. Для этого гепаринизированную кровь смешивали с

равным объемом 3% раствора желатина, инкубировали 30 мин при 37°, а затем отсасывали слой жидкости над эритроцитарной взвесью, содержащий мононуклеарные клетки.

После соответствующих отмывок суспензию клеток наносили на четырехступенчатый градиент перкола и проводили изопикническое фракционирование. При этом были получены четко различающиеся кольца трех фракций клеток, не содержащие эритроцитов. 4-я фракция с расплывчатыми контурами содержала эритроциты. На дне пробирки был небольшой осадок эритроцитов.

В таблице 2 представлены данные количественного соотношения мононуклеарных клеток во фракциях.

Таблица 2 - Разделение клеточных фракций цельной крови человека, подвергнутой осаждению эритроцитов в 3% растворе желатина, при изопикническом центрифугировании на четырехступенчатом градиенте перкола (n=3).

Количество выделенных клеток из 1 мл крови ($\times 10^3$)				
Фракция				
1,06 г/мл	1,076 г/мл	1,09 г/мл	1,1 г/мл	Осадок
15,2±5,9	272,7±42,8	29,9±3,1	эритроциты	эритроциты

С целью улучшения выделения клеток фракции 1,09, которая содержала иногда небольшое количество эритроцитов, мы провели эксперимент, в котором сначала кровь обрабатывали желатином, затем после отмывки остатки эритроцитов растворяли лизирующим раствором, а затем проводили изопикническое фракционирование. Оказалось, что лизирование эритроцитов фатально влияет на фракцию 1,09, в которой предполагается присутствие ГСК.

Таким образом, гравитационное осаждение эритроцитов в 3% растворе желатина наиболее эффективно позволяет разделять клетки на градиенте перкола и получать фракцию 1,09. Однако использование желатина в технологии размножения ГСК не желательно, поскольку он является животным белком и, следовательно, существует риск прионового загрязнения. Поэтому для осаждения эритроцитов мы решили использовать фармакологический препарат микробного происхождения – полиглокин, который применяется в качестве дезинтоксикационного и кровезаменяющего средства и разрешен для внутривенных инфузий.

Для осаждения эритроцитов использовали процедуру, аналогичную с желатином. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Разделение клеточных фракций цельной крови человека, подвергнутой осаждению эритроцитов в полиглокине, при изопикническом центрифугировании на четырехступенчатом градиенте перкола (n=4).

Количество выделенных клеток из 1 мл крови ($\times 10^3$)				
Фракция				
1,06 г/мл	1,076 г/мл	1,09 г/мл	1,1 г/мл	Осадок
9,9±6,7	337,2±58,9	130,9±103,7	эритроциты	эритроциты

При сравнении таблиц 2 и 3 по методу Стьюдента оказалось, что количество клеток в отдельных фракциях, выделенных двумя методами (с помощью желатина и полиглокина), не различались друг от друга. В силу вышеназванных оснований предпочтение было отдано методу с использованием полиглокина.

Также в наших дальнейших экспериментах мы стали ориентироваться на разделение клеток на двухступенчатом градиенте перкола, как уже упоминалось выше, исходя из наших предыдущих данных о том, что фракция CD34+ ГСК, выделенных из костного мозга мышей, имела плавучую плотность 1,09 г/мл [4]. Оценка содержания CD34+ клеток проводилась в трех выделенных фракциях периферической крови с использованием проточной цитофлуориметрии. Плоты распределения меченных фикоэритрином CD34+ клеток представлены на рисунках 1, 2, 3 (по оси ординат).

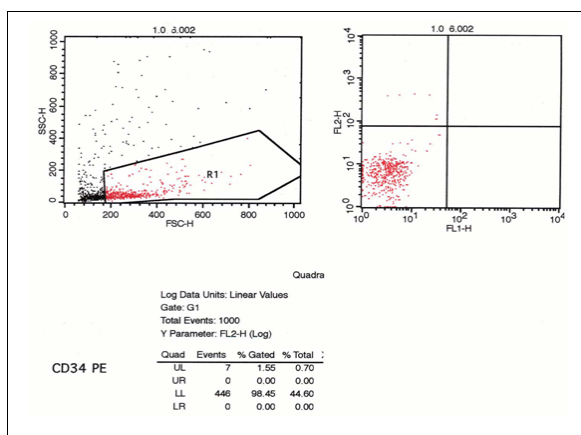


Рисунок 1 - Содержание CD34+ клеток во фракции 1,06 периферической крови человека по данным проточной цитофлуориметрии

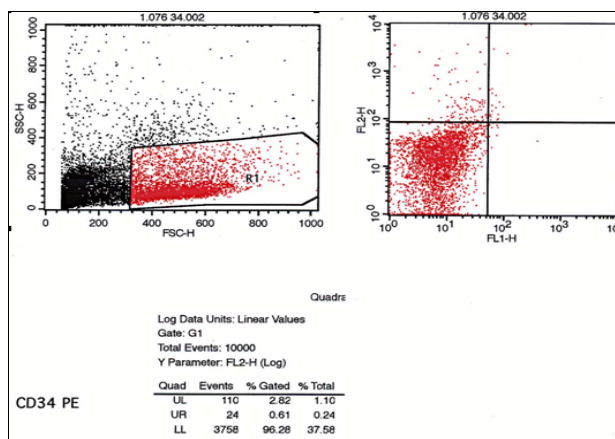


Рисунок 2 - Содержание CD34+ клеток во фракции 1,076 периферической крови человека по данным проточной цитофлуориметрии.

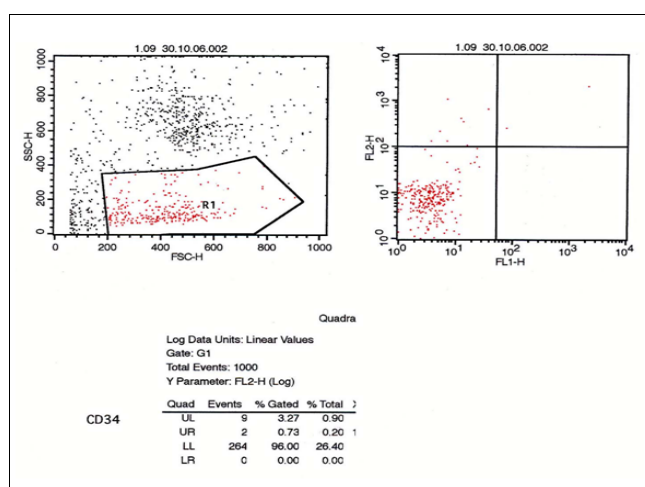


Рисунок 3 - Содержание CD34+ клеток во фракции 1,09 периферической крови человека по данным проточной цитофлуориметрии

По данным проточной цитофлуориметрии содержание CD34+ клеток во фракциях распределилось следующим образом: фракция 1,06 г/мл – 0,68%; фракция 1,076 г/мл – 1,08% и фракция 1,09 г/мл – 1,1%. Сумма трех фракций составила 2,86%.

Как видно, наибольшее содержание CD34+ клеток отмечалось во фракции 1,09. Однако эти клетки присутствовали и в остальных фракциях. Эти данные подтвердили наше первоначальное предположение о том, что существенное количество ГСК содержится во фракции 1,09, которую обычно не учитывают и отбрасывают вместе с эритроцитами и гранулоцитами.

Учитывая среднее содержание клеток в каждой фракции (см. таблица 3) и процент CD34+ клеток в этих же фракциях мы рассчитали суммарный выход CD34+ клеток из 1 мл периферической крови при объединении трех фракций, который составил приблизительно 6×10^3 клеток.

Таким образом, нами разработаны новые методические приемы получения обогащенной фракции CD34+ ГС/ПК, которые включают процедуру гравитационной седиментации в полиглюкине с последующим изопикническим центрифугированием клеток на градиенте перкола. Кроме того, данный метод дешевле известного метода иммуномагнитной сепарации, который к тому же не применим к малым количествам образцов периферической крови человека.

Литература

1 *Current protocols in immunology*. Ed. J.E.Coligan, A.M.Kruisbeek, D.H.Margulies, E.M.Shevach, W.Stober, John Wiley&sons, Inc., 2003.

2 Закирьянова Г.К., Беляев Н.Н. Изопикническое разделение клеток костного мозга// Методы молекулярной биологии, биохимии, иммунохимии и биотехнологии, Алматы.-1999.-с.142-145.

3 Percoll: Methodology and applications. Density marker beads for calibration of gradients of Percoll. Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala.

4 Рысулы М.Р., Беляев Н.Н., Шалбаева А.Д., Искалиева С.С., Богданов А.Ю. Гемопоэтические стволовые клетки. Ред. М.А.Алиев, Мектеп, Алматы, 2005, 133 с.

Тұжырым

Адамның перифериялық қанының мононуклеары шінде CD34⁺ БК/ПК клеткаларының байытылған фракциясын шығарудың жаңа әдістері жасалынды. Олардың перифериялық қандағы мөлшері 0,01% шамасын құрайды, бұл мөлшері клеткалық терапия үшін мүлдем жеткіліксіз. Бұл жұмыста ағынды цитофлуориметрия көмегімен перифериялық қаннан бөлініп алынған үш фракцияның ішіндегі CD34⁺ клеткалардың мөлшері бағаланды. CD34⁺ клеткалар үш фракцияда да бар болып шықты, жүзу тығыздығы 1,09г/мл фракциясында үлесі ең көп екен. Әрбір фракцияда жалпы клеткалардың санын және фракциялардағы CD34⁺ клеткалардың пайызын ескере отырып, үш фракцияны біріктіргенде 1мл перифериялық қаннан шығатын жалпы CD34⁺ клеткалардың мөлшері есептелінді, ол мөлшерлеп 6×10^3 клетканы құрайды.

Summary

The new method of significant increasing yield of CD34⁺ HS/PC from the human peripheral blood is developed. Their content in the mononuclear fraction of the peripheral blood with a buoyant density of 1,076 g/ml is about 0, 01%, that is absolutely insufficient for the use in cell therapy. By the flow cytometry we conducted the estimation of the content of CD34⁺ cells in three isopycnic fractions of the peripheral blood. It has been shown that CD34⁺ cells present in all fractions, but their high level was observed in the fraction with the buoyant density of 1,09 g/ml. Taking into account the average content of the cells in each fraction and the percentage of CD34⁺ cells in the same fractions, we calculated that the total yield of CD34⁺ cells from 1 ml of the peripheral blood after joining three fractions was approximately 6×10^3 cells.

УДК 636.082.12/ 575.1

Шарипов И.К., ¹Сарсекеева Г.Ж., ¹Жомартов А.М., ¹Жапбасов Р.,

²Тойшибеков Е.М., ¹Буленова А.С., ¹Всеволодов Э.Б., ¹Латыпов И.Ф., ¹Мусаева А.С.

НЕКОТОРЫЕ ХАРАКТЕРНЫЕ ПРИЗНАКИ ЯГНЯТ ЧЕТЫРЕХ АБОРИГЕННЫХ ПОРОД И ОТРОДИЙ ОВЕЦ КАЗАХСТАНА, ВКЛЮЧЕННЫХ В КОЛЛЕКЦИЮ СОХРАНЯЕМЫХ ГЕНОТИПОВ

(¹Институт общей генетики и цитологии, ²Институт экспериментальной биологии)

Изучены кариотипы и некоторые показатели раннего постнатального развития ягнят (живой вес, его динамика и структура волосяного покрова) у 4 курдючных аборигенных пород и популяций Казахстана (едилбайская, чуйская, чингизская и сарыаркинская), сохраняемых как ценные генотипы с хорошей адаптацией к суровым климатическим условиям Казахстана. Животных с отклонениями от основной видовой структуры кариотипа домашних овец не найдено. Описаны особенности распределения волос ягнят этих популяций по диаметру и их микроструктуры.

Продолжительная работа по созданию и массовому разведению современных высокопродуктивных пород овец создала угрозу утраты ценных аборигенных генотипов с их высокой адаптацией к суровым местным условиям для использования их генофонда в создании и совершенствовании новых пород. К числу таких ценных аборигенных пород относятся едилбайская, сарыаркинская, чуйская и чингизская породы и отродья овец. Эти курдючные породы позволяют использование бедных пастбищ, выдерживают круглогодичное содержание в суровых условиях Казахстана. Надежная идентификация пород в соответствии с современными требованиями предполагает характеристику пород как зоотехническими методами, так и генетическими методами для разработки методов аттестации животных, как носителей соответствующего породного генотипа и фенотипа.

В настоящее время на экспериментальной базе ТОО «Институт экспериментальной биологии» заложен опыт по сохранению, воспроизводству и изучению животных этих пород. Задачей настоящей работы явилось исследование ягнят упомянутых 4-х пород классическими зоотехническими методами с акцентом на структуру волосяного покрова, а также кариотипа ягнят на соответствие видовому стандарту 54 хромосомы диплоидного набора, 3 пары крупных метацентрических хромосом (1-я, 2-я и 3-я), а остальные акроцентриками (не считая очень мелкой у-

хромосомы, имеющейся только у самцов) [1]. Нельзя исключить появления у ягнят изучаемых пород случаев отклонения от видового стандарта кариотипа, и их проверка на правильность кариотипа представляется целесообразной [1,2].

Помимо стандартных зоотехнических промеров, характеризующих динамику живого веса, очень специфическими для пород показателями являются параметры волосяного покрова, которые резко различаются у разных пород овец и важны для контроля их идентичности [2-4].

Наибольшая изменчивость характерна для структуры сердцевинного слоя [5] от полного отсутствия слоя до мощного развития в толстых волосах. Для некоторых пород характерен «перинатальный кризис» роста, выражающийся во временном или перманентном утончении волос, которые достигали большей толщины в пренатальный период [3]. Анализ структуры волоса позволяет выявить особенности популяций овец и признаки стрессовых состояний организма в среде обитания.

Материалы и методы

Исследовались баранчики (рисунок 1) первых месяцев после рождения (по три ягненка от каждой из 4 пород или отродий).

Зоотехническая характеристика включала живую массу ягнят в возрастах от рождения до 2 месяцев и коэффициенты роста массы за этот период. Пробы волос ягнят 1-го месяца жизни (около 20 дней) состригались в средней части боковой поверхности за лопаткой, как принято в зоотехнии. Изучался средний диаметр волокон и их распределение по толщине на стадии их роста в 1й месяц жизни методом ланометрического анализа. От каждого ягненка измеряли диаметры 600 волос.

С помощью компьютерной программы RZBCL70a строилась кривая распределения волос по диаметру. Данные измерений диаметра волосков разбивались по классам: 10-13 мкм, 14-17 мкм и т.д., и подсчитывалось число волос в каждом классе. Кривая распределения числа волос строилась на основе стандартной компьютерной программы Excel по классам диаметра с полиномиальной аппроксимацией 6-й степени.

Также был проведен микроскопический анализ специфических признаков структуры волосков.

Культивирование лимфоцитов крови проводили по стандартной методике культивирования [1,6].

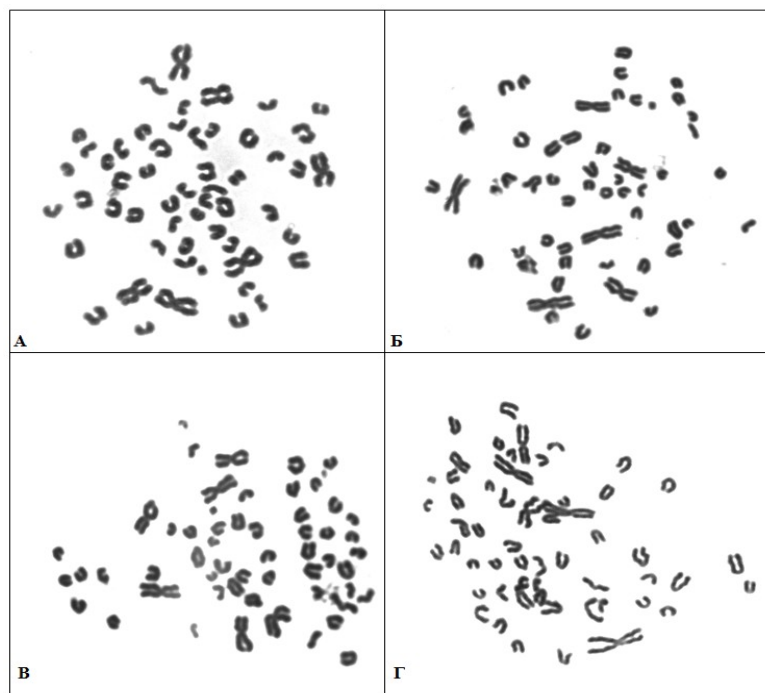


слева направо: едилбайской породы (коричневая масть), чуйский ягненок (черная масть), чингизская популяция (пигментация горла и части головы, ягненок сарыаркинской породы (белая масть).

Рисунок 1 - Ягнята 1-го месяца после рождения 2009 г.

Результаты и их обсуждение

Цитогенетические исследования. Исследование кариотипов 12 ягнят 4 пород не обнаружило отклонений по числу и морфологии хромосом от видового стандарта для домашней овцы. Никаких признаков зиготических хромосомных мутаций, которые свидетельствовали бы о системном нарушении видового кариотипа ни у одного из 12 исследованных ягнят найдено не было (рисунок 2).



А- Едилбайская порода. Б- Чингизская популяция. В- Чуйская популяция.
Г- Сары-аркинская порода. Все $2n=54,XY$.

Рисунок 2 - Метафазные клетки баранчиков аборигенных пород и популяций овец Казахстана

Больших достоверных различий между породами и сколько-нибудь резких отклонений от нормы в сторону повышения частоты хромосомных aberrаций, полиплоидии и анеуплоидии у изученных животных не обнаружено. Хромосомные aberrации представлены в основном непарными ацентрическими фрагментами, частота которых не является повышенной, по сравнению с обычным уровнем для овец. Таким образом, нет оснований подозревать изученных животных в том, что они имеют существенно повышенный уровень цитогенетической нестабильности в тех условиях содержания, в которых они находятся на базе Института экспериментальной биологии.

Зоотехническое исследование постнатального онтогенеза ягнят 4-х пород: едилбайской, сарыаркинской, чуйской и чингизской пород овец

а) Исследования массы тела

Живая масса ягнят при рождении указывает на уровень пренатального роста и на потенциальные возможности их роста в постэмбриональный период развития. По живому весу при рождении ($4,78 \pm 0,10$ кг) только Едилбайские ягнята превосходят другие породы и отродья ($4,10-4,23$), которые между собой достоверно не отличаются. Наибольший коэффициент роста за 2 месяца отмечен у едилбайской породы (4,14 раза). У других ягнят особых различий по этому показателю не отмечено (3,89-3,95).

б) Ланометрические исследования

Данные по средней толщине волокон ягнят всех 4 пород и отродий приведены в таблице 1. Из таблицы видно, что средняя ланометрическая толщина меньше всего у ягнят сарыаркинской породы. Если толщину волос этой породы принять за 100%, то у других пород она на 25 – 38 процентов больше. Разница по средней толщине шерстных волокон между остальными породами и отродьями: чуйской, чингизской и едилбайской гораздо меньше и не превышает 10 % (2,9–9,5%), если за 100% принимать, соответственно, средние диаметры одной из сравниваемых пород.

Разница средних диаметров недостоверна только между чингизской и едилбайской породами, хотя разность хода кривых распределения (рис.2) высоко достоверна при сравнении их методом χ^2 .

Наименьшая толщина отдельных волокон у всех 4 пород (и отродий) одинакова – 12 мкм, а наибольшая колеблется от 94 мкм у сарыаркинской, до 100 – 122 у других пород. Коэффициенты вариации толщины волокон у пород (по объединенным данным по 3 ягнятам каждой породы) довольно близки между собой и находятся в интервале 51-57%.

Таблица 1 - Средние диаметры волос ягнят 4 пород 1-го месяца после рождения

Порода	Число ягнят	Число волос	Диапазоны толщины волос (мкм) и коэффициент вариации (%)	Средняя ланометрическая толщина волос (мкм)	Разность средних диаметров волос (%)
Сарыаркинская	3	1800	12 - 94 52%	26.1±0.32	0
Чуйская	3	1800	12 – 122 56%	36.0±0.48	38 ± 2.2*** 0
Едилбайская	3	1800	12 – 122 51%	33.7±0.7	29 ± 2.9*** -6.3 ± 2.36`` 0
Чингизская	3	1800	12 – 100 57%	32.6±0.44	25 ± 2.2*** -9.5 ± 1.9```` -2.9 ± 2.3?

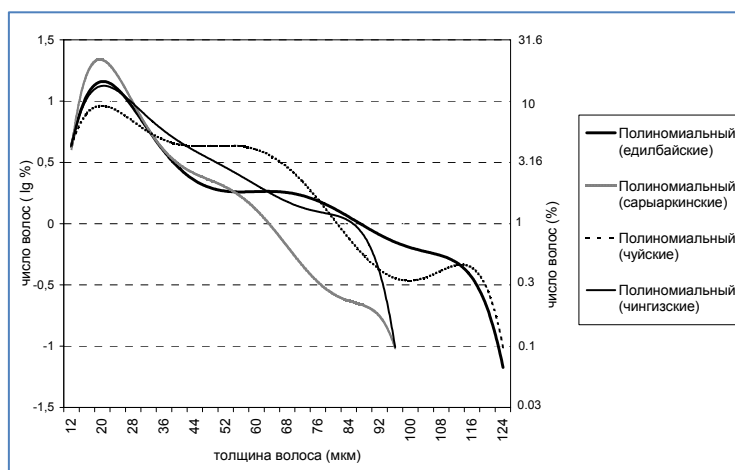
*** - достоверность разности с сары-аркинскими ягнятами при P<0.003
 `` - достоверность разности с чуйскими ягнятами при P<0.01
 ```` - достоверность разности с чуйскими ягнятами при P<0.003  
 ? - разница с едилбайской породой недостоверна; P>0.05

Как видно из рисунка 2 у всех пород и отродий месячных ягнят наиболее часто встречаются волокна, толщиной около 24 мкм.

Очень тонкие волокна около 12 мкм и промежуточные волокна около 32 мкм встречаются у всех этих пород и отродий одинаково часто. Волокна модальной (наиболее часто встречающейся) толщины особенно многочисленны у сарыаркинских ягнят, но реже встречаются у чуйских ягнят. Максимально толстые волосы свыше 100 мкм у сарыаркинских и чингизских ягнят не встречены, но присутствуют в некотором количестве у едилбайских и чуйских ягнят.

У сарыаркинских ягнят относительно толстых волос, диаметром от 60 до 90 мкм, меньше чем, у других ягнят.

Кривые распределения волос по толщине правее главного максимума у всех четырех пород и отродий образуют плато (или, по крайней мере ослабление крутизны наклона), Так у едилбайской породы такие плато видны для интервалов значений толщины 44 – 70 мкм и 100 – 112 мкм; у чуйских, соответственно, для интервалов 38 – 60 мкм и 98 – 114 мкм, у сарыаркинских - 42 – 54 и 78 – 90 мкм, у чингизских 72 – 82 мкм.



По оси абсцисс классы диаметра волос (12; 16; 20 и т.д.). По оси ординат (справа) % волос данного класса толщины, а слева логарифмы этих величин.

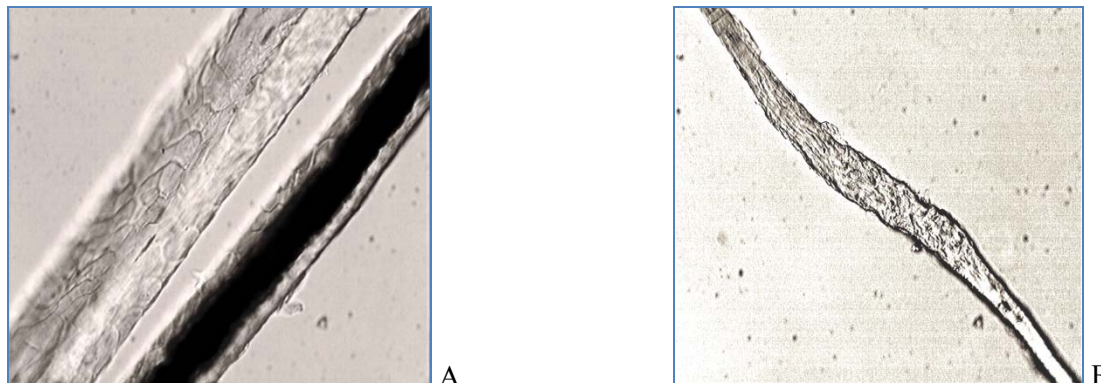
**Рисунок 2** - Кривые распределения волос 4 пород и популяций по классам диаметра.

Не исключено, что левее расположенные плато обусловлены характерными диаметрами рано закладывающихся крупных вторичных волос или даже латеральных центральных первичных

волос. Правее же расположенные плато обусловлены диаметрами первичных волос вообще или даже только центральных (самых толстых) первичных волос.

в) Некоторые данные по структурным особенностям волос ягнят 4 пород.

У чингизской группы ягнят отмечено две интересные особенности. У них присутствуют волосы относительно большого диаметра (60 и более мкм), лишенные сердцевинного слоя, наряду с обычными часто более тонкими волосами, содержащими сердцевину (рис. 3-а).



А - Справа обычный волос с сердцевинной (черный заполненный воздухом слой). Слева более толстый бессердцевинный волос.

Б - Локальное нарушение нормальной дифференцировки позднего вторичного волоса чингизского ягненка.

**Рисунок 3 – Волосы чингизского ягненка**

Это сопровождается вогнутой формой поперечного сечения волоса (вогнутость с одной стороны или с двух противоположных сторон). Это явление представляет интерес с точки зрения породной характеристики ягнят и с точки зрения механизма дифференцировки клеток камбия лукович волосяного фолликула на слои волоса. У чингизских ягнят присутствует «стрессовый» участок на поздних вторичных волосах, коротких на этой стадии роста ягненка. В этих участках наблюдается утолщение волос и их неправильная дифференцировка, возможно, из-за нарушений нормального хода событий в волосяном фолликуле в период родов (рисунок 3-б). У сарыаркинских ягнят также были обнаружены толстые волосы с сильно подавленным развитием сердцевинки, а у чуйских ягнят «стрессовые» участки у поздних вторичных волос.

Исследования эдилбайской, сарыаркинской, чуйской и чингизской, пород и популяций курдючных овец, намеченных для сохранения в коллекции аборигенных и усовершенствованных пород Казахстана, показали, что эдилбайские ягнята в условиях экспериментальной базы в Илийском районе имеют тенденцию превосходить таковые других пород и популяций. В первом месяце постнатальной жизни они достоверно отличаются по средней толщине волокон (26.1 – 36 мкм) и/или распределению волокон по классам диаметра.

Микроскопические исследования волос ягнят выявили структурные особенности (недоразвитие сердцевинки некоторых толстых волос и их жолобообразную форму особенно у чингизской популяции), которые представляют интерес как специфические признаки пород, и присутствие коротких участков поздних вторичных волос с нарушенной структурной организацией (чингизская, чуйская популяции).

Цитогенетические данные по 4 сохраняемым породам подтвердили соответствие кариотипов изученных животных видовому стандарту для домашних овец ( $2n=54$  при 3 парах метацентрических хромосом). Предварительные данные о цитогенетической стабильности не обнаружили существенного ее повышения у изученных животных.

#### **Литература**

- 1 Шарпов И.К. Кариотип домашних и диких овец. – Алма-Ата: Наука, 1989. – 141 с.
- 2 Bruere A.N., Chapman H.M. Further evidence of normal fertility and formation of balanced gametes in sheep with one or more different robertsonian translocations // *J. Reproduction and Fertility*. – 1975. – Vol.25. – P.323-331.

3 Ryder M., Stephenson S.K. *Wool growth*. Acad. Press. N.Y., London. – 1968. – P.1-805.

4 Всеволодов Э.Б. *Волосные фолликулы*. Алма-Ата. Изд. «Наука». 1979 г. С. 1-143.

5 Соколов В.Е., Петрищев Б.И. *Кожный покров домашних млекопитающих (копытные)*. РАН, Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцева, Москва. – 1997. – С.1-288.

6 Жапбасов Р. *Қойдың цитогенетикасы және тератологиясы*. “Бастау”, Алматы.-2006.290 б.

### **Тұжырым**

Қазақстанның қатаң климатты жағдайына жақсы бейімделген бағалы генотип ретінде сақталатын 4 жергілікті қой тұқымдары мен қазақстандық популяциялар (еділбай, шу, шыңғыс, сарыарқа) қозыларының кариотипі және ерте постнатальді дамуы кезіндегі кейбір көрсеткіштері (тірі салмағы, оның динамикасы жүннің құрылымдық ерекшеліктері) зерттелді. Үй қойларының қалыпты кариотипінен өзгеше ауытқулары бар жануарлар табылған жоқ. Осы популяциялардағы қозылардың жүн талшықтарының диаметрі бойынша жіктелу ерекшеліктері және олардың кейбір микроқұрылымдық ерекшеліктері сипатталды.

### **Summary**

Karyotypes and some features of early postnatal development of lambs (liveweight, its dynamics, wool fibres parameters) of 4 Kazakhstan fat tail aboriginal breeds and populations (Edilbay, Shu, Chingiz and Saryarka) which are preserved as important genotypes of good adaptation to severe climate of Kazakhstan were studied. All lambs had the standart domestic sheep karyotype. The peculiarities of wool fibres diameters distribution and some special characters of their microstructure were described.

УДК 595.754

<sup>1</sup>Акоев М.Т., <sup>2</sup>Есенбекова П.А.АЛТЫНЕМЕЛ ҰЛТТЫҚ БАҒЫНЫҢ ЖАРТЫЛАЙ ҚАТТЫҚАНАТТЫЛАРЫ  
(*Heteroptera*) ФАУНАСЫНА(Қазақ ұлттық агроуниверситеті<sup>1</sup>, Зоология институты<sup>2</sup>)

«Алтынемел» ұлттық табиғи бағынан (Жоңғар Алатауы, Қояндытау) жартылай қаттықанаттылардың 12 тұқымдасына жататын 36 түр анықталды. Олардың ішінде мезофил – 23 (63%), мезо-ксерофил – 9 (26%), ксерофил – 4 (11%); зоофаг – 4 (11%), зоофитофаг -1 (3%), қалғандары – фитофагтар (86%).

Мақалаға негіз болып отырған 2007-2008 жылдары Алтынемел Ұлттық табиғи бағында (Жоңғар Алатауы, Қояндытау жотасы, Ұзынбұлақ, Түлкілі, Қайыңды аңғарларынан) жинаған материалдары. Таулы жерлердің бедерінің әрқилы болуына байланысты, жартылай қаттықанаттылардың стациялық таралуы да өзіндік ерекше болады. Қояндытаудың субальпі шалғындарында *Nysius groenlandicus*, *Carpocoris pudicus*, *Dolycoris penicillatus*, *Lygaeus equestris*, *Myrmecopies tibialis*, сонымен қатар осы белдеудегі өзен аңғарлары бойындағы шалғындарда дала түрлері *Anthemina lunulata*, *Jakovleffia setulosa*, *Lamprodema maurum*, тау ормандарында ағаш пен бұталарда кездесетін *Palomena prasina*, *Acanthosoma forcipatum*, *Elasmucha betulae*, *Kleidocerys resedae*, шөптесінді өсімдіктерде *Graphosoma lineatum*, *Carpocoris pudicus*, *Rhopalus subrufus*, *Nabis brevis*, *Orthops kalmi*, *Polymerus nigrita*, *Sphragisticus nebulosus*, далалы, бұталы түрлі шөпті, шалғынды далалы жерлерден *Sciocoris microptalmus*, *Eurygaster dilaticollis*, *Graphosoma consimile*, *Calocoris pilicornis*, *Himacerus maracandicus*, *Dolichonabis flavomarginatus*, бұталы түрлі шөпті далалы жерлерде *Psallus cognatus*, *Sacculifer rufinervis*, *Heterogaster artemisiae*, *Platyplax salviae*, *Vilpianus galii*, *Carpocoris coreanus*, *Camptopus lateralis*, *Pterotmetus staphyliniformis*; өсімдігі қуаң жерлерден *Odontoscelis fuliginosa*, *Cydnus aterrimus*, *Pyrrhocoris marginatus*, *Berytinus montivagus*, *Parapiesma kochiae* кездесті.

Түрлердің кейбір экологиялық, биологиялық мәліметтері келесі әдебиеттерден алынды [1, 2, 3].

Төменде зерттеу нәтижесінде табылған түрлер тізімі берілген.

*Nabidae* тұқымдасы

*Nabis flavomarginatus* Scholtz, 1847. Хортобионт; мезофил (орман шалғыны, шеті мен алаңқайы); зоофаг (ұсақ насекомдар); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Nabis brevis brevis* Scholtz, 1847. Хортобионт; эвритоппы мезофил; зоофаг; моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Himacerus maracandicus* (Reuter, 1890). Хорто-гамнобионт (400-ден 3000 м биіктікке дейінгі биік шөптесінді шалғындар, әсіресе шатыргүлділер); мезофил; зоофаг (шыбын, қандала және т.б.); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Alydidae* тұқымдасы

*Camptopus lateralis* (Germar, 1817). Хортобионт; мезофил (орман шеті мен орман алаңқайлары, шалғындар мен осындай биотоптар); кең олигофитофаг (бұршақ тұқымдастармен қоректік байланысты); бивольтинді; ересегі қыстайды.

*Rhopalidae* тұқымдасы

*Rhopalus subrufus* (Gmelin, 1790). Хортобионт; мезофил (орман шеті мен орман алаңқайлары, далалы биотоптарда сирек, тауда 2500 м т.д. биіктікке дейін); полифитофаг (ерінгүлділерде, кейде бұршақтұқымдастарда және басқа да тұқымдас өсімдіктерінде); жылына 2-3 рет ұрпақ береді; ересегі қыстайды.

*Pyrrhocoridae* тұқымдасы

*Pyrrhocoris marginatus* Kolenati, 1845. Герпетобионт (жерде, тас астында); мезо-ксерофил (далалы, қуаң жерлер, орман шеті мен орман алаңқайлары); полифитофаг (өсімдік дәндерімен, әсіресе *Tilia*, *Robinia*, сонымен қатар насекомдар жұмыртқалары, өлі насекомдар); жылына 2 рет ұрпақ береді; ересегі қыстайды (тас астында, өсімдік жабыны арасында).

*Berytidae* тұқымдасы

*Berytinus montivagus* (Meyer-Dur, 1841). Хортобионт; мезофил (*Medicago lupula* мен жоңышканың басқа да аласа бойлы түрлері өсетін таудың қуаң беткейлері); кең олигофитофаг (*Medicago* мен *Trifolium*); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Piesmatidae* тұқымдасы

*Parapiesia kochiae* (Becker, 1867). Хортобионт; мезо-ксерофил (орман шетінде, тау етегінің шөлденген және ашық жерлері); кең олигофитофаг (*Kochia prostrata*, *Echinopsilon* (*Chenopodiaceae*)); бивольтинді; ересегі қыстайды.

*Lygaeidae* тұқымдасы

*Sphragisticus nebulosus* (Fallen, 1807). Герпето-хортобионт (қалың шөптесінді өсімдік астында); мезофил (мезофитті шалғындарда – айқышгүлділерде, бұршақтұқымдастарда және т.б., тау беткейлері, орман шеті мен алаңқайлары); полифитофаг (өсімдіктердің түскен дәндері); бивольтинді; ересегі қыстайды.

*Pterotmetus staphyliniformis* (Schilling, 1829). Хортобионт; мезо-ксерофил (орман шеті мен алаңқайлары, шалғындар); полифитофаг (*Verbascum*, *Achillea*, *Tanacetum*, *Sedum* және т.б.: астық тұқымдастар мен қосжарнақтылар); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Jakowleffia setulosa* (Jakovlev, 1874). Герпето-хортобионт (*Artemisia*, *Atriplex*, *Halocnemum*, *Anabasis*); ксеро-мезофил (таудың далалы, қуаң биотоптарында, өсімдіктер жабыны арасында); фитофаг; моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Platyplax salvia* (Schilling, 1829). Хортобионт (*Salvia stepposa*, *S.nemorosa*, *S.verticillata* және т.б.), мезофил (мезофитті, қалыпты ксерофитті биотоптарда, қоректік өсімдігі кездесетін барлық жерде); олигофитофаг (*Salvia*); ересегі қыстайды (өсімдік жабыны мен ағаш қабығы астында).

*Kleidocerys resedae resedae* (Panzer, 1797). Тамно-дентробионт (қайың өсетін барлық жерде); мезофил; полифитофаг (*Betula*, *Fraxinus*, *Alnus*, *Ledum*, *Spiraea*, *Corylus*); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Nysius ericae groenlandicus* (Zetterstedt, 1838). Хортобионт; мезофил (мезофитті биік тау шалғындары, ормандар, өзен жайылмалары, далалы биотоптар); полифитофаг (әртүрлі шөптесін өсімдіктер); бивольтинді; ересегі қыстайды.

*Lygaeus equestris* (Linnaeus, 1758). Герпетобионт (ашық жерлердегі түрлі шөп арасында, әртүрлі өсімдіктер астында); мезо-ксерофил; полифитофаг (көптеген өсімдіктердің түскен дәндері мен өсімдіктің жасыл бөліктерінің шырыны); моновольтинді, ересегі қыстайды.

*Heterogaster artemisiae* Schilling, 1829. Хортобионт (жусанда, ерінгүлділерде, әсіресе *Thymus*); мезо-ксерофил (тау етегі мен таудың қуаң беткейлері, сазды құрғақ топырақтар); фитофаг; моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Cydnidae* тұқымдасы

*Cydnus aterrimus* (Forster, 1771). Герпето-хортобионт; ксерофил (сүттіген өсетін жазық биотоптар); шектеулі олигофитофаг (сүттіген *Euphorbia*); төменгі даму сатысындағы дернәсілдері өсімдіктің жасыл бөліктерінің шырыны мен тұқымын сорады); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Acanthosomatidae* тұқымдасы

*Acanthosoma forcipatum* Reuter, 1881. Дендробионт; мезофил (таулы жерлерде әртүрлі ағаштар мен бұталарда); полифитофаг (жеміс беретін ағаштар мен бұталар); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Elasmucha grisea grisea* (Linnaeus, 1758). Дендробионт (қайың өсетін барлық жерде); мезофил; кең олигофитофаг (*Betula*, *Alnus*); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Scutelleridae* тұқымдасы

*Odontoscelis fuliginosa* (Linnaeus, 1761). Гео-герпетобионт; ксерофил (*Salsola*, *Ajuga*; тауда 1800 м биіктікке дейін); полифитофаг (*Medicago*, *Erodium*, *Trifolium*, *Salvia*, *Echium*, *Thymus*, *Hieracium*, және т.б.); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Eurygaster dilaticollis* Dohrn, 1860. Хортобионт; ксерофил (далалы, сирек ылғалды, тауда 1000 м биіктікке дейін); кең олигофитофаг (астық тұқымдастар: *Festuca*, *Phleum*, *Briza* және т.б.); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Pentatomidae* тұқымдасы

*Arma custos* (Fabricius, 1794). Дендро-хортобионт (жеке ағаштар мен бұталар, орман шеті мен алаңқайы, жаға ормандарында *Salix* пен *Alnus*); мезофил; зоофаг (әртүрлі ұсақ буынаяқтылар, көбіне жапырақ жегіш қоңыз дернәсілдері); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Anthemina lunulata* (Goeze, 1778). Хортобионт; мезо-ксерофил (таудың қуаң беткейлері, орман шеті мен алаңқайы); полифитофаг; жылына 2-3 рет ұрпақ береді; ересегі қыстайды.

*Carpocoris coreanus* Distant, 1899. Хортобионт (түрлі шөптесін өсімдіктерде); мезо-ксерофил; фитофаг; жылына 2-3 рет ұрпақ береді; ересегі қыстайды.

*Carpocoris pudicus* (Poda, 1761). Хортобионт; мезофил (орман шеті мен алаңқайлары, бақтар мен түрлі шөптесінді биотоптар); полифитофаг; бивольтинді; ересегі қыстайды.

*Dolycoris penicillatus* Horvath, 1904. Хортобионт; мезофил (орман шеті мен алаңқайлары, бақтар, шөптесінді биотоптар); полифитофаг; бивольтинді; ересегі қыстайды.

*Palomena prasina* (Linnaeus, 1761). Дендро-тамнобионт (бұталар мен шөптесінді өсімдіктер); мезофил; полифитофаг (*Ribes*, *Rubus*, *Rosa*, *Prunus*, *Sorbus*, *Acer*, *Fraxinus*, *Tilia*, *Betula*, *Alnus*); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Sciocoris microphthalmus* Flor, 1860. Хорто-герпетобионт; мезо-ксерофил (орман шеті мен алаңқайы, таудың тасты беткейлері, құрғақ құмды биотоптар, шалғындар, астық тұқымдас өсімдіктер астында); полифитофаг (*Thymus*, *Echium*, *Bromus*, *Scabiosa* және т.б.); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Graphosoma consimile* Horvath, 1903. Хортобионт (шатыргүлділерде); мезофил (биік тауда, жазықтықта); фитофаг (*Prangos pabularia*, *Ferula ferdanensis*); жылына 2-3 рет ұрпақ береді; ересегі қыстайды.

*Graphosoma lineatum* (Linnaeus, 1758). Хортобионт; мезофил (таулы және жазық жерлердегі мезофитті биотоптар, жайылма шалғындар); кең олигофитофаг (шатыргүлділер); моновольтинді; ересегі қыстайды.

*Vilpianus galii* (Wolff, 1802). Хортобионт; мезо-ксерофил; фитофаг (*Galium* мен *Asperula*); моновольтинді; ересегі қыстайды.

#### *Miridae* тұқымдасы

*Orthops kalmi* (Linnaeus, 1758). Хортобионт; мезофил; кең олигофитофаг (шатыргүлділерде); бивольтинді; ересегі қыстайды.

*Polymerus nigrita* (Fallen, 1807). Хортобионт; мезофил; шектеулі олигофитофаг (*Galium*); бивольтинді; ересегі қыстайды.

*Myrmecophyes tibialis* Reuter, 1901. Хортобионт; мезофил; кең полифитофаг (астық тұқымдастар және т.б.); бивольтинді; ересегі қыстайды.

*Psallus anticus* (Reuter, 1876). Хортобионт; мезофил; зоофитофаг (*Spirae*, *Caragana*); бивольтинді; ересегі қыстайды.

*Sacculifer rufinervis* (Jakovlev, 1880). Денробионт (*Salix*); мезофил; шектеулі олигофитофаг; моновольтинді; ересегі қыстайды.

Зерттеу нәтижесінде жартылай қаттықанаттылардың 12 тұқымдасына жататын 36 түрі анықталды. Бұлардың ішінде осы аймақ үшін *Acanthosoma forcipatum*, *Cydnius aterrimus* алғаш рет көрсетіліп отыр. Олардың ішінде мезофил – 23 (63%), мезо-ксерофил – 9 (26%), ксерофил – 4 (11%); зоофаг – 4 (11%), зоофитофаг -1 (3%), қалғандары – фитофагтар (86%).

#### Әдебиеттер

1 Асанова Р.Б., Искаков Б.В. Вредные и полезные полужесткокрылые Казахстана. Алматы, 1977. 201 с.

2 Кержнер И.М., Ячевский Т.Л. Отряд полужесткокрылые, или клопы. Определитель насекомых европейской части СССР. Т. I. 656-845 с.

3 Кержнер И.М. Фауна СССР. Насекомые хоботные. Т. XII, выпуск 2, Л., 1981. 326 с.

#### Резюме

В результате исследований природного парка «Алтын-Эмель» (Джунгарский Алатау, Кояндытау) из 12 семейств клопов выявлены 36 видов. Из них мезофил – 23 (63%), мезо-ксерофил – 9 (26%), ксерофил – 4 (11%); зоофаг – 4 (11%), зоофитофаг -1 (3%), остальные – фитофаги (86%).

#### Summary

36 species from 12 families of bugs are revealed in "Altyn-emel" natural park (Dzungarian Alatau, Kojanditau). From them: mesophilous – 23 (63%), mezo-kserofilous – 9 (26%), kserofilous – 4 (11%); zoophagous – 4 (11%), zoophytophagous -1 (3%), the others species – phytophagous (86%).



УДК 576. 895

Әбділдаев М.Ә., Губайдулин Н.А., Мамилов Н.Ш., Баққожа Н., Сапарбаева А.А.  
*Hypseleotris cinctus* (Dabry de Thiersant) – ҚАНСОРҒЫШ МАСАЛАРДЫҢ  
 ТАБИҒИ ЖЫРТҚЫШТАРЫНЫҢ БІРІ  
 (Зоология институты)

*Іле өзенінің орта ағысында қан сорғыш масалар өніп-көбейетін суларда Қытай элеотристарының сан мөлшері көбейгені байқалған. Жүргізген зерттеулерде элеотристардың қансорғыш масалардың сан мөлшерін кемітетіні анықталып отыр.*

Республикамызда қазіргі кезде қансорғыш масалармен күресте қоршаған ортаға зиянын тигізбейтін және экономикалық жағынан тиімді әдістерге көп көңіл бөлінеді. Кейбір зерттеушілердің пікірінше осы мақсатта балықтарды қолдану жоғарыдағы талаптарға сәйкес келеді [1]. Сондықтан елімізде қансорғыш масалармен күресте қолдануға қолайлы түрлерін табу үшін сулардың таяз, масалар өніп-көбейетін жерлерінде мекендейтін балықтарға зерттеу жүргізілді және әлі де жалғастырылуда. Республикамызда басқа жерлерге қарағанда Балхаш-Іле бассейіндегі сулардың таяз жерлерінде мекендейтін балықтардың түрлері толығырақ зерттелген. Жүргізген жұмыстың нәтижесінде сулардың қансорғыш масалар өніп-көбейетін жерлерінде мекендейтін уақ балықтардың жергілікті (аборигенді) және сырттан әкелінгендерінің түрлері анықталған. Зертханалық және масалар өніп-көбейетін табиғи суларда жүргізген көптеген тәжірибелер балықтардың ішінен масалармен күресте биологиялық агент ретінде қолдануға болады деген түрлері анықталған, олардың таралуы, сан мөлшері, өсіп-көбеюі, жасанды орталарда өсіруге болар-болмасы және т.б. ерекшеліктері туралы мәліметтер алынған [2, 3, 4, 5, 6]. Жоғарыда аталған бассейнге ХХ ғасырдың екінші жартысында Амур өзенімен Қытайдан *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.) - ақ дөңмандай мен *Stenopharyngodon idella* (Val.) - ақ амурды жерсіндіргенде, солармен бірге жоспарсыз кәсіптік мәні жоқ уақ балықтар да келген [10, 11]. Сырттан жоспарсыз әкелінген уақ балықтардың бірі - *Hypseleotris cinctus* (Dabry de Thiersant) - Қытай элеотрисы, балықтың бұл түрінің соңғы анықталуы мен қазақша аты беріліп отыр [9]. Өйткені, Eleotridae тұқымдасындағы балықтардың жүйеленуі толық зерттеліп бітпеген, сондықтан түзетулер жиі жасалып тұрады. Оған дәлел балықтың осы түріне арналған әдеби деректердің барлығын емес, кейбір негізгі дегендерін келтірейік. Балықтың бұл түрі бастапқы кезде *Hypseleotris swinhonis* (Gunter) деп анықталады, кейіннен кейбір зерттеушілер [7, 8], осы анықталғанды дұрыс деп қолдаса, ал кейбіреулері тіпті басқа түрі мен тұқымдасына *Perccottus cinctus* (Dabry de Thiersant), *Micropercops cinctus* (Dabry), *Hypseleotris cinctus* (Dabry de Thiersant) [11] түріне жатқызады. Сонымен, балықтың бұл түрінің жүйеленуі туралы біраз мәлімет бердік. Бірақта, мақалаға арқау болған элеотристардың жүйеленуі емес, кейінгі кезде олардың Іле өзенінің орта ағысында сан мөлшерінің көбеюі болды.

Атап айтқанда, Бақбақтыдағы күріш алқаптарының суару, суын ағызу каналдарында, жанындағы суларда, Іленің бойындағы ағысы баяу иірімдерінде, жанама тармақтарында және су тасығанда өзеннің бойындағы ойпаң жерлерге жиналған жайылмалы суларда кездесуі. Мұндай жайылмалы сулардың көлемі 3-5-тен 1500 шаршы метрге дейін, тереңдігі 5-10 см-ден 90-120 см дейін болды. Іленің бойындағы жайылмалы сулардың болуы Қапшағай су қоймасынан суды оқтын-оқтын жіберуіне де байланысты. Жаз айларында мұндай сулардың болу мерзімі әртүрлі, кейбіреулерінің суы азайып, құрғап, көлемі кішірейіп жатса, кейбіреулері кеуіп кетеді. Мұндай суларда су өсімдіктері әртүрлі деңгейде өскен, көбінесе су өсімдіктері қалың өскен. Күріштегі каналдардың, әсіресе күріш атыздарынан босаған су жиналған каналдардың жағалаулары 0,5-тен 1,5 метрге дейін су өсімдіктері өскен. Жоғарыда көрсетілген су қоймалары - жазда *Anopheles* пен *Culex* туысындағы масалар өніп-көбейетін қолайлы орта, жазда мұндай жерлердегі аты аталған масалардың балаңқұрттарының бір шаршы метр жеріндегі сан мөлшері бірен-сараннан 1632 данаға дейін жетті.

Айта кететін жай, көктемде (сәуір мен мамырдың басында) Іле өзенінің бойындағы жайылмалы сулардағы элеотристардың сан мөлшері аз болды, бір шаршы метрде 0.25 данадан аспайды, ал кейбір жерлерді аулағанда, тіпті кездеспейді (ауда), ал тамыздың соңында жайылмалы сулар мен каналдардағы балықтардың сан мөлшерінің көбейгенін байқадық. Мысалы, 2006-2008 жылдары мамырда жоғарыда көрсетілген жерлердегі элеотристардың бір шаршы метрдегі сан мөлшері 0,25 данадан аспаса, тамыздың соңында 0,5-тен 3 данаға жетті. Балықтардың сан мөлшерін анықтағанда бұрын қолданған тәсілді пайдаландық. Элеотристар жылылықты ұнататын балықтар, ал Оңтүстік-Шығыс Қазақстанның ауа райы континентальді, кейбір кезде қыста аязы 20-30<sup>0</sup>С дейін жетеді, осыған байланысты қыста көбі өледі. Дегенмен, олардың кейбіреулері Оңтүстік-Шығыс

Қазақстанның табиғи суларында қыстап шығады, демек осында тіршілік етуге бейімделген. Өсімтал болғандықтан жазда элеотристар тез өсіп көбейеді. Жоғарыда көрсетілгендей элеотристар мекендеген жерлерде жазда қансорғыш масалардың өніп-көбейетінін, соған байланысты олар масалардың сан мөлшерін кемітуге қатысы бола ма, әлде жоқ па соны анықтау үшін зертханалық жағдайда, далада көптеген тәжірибелер 20 литрлік аквариумдарда бұрын қолданылған тәсілмен жүргізілді [8]. Тәжірибелерді жүргізгендегі байқағанымыз, балықтардың маса балаңқұртарын жоюы элеотристардың дене тұрқының үлкен-кішілігіне және маса балаңқұртының даму сатысына байланысты болады. Барлығы 79 зертханалық тәжірибе қойылды, олардың 39-ы *Culex modestus*, ал 40-ы *Anopheles maculipennis* масаларының әртүрлі даму сатысындағы балаңқұрттары қолданылды. Айта кететін жай, біз аулап ұстаған элеотристардың дене тұрқының ең үлкені 5.6 см аспады, тәжірибелерге көбінесе 3-4,5 см балықтар қолданылды, ал әдеби деректерде 11 см дейін жетеді екен.

Тәжірибелерде балықтардың дене тұрқы ұлғайған сайын, жоятын маса балаңқұртарының саны да көбейді. Мысалы, дене тұрқының ұзындығы 2,8 см бір балық тәулігіне *Culex modestus* масаның II даму сатысындағы балаңқұрттарының 124-ін жойса, дене тұрқының ұзындығы 4,4 см бір балық осындай жағдай мен уақытта осы масаның II даму сатысындағы балаңқұрттарының 247-ін жойды. Ал дене тұрқының ұзындығы 3,4 см бір балық тәулігіне *Cx. modestus* масасының II даму сатысындағы балаңқұрттарының 254 жойса, 111 даму сатысындағыларының 142-ін, IV даму сатысындағыларының 64-ін ғана жойды. Сонымен, жүргізген зертханалық тәжірибелер элеотристардың маса балаңқұрттарын жоюы дене тұрқының үлкен-кішілігіне және масаның балаңқұрттарының даму сатысына байланыстылығы белгілі болды. Жүргізген тәжірибелерде элеотристардың маса балаңқұрттарын жоюы тұраралық өзгешеліктеріне байланыстылығы байқалмады.

Балықтардың зертханалық жағдайда маса балаңқұрттарын жоюдағы көрсеткен нәтижесін тексеру үшін 2-4 шаршы метр шұңқырларда тәжірибелер жүргізілді. Тәжірибелерді қойғанда бұрын қолданған тәсілді пайдаландық [8]. Шұңқырлар Іленің бойында (өзеннен 170 м қашықтықта) 3-5 жыл бұрын жер асты суының деңгейі жоғары тұратын жерден әртүрлі тәжірибелерге қолдану үшін қазылып, уақытында пайдаланылған болатын. Бұрын шұңқырлардың түбіне кейбіреулеріне сирек, ал кейбіреулеріне жиі етіп сол жерде өсетін су өсімдіктері отырызылған болатын. Кейіннен су өсімдіктері шұңқырларда табиғи сулардағыдай өсіп кеткен болатын. Шұңқырлардағы су деңгейі 30-дан 70 см дейін болды. Кейінгі жылдары осы шұңқырларда жазда *Anopheles* пен *Culex* туысындағы масалар табиғи сулардағыдай жұмыртқаларын салып, өніп-көбейетін болды. Осындай көлемі үш шаршы метр, су өсімдіктері сиректеу өскен шұңқырдың біреуіне *Anopheles* пен *Culex* туысындағы маса балаңқұрттарының бір шаршы метрдегі сан мөлшері 996 дана болғанда, судың бір шаршы метріне алты балықтан (18-ін) жіберіп бақыладық. Жіберген балықтар шұңқырды масса балаңқұртынан 12 күнде тазартты. Жанындағы тәжірибеге ұқсас бақылауға пайдаланған көлемі екі шаршы метр шұңқырда осы уақытта тәжірибедегідей маса балаңқұрттарының бір шаршы метрдегі сан мөлшері 1120-ден 896-ға дейін кеміді. Ал, су өсімдіктері мен қалың өскен көлемі екі шаршы метр шұңқырға жоғарыда көрсетілгендей масаларды балаңқұрттарының бір шаршы метрдегі сан мөлшері 1280 дана болғанда элеотристарды әр шаршы метрге 10 балықтан жіберіп бақыладық. Жіберген балықтар 12 күнде шұңқырдағы маса балаңқұрттарының сан мөлшерін бастапқыдан бес есе кеміткені мен маса балаңқұрттарын толық жоя алмады. Демек, қалың өскен су өсімдіктері маса балаңқұрттарына қорған болып балықтардың жоюына мүмкіндік бермеді. Осы уақытта тәжірибеге ұқсас жанындағы бақылауға пайдаланған көлемі екі шаршы метр шұңқырда маса балаңқұрттарының бір шаршы метрдегі сан мөлшері 992-ден 1216 данаға дейін болды.

Айта кететін жай элеотристар қазіргі кезде республикамыздың оңтүстігі мен оңтүстік-шығысында тараған. Атап айтқанда, Сырдария, Талас, Шу, Іле, Қаратал, өзендерінің бассейнінде [11], Алматыдағы өзендерде, Үржар, Қатынсу, Эмель, Тентек өзендері мен Сасықкөлде мекендейді. Элеотристарды Сасықкөлдің жағалауы мен Үлкен Алматы өзенінен біз де кездестірдік, бірақта көктемде (мамырда) болғандықтан ба сан мөлшері аз болды. Әрине, олардың сан мөлшері әр жерде әртүрлі болатыны белгілі, бірақта олардың сан мөлшерінің ең көп кездескен жері Бакбақты күріш алқабындағы каналдарда, әсіресе күріш атыздарынан босаған сулар жиналған каналдың бойында және каналдың Ілеге құятын жеріндегі көлемі әртүрлі жайылмалы суларда көп болды.

Сонымен элеотристар Балхаш-Іле бассейнінде және жоғарыда көрсетілген жерлердің барлығында өсіп көбейеді, осы жерлердің фаунасына енген, демек бар уақытта осы жерлердің суларында мекендейді. Осыған байланысты олардың биоценоздағы ролін, яғни пайдасы мен зиянды жақтарын зерттеу қажет. Уақ балықтар болғандықтан олардың кәсіптік мәні жоқ. Қазіргі белгілі болғаны, олар кәсіптік мәні бар балықтар қоректенетін қорегімен қоректеніп, қорек қорын азайтады [8], екіншіден кәсіптік мәні бар балықтардың уылдырықтары мен шабақтарын жеп, көп зиян

келтіреді. Біздің жүргізген зерттеулер Іле өзенінің орта ағысында жазда *Anopheles* пен *Culex* туысындағы масалар көптеп өніп-көбейетінін суларда элеотристардың мекендейтінін көрсетті. Зертханалық және масалар өніп-көбейетін суларда жүргізген бақылаулар мен тәжірибелер олардың биологиялық агент ретінде қан сорғыштардың сан мөлшерін кемітуде елеулі үлес қосатыны белгілі болды. Бірақта, элеотристардың жоғарыда көрсетілген кемшіліктері оларды барлық масалар өніп-көбейетін суларда қолдануға кедергі болады. Демек, оларды қан сорғыш масаларға қарсы күресте табиғи сан мөлшері көп тараған жерлерінде ғана пайдалануға болады, ал кәсіптік балықтар мекендеген жерлерде және басқа жерлерге тасып қолдануға болмайды.

### Әдебиеттер

- 1 Артемьев М.М. Опыт и перспектива использования личинкоядных рыб в борьбе с малярией. Копенгаген. 2002. С. 3-174
- 2 Абдильдаев М.А., Дубицкий А.М. Обнаружение нового для фауны СССР вида рыб *Aplocheilus* sp. в бассейне р. Или // *Вопр. ихтиологии*. 1974, т. 14, вып. 2. С. 328-330.
- 3 Абдильдаев М.А., Мельников В.А. Амурский чебачок - *Pseudorasbora parva* (Schlegel) - эффективный ларвифаг в борьбе с личинками комаров // *Деп. в ВИНИТИ, №2647*. 1980. 34 с.
- 4 Алиев В.С., Световидова А.А., Веригина И.А. Видовой состав рыб, завозимых вместе с белым амуром и толстолобиком из Китая // *Материалы совещания по рыбохозяйственному освоению растительной фауны*. Ашхабад. Изд-во АН ТССР. 1963. С. 178-180.
- 5 Дубицкий А. М., Русинов В. И. Использование рыб для борьбы с комарами на юге-востоке Казахстана // *Вопр. ихтиологии*. 1971, т. II, вып. 1. С. 174-177.
- 6 Золотухин С.М., Абдильдаев М.А. Лабораторно-полевые исследования преспекутивных для борьбы с гнусом рыб // В кн.: *Регуляторы численности гнуса на юго-востоке Казахстана*. Алма-Ата. 1973. С. 106-116.
- 7 Дубицкий А.М. Биологические методы борьбы с гнусом в СССР. Алма-Ата. Наука, 1978. 267 с.
- 8 Дубицкий А.М., Абдильдаев М.А., Мельников В.А. Рекомендации по использованию рыб *Aplocheilus latipes* (Temminck et Schlegel) для борьбы с личинками комаров // Алма-Ата. 1976. 18 с.
- 9 Дукравец Г.М. Вид *Micropercops cinctus* (Dabry de Thiersant) - Китайский элеотрис. *Материалы к кадастру ихтиофауны Алматинской области Республики Казахстан*. Деп. НЦ НТИ. 17.03.2008. № 9. 100 Ка 08. 38 с.
- 10 Митрафанов В.П., Дукравец Г.М. Состав ихтиофауны среднего течения р. Или и ее распределение по обследованным водоемам. *Биол. науки*. Алма-Ата. КазГУ, 1975. Вып. 9. С. 52-54.
- 11 Митрафанов В.П., Дукравец Г.М., Сидорова А.Ф. и др. Рыбы Казахстана. Т.V, 1992, 462 с.

### Резюме

В среднем течении р. Или отмечено увеличение численности Китайский элеотрис проведенные исследования показали, что элеотриевы участвуют в снижении численности кровососущих комаров.

### Summary

In the middle flow of the river Ili, the increase of the *Micropercops cinctus* (Dabry de Thiersant) (Chinese eleotris) fish species was noticed. The investigations identify that the Chinese eleotris fish species promote the decrease of the blood-sucking mosquitoes.

УДК 598. 2/9-15 (235, 216)

**Кикимов Н.Н., Карпов Ф.Ф.**  
**К ЗИМНЕЙ ОРНИТОФАУНЕ**  
**ВОСТОЧНОЙ ОКОНЕЧНОСТИ ЗАИЛИЙСКОГО АЛАТАУ**  
(Алматинский государственный природный заказник)

*В зимний сезон были выявлены 37 видов зимующих птиц из восточной части Заилийского Алатау, определены численность, местообитание и другие показатели.*

Орнитологические исследования в низкогорьях восточной части Заилийского Алатау, ранее в зимнее время, не проводились. В настоящее время, значительная часть, рассматриваемой в статье

территории, находится в границах Алматинского ГПЗ, в связи с чем, назрела необходимость в выявлении и составлении списка обитающих здесь представителей животного мира, в частности птиц.

Материалом для данного сообщения послужили результаты наблюдений во время зимних кратковременных выездов в различные точки восточной части Заилийского Алатау: 9-10 декабря 2000 г, 8-9 февраля 2003 г и 29-30 ноября 2008 г - восточная часть Торайгыра; 22 декабря 2002 г - ущелья на западном берегу Бартогайского водохранилища; 19-20 ноября 2005 г и 11-12 февраля 2006 г - урочище Сартау. Наши исследования осуществлялись по общепринятым методикам [1]. Визуальные наблюдения проводились при помощи полевого 10-кратного бинокля и 60-кратной телескопической трубы "Viking". Осуществлялись как автомобильные, так и пешие маршрутные учеты, при которых отмечались все птицы в пределах видимости.

Ниже приводятся данные по 37 видам птиц, встреченных в этих местах в зимнее время:

**Кряква (*Anas platyrhynchos*)** На Бартогайском водохранилище, в устье р. Чилик, 12 февраля 2006 г на открытых ото льда заберегах, держалось 20 крякв, преимущественно селезней.

**Обыкновенный гоголь (*Bucephala clangula*)** На польнье Бартогайского водохранилища 12 февраля 2006 г наблюдали группу из 9 гоголей.

**Полевой лунь (*Circus cyaneus*)** Одиночные луни (наряд самок), отмечались 22 декабря 2002 г у Бартогайского водохранилища и 12 февраля 2006 г в урочище Сартау.

**Тетеревятник (*Accipiter gentilis*)** Этот ястреб отмечался только в годы с заметной численностью кекликов. В ущелье, на западном берегу Бартогайского водохранилища, 22 декабря 2002 г, наблюдали, как этот ястреб настойчиво преследовал табунок кекликов. В нижней части Сартау, 19 ноября 2005 г, на участке, где на сравнительно небольшой территории, сконцентрировались кеклики, было встречено сразу два тетеревятника. В восточной части Торайгыра, 8 февраля 2003 г наблюдали одну взрослую птицу.

**Перепелятник (*Accipiter nisus*)** За все время наших наблюдений встречен один раз - 20 ноября 2005 г, на южном склоне Сартау (Ала-Байтал), самка перепелятника пыталась поймать дрозда дерябу.

**Мохноногий курганник (*Buteo hemilasius*)** В восточной части Торайгыра, по шлейфу гор, 9 февраля 2003 г встречено два канюка этого вида.

**Беркут (*Aquila chrysaetos*)** В районе наших наблюдений этот орел отмечался регулярно. В районе Бартогайского водохранилища (западный берег), одиночные взрослые птицы встречены - 22 декабря 2002 г и 18 ноября 2005 г. В восточной части Торайгыра, 8 февраля 2003 г отмечен один беркут. В урочище Сартау, 19 ноября 2005 г мы наблюдали 3 орлов, а 11-12 февраля 2006 г встречено 4 беркута.

**Бородач (*Gypaetus barbatus*)** В ущелье западнее Бартогайского водохранилища 22 декабря 2002 г видели одну взрослую птицу. В урочище Сартау 19 ноября 2005 г наблюдали пару взрослых бородачей и здесь же, 12 февраля 2006 г отмечена одна взрослая птица.

**Гималайский гриф (Кумай) (*Gyps himalayensis*)** За время наших наблюдений отмечались дважды: 9 февраля 2003 г 1 взрослую птицу видели в восточной части Торайгыра и 19 ноября 2005 г, пара взрослых кумаев кружилась над нижней частью урочища Сартау.

**Балобан (*Falco cherrug*)** У западной оконечности Торайгыра, 18 ноября 2005 г встречен один сокол.

**Дербник (*Falco columbarius*)** На восточном берегу Бартогайского водохранилища 12 февраля 2006 г отмечена одна самка дербника.

**Кеклик (*Alectoris chukar*)** В сухих невысоких горах восточной оконечности Заилийского Алатау, кеклик является обычной оседлой птицей, но численность его здесь по годам заметно меняется. Во время наших поездок: в Торайгыр 9-10 декабря 2000 г и в урочище Сартау 11-12 февраля 2006 г, мы встретили очень мало кекликов, и напротив, 22 декабря 2002 г, на Бартогае, 8-9 февраля в Торайгыре и 19 ноября 2005 г в урочище Сартау - кеклик был многочислен.

**Бородатая куропатка (*Perdix dauuricae*)** По нашим наблюдениям, бородатая куропатка, в рассматриваемом районе, заметно уступает кеклику, как по численности, так и по встречаемости. В восточной части Торайгыра, в сухом щебнистом русле, с редкими кустиками курчавки, 10 декабря 2000 г встречена стайка из 10 куропаток; 22 декабря 2002 г в ущелье западнее Бартогайского водохранилища, табунок из 15 птиц кормился (вместе с кекликами) в зарослях горной крапивы; 12 февраля 2006 г в долине р. Сартау отмечена группа из 4 особей.

**Сизый голубь (*Columba livia*)** Обитает в поселках и некоторых чабанских зимовках. В долине р. Сартау, 11-12 февраля 2006 г отмечено около сотни этих голубей.

Домовый сыч (*Athene noctua*) В лессовых обрывах на выходе из гор, в восточной части Торайгыра, 9 февраля 2003 г наблюдали пару сычей. На западном берегу Бартогайского водохранилища 18 ноября 2005 г, на километровой участке, встречено 4 одиночных сыча. В урочище Сартау, 12 февраля 2006 г, отмечена одна птица.

Рогатый жаворонок (*Eremophila alpestris*) По щебнистым межгорным долинам восточной части Торайгыра, 9-10 декабря 2000 г, постоянно встречались небольшие (3-5 особей) стайки этих жаворонков.

Сорока (*Pica pica*) По речной долине Сартау, 12 февраля 2006 г учтено 20 сорок, в основном у жилья человека.

Клушица (*Pyrhocorax pyrrhocorax*) В верхней части Ала-Байтала, 12 февраля 2006 г, наблюдали группу из 10 клушиц.

Чёрная ворона (*Corvus corone*) В окрестностях чабанских зимовок, в урочище Сартау, 11-12 февраля 2006 г отмечено 6 птиц.

Обыкновенный ворон (*Corvus corax*) На восточной окраине Торайгыра, 9 февраля 2003 г отмечена 1 птица. На восточном берегу Бартогайского водохранилища, по одной паре воронов отмечали- 15 ноября 2005 г и 12 февраля 2006 г. В последнем случае птицы кормились на падали.

Свиристель (*Bombycilla garrulus*) В восточной части Торайгыра 9 февраля 2003 г, наблюдали трех, кормящихся на арче, свиристелей.

Обыкновенная оляпка (*Cinclus cinclus*) На 5-километровой участке р. Сартау, от впадения её в р. Чилик и выше, 19 ноября 2005 г, отмечено 3 белобрюхие оляпки.

Крапивник (*Troglodytes troglodytes*) Одна птица наблюдалась в нижней части р. Сартау 19 ноября 2005 г.

Бледная завирушка (*Prunella fulvescens*) На рассматриваемой нами территории, это одна из характерных зимующих птиц. Чаще всего придерживается кустарников, растущих вдоль каменных осыпей и среди скальных выходов. Держится обычно в одиночку или сильно разреженными мелкими группами. Эта завирушка, встречалась во время всех наших поездок. За одну дневную экскурсию обычно отмечалось 5-6 (до 10) птиц.

Расписная синичка (*Leptopoeile sophiae*) Кочующие стайки этих птиц, встречались нам практически во время всех наших поездок. В Бартогае 22 декабря 2002 г отмечено 3 стайки по 5 особей; в восточной части Торайгыра 8-9 февраля 2003 г эта синичка была очень обычна; в урочище Сартау 20 ноября 2005 г встречено две стайки и здесь же 11-12 февраля 2006 г отмечены две группы по 7 и 8 особей.

Краснобрюхая горихвостка (*Phoenicurus erythrogaster*) Самку этой горихвостки видели 9 февраля 2003 г среди крупных обломков скал в нижней части ущелья на восточной окраине Торайгыра.

Чернозобый дрозд (*Turdus atrogularis*) В долине р. Сартау, при впадении ее в р. Чилик, а так же в арчевниках в верхней части хребта Ала-Байтал (левая сторона р. Сартау), 11-12 февраля 2006 г наблюдались одиночки и небольшие группы этих дроздов (по 3-5 особей), всего было отмечено около 50 птиц.

Чёрный дрозд (*Turdus merula*) Относительно редкая зимующая птица в рассматриваемом нами районе. Держится здесь преимущественно по дну ущелий или по северным склонам, с густыми кустами шиповника, барбариса и жимолости. В одном из ущелий восточной оконечности Торайгыра, одиночка отмечен 9 декабря 2000 г, в этом же месте, нескольких черных дроздов наблюдали 8 февраля 2003 г. В нижнем течении р. Сартау, в редком речном тугае, 19 ноября 2005 г отмечена одна птица, здесь же 12 февраля 2006 г -5 черных дроздов.

Деряба (*Turdus viscivorus*) Обычный зимующий вид. Отмечался во время всех наших поездок. В дневное время, дерябы рассредоточиваются по склонам южной экспозиции, где каждая птица занимает свою территорию. Обычно, это участок скалистого бокового гребня, с наличием кустов арчи, который хозяин защищает от других особей своего вида. На ночевку все птицы собираются в верхней части основного хребта, где расположены обширные заросли арчевого стланика. Так, днем 11 февраля 2006 г, на южных экспозициях Ала-Байтала (Сартау), дерябы отмечались только в одиночку, вечером же, в предвершинные арчевники, собралось на ночевку около 150 дроздов.

Князёк (*Parus cyanus*) Несколько синиц этого вида отмечено нами 10 декабря 2000 г по кустарникам северного склона, в восточной части Торайгыра.

Стенолаз (*Tichodroma muraria*) Немногочисленный, но очень характерный представитель зимней орнитофауны пустынных скалистых гор. Нами отмечался в следующие сроки: 10 декабря 2000 г -1 птица и 9 февраля 2003 г 2 (вместе) стенолаза, в восточной части Торайгыра. У

Бартогайского водохранилища 22 декабря 2002 г -1 птица. В урочище Сартау, на склонах Ала-Байтала, 20 ноября встретили одну птицу, а 12 февраля 2006 г, здесь же видели двух стенолазов.

Полевой воробей (*Passer montanus*) Встречен нами только у жилья человека. В долине р. Сартау, у чабанских зимовок, 12 февраля 2006 г было отмечено не менее 150 воробьев этого вида.

Красношапочный вьюрок (*Serinus pusillus*) В восточной части Торайгыра небольшие стайки (до 10 особей) этих вьюрков отмечали 10 декабря 2000 г и 8 февраля 2003 г. В одном из ущелий на западном берегу Бартогайского водохранилища, 22 декабря 2002 г, в зарослях горной крапивы, кормилась стайка из 20 вьюрков.

Седоголовый щегол (*Carduelis caniceps*) В долине р. Сартау, 12 февраля 2006 г наблюдали стайку из 30 седоголовых щеглов.

Горная чечётка (*Acanthis flavirostris*) В зимнее время эта чечётка в большом числе кочует по предгорным равнинам Семиречья, иногда залетая в горы. Нами, небольшая стая (до 30 особей) этих птиц была отмечена 22 декабря 2002 г на западном берегу Бартогайского водохранилища и такая же группа наблюдалась 8 февраля 2003 г в одном из ущелий на восточной оконечности Торайгыра.

Арчовая чечевица (*Carpodacus rhodochlamys*) На западном берегу Бартогайского водохранилища, по дну узких ущелий с кустами барбариса, 22 декабря 2002 г наблюдали одного взрослого самца и двух птиц в наряде самок. В восточной части Торайгыра, на склонах с зарослями арчи, 8-9 февраля отмечено несколько одиночных птиц. В урочище Сартау, 12 февраля 2006 г видели одного взрослого самца.

Красноухая овсянка (*Emberiza cioides*) Довольно обычная зимующая птица восточной части Заилийского Алатау. Чаще всего держится по дну ущелий и в нижней части горных склонов, поросших кустами спиреи и травянистой растительностью (злаки, полыни). Встречается обычно небольшими стаями по 5-20 особей. Отмечалась нами 22 декабря 2002 г - в Бартогае, 9 февраля 2003 г – в восточной части Торайгыра и 11-12 февраля 2006 г – в урочище Сартау.

Горы восточной оконечности Заилийского Алатау имеют характерный пустынный облик, здесь нет пояса лиственного леса, слабо развит травяной покров и лишь по дну ущелий и по склонам северной экспозиции, имеются кустарниковые заросли, состоящие из: жимолости, караганы, курчавки, спиреи и шиповника. Крупные деревья, растут здесь только по берегам рек – Чилика и Сартау. Все это сказывается и на видовом составе зимующих здесь птиц – он достаточно беден. Основу зимней авифауны ксерофитных низкогорий, составляют такие оседлые виды как - беркут, балобан, кеклик, бородачатая куропатка, сизый голубь, домовый сыч, рогатый жаворонок, сорока, черная ворона, ворон, обыкновенная оляпка, полевой воробей и красноухая овсянка. Часть из зимующих здесь видов, спускаются сюда с других высотных поясов гор, такие как – клушица, крапивник, бледная завирушка, расписная синичка, краснобрюхая горихвостка, стенолаз, красношапочный вьюрок и арчовая чечевица. Наконец ряд видов, прилетает в эти места с северных регионов: полевой лунь, тетеревиный, свиристель, темнозобый дрозд и горная чечетка. Во время кормовых перемещений, сюда залетают бородач и кумай. Численность большинства зимующих здесь видов – невысокая, исключением могут являться только кеклик, деряба и красноухая овсянка, но и они многочисленны только в отдельные, благоприятные для них, годы. Из 37 встреченных нами видов – четыре внесены в Красную книгу Казахстана – это беркут, бородач, кумай и балобан.

### Литература

1 Новиков Г.А. Полевые исследования по экологии наземных позвоночных. М., 1953, 490 с.

### Тұжырым

Қысқы бақылау кезіндегі жиналған мәліметтер бойынша, Шығыс Іле Алатау бөктеріндегі 37 түрден тұратын қыстайтын құстардың тізімі құралды. Сонымен қатар әр түрдің куні, орны, саны және кездесулері белгіленген.

### Summary

On the base of the long-term observations during winter season on the eastern part of Zailyisky Alatau mountainouse range, the annotated List (the number, observation,s date and habitats characteristic) of the 37 species of birds are given.

УДК 595.18

**\*Крупа Е. Г., \*\*Амиргалиев Н. А., \*\*Лопарева Т.Я., \*\*Исаева А. К., \*\*Биманбаева Б. Б.  
ЗООПЛАНКТОН ОЗЕРА АЛАКОЛЬ И ЕГО РАСПРЕДЕЛЕНИЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ  
МИНЕРАЛИЗАЦИИ И ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ВОДЫ**

(\*Институт зоологии, \*\*Казахский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства)

*Исследован зоопланктон озера Алаколь. Показана зависимость вертикального и горизонтального распределения фоновых видов и всего зоопланктона от минерализации и химического состава воды.*

В Алаколь-Сасыккольскую систему (юго-восточный Казахстан) входят четыре озера – Алаколь, Сасыкколь, Кошкарколь и Жаланашколь. Наиболее крупное и глубокое – бессточное озеро Алаколь. На севере и северо-востоке в него впадают реки Урджар, Хатынсу, Эмель, на юго-западе – Жаманты и Ырғайты.

Гидробиологические исследования озер Алакольской впадины начаты в конце 30-х годов прошлого века [1-7]. В опубликованных работах приводятся сведения по количественным показателям основных групп зоопланктона и составу доминирующих видов. Существенно меньшее внимание уделяется изучению закономерностей распределения зоопланктона в зависимости от факторов среды. Данная работа частично восполняет этот пробел.

#### Материалы и методы

Пробы зоопланктона отбирали летом 2002-2007гг. тотальным обловом толщи воды малой сетью Джеди. Всего обработано 156 проб зоопланктона. Идентификация и счет организмов производились с применением микроскопов МБС-10, МСХ-300 и определителей [8-11]. Для характеристики структуры сообщества находили среднее число видов на пробу (СЧВ), величину средней индивидуальной массы особи (m, мг), индекс разнообразия Шеннона-Уивера (Нч – расчисленный по численности, бит/экз, Нб – расчисленный по биомассе, бит/мг) [12]. Гидрохимический анализ проводился по общепринятым методикам [13]. Раздельное определение ионов калия и натрия осуществлялось методом пламенной фотометрии на ПФМ PLARHFO-4. Для выяснения связи между химическим составом воды и численностью зоопланктона находили коэффициенты корреляции Спирмэна (R, при p<0,05) [14].

#### Результаты и их обсуждение

По исследованной акватории минерализация воды изменялась от 0,8 до 9,5 г/дм<sup>3</sup>. Согласно среднемноголетним данным, наименьшими величинами показателя характеризовались северная и восточная части озера (таблица 1), находящиеся под влиянием рек Урджар, Хатынсу и Эмель. Минерализация воды южной и западной частей акватории была близка таковой открытого озера вследствие менее выраженного распресняющего влияния притоков Жаманты и Ырғайты. В зависимости от гидрологических условий средняя минерализация воды озера в межгодовом аспекте варьировала от 5,9 до 7,8 г/дм<sup>3</sup>.

**Таблица 1** – Минерализация (М.) и химический состав воды оз. Алаколь

| Часть акватории | г/дм <sup>3</sup> |                  |                  |                                  |                               |                               |                 |
|-----------------|-------------------|------------------|------------------|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|
|                 | М.                | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> | Na <sup>+</sup> + K <sup>+</sup> | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | Cl <sup>-</sup> |
| север           | 5,2±0,7           | 0,04±0,008       | 0,2±0,03         | 1,4±0,2                          | 0,8±0,09                      | 1,8±0,3                       | 0,8±0,1         |
| восток          | 6,3±0,5           | 0,04±0,005       | 0,2±0,02         | 1,8±0,1                          | 0,9±0,07                      | 2,4±0,2                       | 1,0±0,09        |
| юг              | 7,3±0,8           | 0,03±0,005       | 0,3±0,03         | 2,0±0,2                          | 1,0±0,1                       | 2,7±0,3                       | 1,1±0,2         |
| запад           | 7,5±0,4           | 0,03±0,003       | 0,4±0,007        | 2,2±0,05                         | 1,2±0,05                      | 2,6±0,2                       | 1,4±0,03        |

Пропорционально увеличению минерализации воды возрастали концентрации всех ионов (за исключением кальция) – R=0,799-0,990. Содержание кальция, а также величина отношения Ca<sup>2+</sup>/Cl<sup>-</sup> достоверно снижались (R=-0,730-0,960). Достоверное уменьшение величины отношения HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Cl<sup>-</sup> при увеличении суммарного содержания растворенных солей отмечалось только в 2002г. (R=-0,891), Mg<sup>2+</sup>/Cl<sup>-</sup> – в 2006г. (R=-0,602).

В составе зоопланктона было выявлено 135 видов, из которых постоянно встречались ракообразные *Ceriodaphnia reticulata*, *Alona rectangula*, *Mesocyclops leuckarti*, *Arctodiaptomus salinus*, коловратки *Keratella quadrata*, *Filinia longiseta*, в 2005г., помимо перечисленных, *Hexarthra oxyuris* и *H. fennica*. Зоопланктон пелагиали состоял из 8-12 видов. В приустьевых участках рек разнообразие

возрастало до 16-22 наименований за счет видов родов *Diaphanosoma*, *Ceriodaphnia*, *Thermocyclops*, *Daphnia*.

Обилие планктонных беспозвоночных изменялась в зависимости от глубины. Численности коловраток, также как и всего зоопланктона от прибрежной зоны до глубины 5,5м значимо не различались (таблица 2).

**Таблица 2** – Численность зоопланктона оз. Алаколь на различных глубинах, 2005 г.

| Глубина, м | Численность, тыс. экз/м <sup>3</sup> |           |           |             |
|------------|--------------------------------------|-----------|-----------|-------------|
|            | Rotifera                             | Cladocera | Copepoda  | Всего       |
| 1,2-2,4    | 464,5±16,9                           | 1,2±1,0   | 56,8±13,1 | 522,5±175,1 |
| 2,5-5,5    | 525,3±148,7                          | 0,09±0,05 | 28,1±5,2  | 553,6±148,1 |
| 16,0-23,5  | 54,1±31,6                            | 0,0±0,0   | 61,6±2,6  | 115,7±33,3  |

Достоверное снижение обилия коловраток, ветвистоусых и за счет коловраток всего сообщества происходило в глубоководной зоне (16,0-23,5м). Аналогичное снижение обилия планктонных беспозвоночных с глубиной отмечалось и ранее /15/. По сравнению с прибрежной и глубоководной зонами, статистически значимое снижение численности веслоногих наблюдалось на глубинах 2,5-5,5м, что связано с перераспределением доли в зоопланктоне Cyclopoida и Calanoida. Максимальная численность циклопов отмечалась в мелководной прибрежной, как правило, более распресненной зоне, а *A. salinus* – в глубоководной минерализованной (таблица 3). На средних глубинах (2,5-5,5м) высокого обилия достигали гексартры и керателла. По мере нарастания глубины снижалась численность брахионуса.

**Таблица 3** – Численность фоновых видов зоопланктона оз. Алаколь на различных глубинах, 2005 г.

| Глубина, м | Численность, тыс. экз/м <sup>3</sup> |                   |                     |                      |                    |                   |                   |
|------------|--------------------------------------|-------------------|---------------------|----------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
|            | <i>A. salinus</i>                    | <i>T. crassus</i> | <i>M. leuckarti</i> | <i>B. plicatilis</i> | <i>K. quadrata</i> | <i>H. fennica</i> | <i>H. oxyuris</i> |
| 1,2-2,4    | 24,3±7,2                             | 2,8±2,7           | 27,0±10,5           | 64,4±31,7            | 45,2±11,5          | 97,7±50,0         | 115,6±83,9        |
| 2,5-5,5    | 17,2±4,3                             | 1,1±0,7           | 7,7±1,7             | 27,3±13,8            | 65,3±19,5          | 184,4±60,8        | 182,0±70,3        |
| 16,0-23,5  | 59,3±2,9                             | 0,0±0,0           | 1,6±0,7             | 2,5±2,0              | 24,6±18,5          | 18,6±9,3          | 0,0±0,0           |

В глубоководной зоне за счет ослабления роли циклопов и коловраток и усиления доминирования *A. salinus* достоверно снижались значения индекса разнообразия Шеннона-Уивера (таблица 4), при одновременном уменьшении среднего числа видов на пробу и возрастании величины средней индивидуальной массы зоопланктона.

**Таблица 4** – Структурные показатели зоопланктона оз. Алаколь на различных глубинах, 2005 г.

| Глубина, м | Структурные показатели |             |            |               |
|------------|------------------------|-------------|------------|---------------|
|            | СЧВ                    | Нч, бит/экз | Нб, бит/мг | m, мг         |
| 1,2-2,4    | 14,5±1,1               | 2,50±0,10   | 1,86±0,22  | 0,0033±0,001  |
| 2,5-5,5    | 12,8±0,8               | 1,82±0,16   | 1,62±0,18  | 0,0032±0,0007 |
| 16,0-23,5  | 8,3±0,6                | 1,56±0,19   | 0,56±0,15  | 0,0059±0,0005 |

Распределение зоопланктона по акватории подчинялось следующим закономерностям. При среднемноголетней численности планктонных беспозвоночных 92,5±54,5 тыс. экз/м<sup>3</sup>, наиболее высокие величины показателя отмечались в восточной и северной частях – 279,5±222,0 и 103,0±64,5 тыс. экз/м<sup>3</sup>. Наименьшим обилием характеризовалось сообщество южной части – 25,1±6,2 тыс. экз/м<sup>3</sup>. Западная часть озера по численности зоопланктона занимала промежуточное положение – 87,3±59,7 тыс. экз/м<sup>3</sup>.

Повсеместно доминировали коловратки, со среднемноголетней численностью 74,9±50,8 тыс. экз/м<sup>3</sup>. Субдоминировали веслоногие – 14,8±4,4 тыс. экз/м<sup>3</sup>, при низкой численности ветвистоусых – 2,8±0,6 тыс. экз/м<sup>3</sup>. Их количество несколько возрастало лишь в северной, наиболее опресненной части озера и, в меньшей степени, в восточной.

В пелагиали основу количественных показателей формировали коловратки рода *Brachionus*, в отдельные годы *K. quadrata*, *H. oxyuris*, *H. fennica*, из ракообразных – *A. salinus*. В приустьевых



пространствах рек, на севере и востоке озера, в отдельные годы по биомассе доминировали *Asplanchna sp. (herricki\*brightwelli)*, *M. leuckarti*, *C. reticulata*.

При схожем составе доминирующих видов, максимальные средние численности гексартры, брахионусов и керателлы отмечались на востоке (таблица 5), при среднемноголетней величине минерализации воды  $6,3 \pm 0,5$  г/дм<sup>3</sup>, *C. reticulata* и *T. crassus* – на севере (минерализация воды  $5,2 \pm 0,7$  г/дм<sup>3</sup>), *Asplanchna sp.* – на севере и востоке ( $5,2-6,3$  г/дм<sup>3</sup>), а *A. salinus* – на юге ( $7,3 \pm 0,8$  г/дм<sup>3</sup>).

**Таблица 5** – Численность (тыс. экз/м<sup>3</sup>) фоновых видов зоопланктона по различным частям акватории оз. Алаколь, 2002-2007 гг.

| Вид                      | Часть акватории |           |           |           | Среднее   |
|--------------------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                          | юг              | запад     | восток    | север     |           |
| <i>H. fennica</i>        | 3,1±1,2         | 22,9±21,9 | 57,2±55,5 | 14,7±13,5 | 37,5±28,1 |
| <i>B. plicatilis</i>     | 2,5±1,0         | 0,8±0,6   | 30,0±15,2 | 1,2±0,8   | 14,0±6,0  |
| <i>B. quadridentatus</i> | 2,4±1,2         | 8,9±3,7   | 18,2±5,0  | 11,5±4,8  | 11,3±2,4  |
| <i>K. quadrata</i>       | 1,3±1,1         | 14,3±10,1 | 18,8±17,2 | 4,5±3,6   | 10,9±5,7  |
| <i>A. salinus</i>        | 14,7±6,3        | 7,5±3,4   | 3,3±1,5   | 8,4±3,4   | 7,6±1,7   |
| <i>M. leuckarti</i>      | 1,0±0,5         | 5,5±3,2   | 7,1±3,1   | 5,2±2,4   | 5,2±1,4   |
| <i>Asplanchna sp.</i>    | 0,03±0,03       | 0,7±0,5   | 2,1±1,7   | 2,1±1,5   | 1,4±0,7   |
| <i>C. reticulata</i>     | 0,01±0,005      | 0,05±0,04 | 0,3±0,1   | 1,7±1,0   | 0,6±0,3   |
| <i>T. crassus</i>        | <0,01           | 0,1±0,1   | 0,5±0,2   | 1,6±0,8   | 0,7±0,3   |

Важнейшим фактором, определяющим различия по акватории количественных показателей фоновых видов, являлись минерализация и химический состав воды. По характеру и направленности выявленных достоверных корреляционных зависимостей между численностью популяций и химическим составом воды можно выделить эвригалинные виды *B. quadridentatus*, *H. fennica* и *A. salinus* (положительная корреляция с абсолютными концентрациями ионов и минерализацией воды, отрицательная с  $Ca^{2+}/Cl^-$  и  $HCO_3^-/Cl^-$ ) (таблица 6). Для видов Cladocera и циклопа *M. leuckarti* отмечался иной характер зависимости (отрицательная корреляция с абсолютными концентрациями ионов и минерализацией воды, положительная корреляция с величинами отношений  $Ca^{2+}/Cl^-$ ,  $Mg^{2+}/Cl^-$  и  $HCO_3^-/Cl^-$ ). Связь с отношением  $K^+/Na^+$  проявлялась только для *T. crassus* и была положительной, при отсутствии зависимости распределения популяции этого вида от других химических факторов.

Отсутствовали зависимости между численностью всего зоопланктона и химическим составом и минерализацией воды, что обусловлено различной степенью эвригалинности входящих в сообщество видов и разнонаправленностью изменений численности их популяций при увеличении суммарного содержания растворенных солей. Последний фактор обуславливал также наличие или отсутствие достоверных зависимостей между численностью отдельных видов и химическим составом воды в различные по водности годы.

Между численностью *A. salinus*, наиболее эвригалинного из рассматриваемых видов, и химическими факторами достоверные зависимости проявлялись преимущественно в многоводный 2005г., при средней минерализации воды  $7,4$  г/дм<sup>3</sup>. При увеличении суммарного содержания растворенных солей в 2007г. до  $7,8$  г/дм<sup>3</sup>, химический состав воды не оказывал достоверного влияния на распределение популяции этого вида. Обратная картина наблюдалась для *B. quadridentatus* и *M. leuckarti*, для которых связь с химическим составом воды, различная по характеру, отмечалась в маловодный 2007г., при средней минерализации воды  $7,8$  г/дм<sup>3</sup>, и отсутствовала (2006г.) или проявлялись лишь с некоторыми соотношениями ионов (2005г.) при меньшей величине показателя ( $7,2-7,4$  г/дм<sup>3</sup>).

Полученные нами результаты свидетельствовали, что достоверные зависимости между численностью популяций фоновых видов зоопланктона озера Алаколь и химическими факторами проявлялись в отдельных случаях. Это связано с тем, что при широкой степени эвригалинности фоновых видов, их популяции максимальной численности достигали в более узких пределах изменения минерализации воды (таблица 7), и линейные корреляционные связи отмечались только при условии существенного отклонения химических показателей от некоторых оптимальных значений. Как правило, в еще более узких пределах изменения минерализации воды встречались половозрелые особи веслоногих. При этом для каждого из фоновых видов оптимальные величины

минерализации воды зависели не только от абсолютных суммарных концентраций растворенных солей, но, в большей степени, определялись химическим составом вод.

**Таблица 6** – Коэффициенты корреляции Спирмэна между численностью зоопланктона и химическим составом воды оз. Алаколь

| Группа, вид* | Год  | Ca <sup>2+</sup>                            | Mg <sup>2+</sup> | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> | Cl     | Ca <sup>2+</sup> /Cl | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /Cl | Mg <sup>2+</sup> /Cl | Мин.   |
|--------------|------|---------------------------------------------|------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------|----------------------|-----------------------------------|----------------------|--------|
|              |      | Коэффициент корреляции Спирмэна, $r < 0,05$ |                  |                               |                               |        |                      |                                   |                      |        |
| <i>B. q.</i> | 2002 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -0,557                            | -                    | -      |
|              | 2005 | -0,474                                      | 0,459            | -                             | -                             | -      | -0,512               | -                                 | -                    | -      |
|              | 2006 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -                                 | -                    | -      |
|              | 2007 | -                                           | 0,651            | 0,637                         | -                             | 0,690  | -                    | -                                 | -                    | 0,616  |
| <i>H. f.</i> | 2002 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -                                 | -                    | -      |
|              | 2005 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -                                 | -0,460               | -      |
|              | 2006 | -                                           | 0,529            | -                             | -                             | 0,572  | -                    | -0,790                            | -0,530               | -      |
| <i>Asp.</i>  | 2005 | -                                           | -                | 0,517                         | -                             | -      | -                    | -                                 | 0,548                | -      |
| <i>K. q.</i> | 2005 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -0,504                            | -                    | -      |
|              | 2006 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -0,659                            | -                    | -      |
|              | 2007 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | 0,540                | -                                 | -                    | -      |
| Cld          | 2002 | -                                           | -                | -                             | -0,520                        | -      | 0,497                | 0,535                             | 0,586                | -      |
|              | 2005 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -                                 | 0,631                | -      |
|              | 2006 | -                                           | -                | -0,510                        | -0,563                        | -      | -                    | -                                 | -                    | -0,567 |
|              | 2007 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -                                 | -                    | -      |
| <i>C. r.</i> | 2005 | 0,453                                       | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -                                 | -                    | -      |
| Cop          | 2007 | 0,553                                       | -0,596           | -0,575                        | -0,561                        | -0,598 | 0,653                | -                                 | -                    | 0,631  |
| <i>M. l.</i> | 2005 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -                                 | 0,605                | -      |
|              | 2006 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -                                 | -                    | -      |
|              | 2007 | 0,672                                       | -0,740           | -0,715                        | -0,809                        | -0,785 | 0,753                | -                                 | -                    | -0,828 |
| <i>A. s.</i> | 2005 | -                                           | 0,520            | 0,485                         | -                             | 0,516  | -                    | -                                 | -                    | 0,471  |
|              | 2006 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -0,505                            | -                    | -      |
|              | 2007 | -                                           | -                | -                             | -                             | -      | -                    | -                                 | -                    | -      |

\*Примечание: *B. q.* – *B. quadridentatus*, *H. f.* – *H. fennica*, *Asp.* – *Asplanchna sp.*, *K. q.* – *K. quadrata*, Cld – Cladocera, *C. r.* – *C. reticulata*, Cop – Copepoda, *M. l.* – *M. leuckarti*, *A. s.* – *A. salinus*.

Наглядно это демонстрирует сравнение видового состава зоопланктона двух озер одной системы – Алаколь, с минерализацией воды до 9,7 г/дм<sup>3</sup>, и Восточного Балхаша, с минерализацией воды до 5,9 г/дм<sup>3</sup>. В состав фоновых видов зоопланктона обоих водоемов входили ракообразные *A. salinus*, *M. leuckarti*, *T. crassus*, при отсутствии достоверных различий средних значений численности их популяций между озерами. При этом в более минерализованных условиях озера Алаколь по всей акватории доминировали коловратки, в то время как эта группа не играла заметной роли в зоопланктоне восточной части озера Балхаш, при существенно меньших суммарных концентрациях растворенных солей.

На наш взгляд, указанные различия обусловлены в первую очередь особенностями химического состава воды озер. При более высоких абсолютных концентрациях всех анионов и катионов в воде озера Алаколь (за исключением кальция и калия), по сравнению с восточной частью оз. Балхаш, основное значение для гидробионтов имели различия по абсолютному содержанию и соотношению ионов щелочных металлов. Ранее нами было показано наличие достоверных отрицательных корреляций между обилием фоновых видов ракообразных Восточного Балхаша и отношением  $K^+/Na^+ / 17$ , при средних концентрациях калия 0,06-0,07, натрия 0,8-0,9 г/дм<sup>3</sup> и величине отношения  $K^+/Na^+$  0,060-0,095. В озере Алаколь, при существенно меньшем содержании калия (0,006-0,022 г/дм<sup>3</sup>), большем количестве натрия (1,6-1,7 г/дм<sup>3</sup>) и, соответственно, меньшей величине отношения  $K^+/Na^+$  (0,012-0,020), достоверная связь с  $K^+/Na^+$  проявлялась только для *T. crassus* и была положительной. Это обусловлено тем, что в озере Алаколь при увеличении минерализации воды рост концентраций натрия ( $R=0,932$ ,  $p<0,05$ ) и калия ( $R=0,799$ ,  $p<0,05$ ) происходит с различной интенсивностью, поэтому величина отношения  $K^+/Na^+$  в указанном направлении достоверно

снижается ( $R=-0,657$ ,  $p<0,05$ ). Сказанное справедливо и в отношении других минерализованных водоемов Казахстана, в которых в ряде случаев популяции рассмотренных видов встречались при существенно более высоких или более низких значениях минерализации воды, чем в озерах Алаколь и Балхаш.

**Таблица 7** – Встречаемость некоторых видов зоопланктона при различной минерализации воды

| Вид                                    | Минерализация воды, г/дм <sup>3</sup> |                           |                           |
|----------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                                        | водоемы Казахстана                    | Алаколь*                  | Восточный Балхаш*         |
| <i>H. fennica</i>                      | до 5,9**                              | <u>3,5-9,4</u><br>6,4-9,2 | единично                  |
| <i>B. plicatilis</i>                   | до 37,1**                             | <u>0,8-9,7</u><br>3,5-8,4 | отсутствует               |
| <i>B. quadridentatus</i>               | 0,4-78,1**                            | <u>0,8-9,7</u><br>2,1-7,0 | единично                  |
| <i>K. quadrata</i>                     | 0,4-5,9**                             | <u>0,8-9,7</u><br>4,3-8,4 | единично                  |
| <i>Asplanchna sp.</i>                  | нет данных                            | <u>2,4-9,7</u><br>4,9-7,9 | отсутствует               |
| <i>C. reticulata</i>                   | нет данных                            | <u>0,8-9,4</u><br>0,8-4,9 | отсутствует               |
| <i>A. salinus</i>                      | <u>0,5-231,7</u><br>4,2-18,0          | <u>0,8-9,7</u><br>3,6-9,4 | <u>0,5-5,9</u><br>0,6-5,9 |
| половозрелые особи <i>A. salinus</i>   | нет данных                            | 0,8-9,7                   | до 4,5-5,7                |
| <i>M. leuckarti</i>                    | до 1,5                                | <u>0,8-9,7</u><br>2,0-8,4 | <u>0,5-5,9</u><br>0,8-3,6 |
| половозрелые особи <i>M. leuckarti</i> | нет данных                            | до 4,5                    | 0,5-5,9                   |
| <i>T. crassus</i>                      | до 1,4                                | <u>1,0-7,0</u><br>3,6-7,0 | <u>0,5-5,9</u><br>0,5-4,9 |
| половозрелые особи <i>T. crassus</i>   | нет данных                            | до 3,6                    | 0,5-4,9                   |

Примечание: \* числитель – минерализация воды, при которой встречен вид, знаменатель – минерализация воды, при которой популяция достигала максимальной численности, \*\* по: /16/.

Таким образом, своеобразный химический состав воды озера Алаколь (высокие концентрации натрия, низкое количество калия, происходящий с различной интенсивностью рост содержания щелочных металлов при увеличении минерализации воды, при одновременном снижении величины отношения  $K^+/Na^+$ ) может обуславливать отмеченный максимум численности популяций водных беспозвоночных при некоторых значениях минерализации воды, когда оптимальны как величины отношения  $K^+/Na^+$ , так и общая сумма растворенных солей.

#### Литература

- 1 Савина Н.О., Самонов А.М. Сырьевая база и кормовые ресурсы внутренних водоемов Казахстана (система озер Алаколь) // Фонды КазНИИРХ. – Алма-Ата, 1940. – 43 с.
- 2 Малиновская А.С. Кормовая база Алакольских озер и ее использование рыбами // Сборник работ по ихтиологии и гидробиологии. – 1959. – Вып. 2. – С. 116–144.
- 3 Логиновских Э.В. Кормовая база Алакольских озер и ее использование рыбами // Вопросы географии Казахстана. – 1965. – Вып. 12. – С. 223–235.
- 4 Стуге Т.С. О зоопланктоне Алакольских озер // Проблемы охраны и устойчивого использования биоразнообразия животного мира Казахстана: материалы международной конференции. – Алматы: Thetys, 1999. – С. 146-147.
- 5 Шарапова Л.И. Состояние планктофауны Алакольской системы озер в конце 90-х годов // Проблемы охраны и устойчивого использования биоразнообразия животного мира Казахстана: мат. междуна. науч. конф. – Алматы: Thetys, 1999. – С. 159–160.
- 6 Шарапова Л.И. Разнообразие и продуктивность современных зоопланктоценозов Алакольской системы озер // Зоологические исследования в Казахстане: мат. междуна. науч. конф. – Алматы: МОН РК, НАН РК, 2002. – С. 193–194.

7 Шарипова Л.И., Крупа Е.Г., Эпова Ю.В., Фаломеева А.П., Трошина Т.Т. Потребление рыбой кормовых беспозвоночных в пресноводной части Алакольской озерной системы // *Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Республики Казахстан, Сибири, Монголии, Кыргызстана: мат. междунар. конф.* – Алматы: Бастау, 2005. – С. 158–159.

8 Мануйлова Е.Ф. *Ветвистоусые рачки фауны СССР.* – М., Л.: Наука, 1964. – 328 с.

9 Кутикова Л.А. *Коловратки фауны СССР.* – Л.: Наука, 1970. – 744 с.

10 Рылов В. М. *Фауна СССР. Ракообразные. Cyclopoidea пресных вод.* – Т. 3, вып. 3. – М., Л.: АН СССР, 1948. – 320 с.

11 *Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий.* – СПб.: Наука, 1995. – 628 с.

12 Мэгарран Э. *Экологическое разнообразие и его измерение.* – М.: Мир, 1998. – 184 с.

13 Алевин О.А. *Жизнь пресных вод. Методы исследования физических свойств и химического состава вод.* – М.: АН СССР, 1973. – Т. 4. – С. 213-298.

14 Боровиков В. *Statistica. Искусство анализа данных на компьютере.* – Москва, СПб.: Питер, 2003. – 688 с.

15 Логиновских Э.В., Дюсенгалиев Т. *Количественная характеристика зоопланктона Алакольских озер // Рыбные ресурсы водоемов Казахстана и их использование.* – 1972. – Вып. 7. – С. 89–93.

16 Стуге Т.С. *О зоопланктоне соленых озер Казахстана. Сообщение 1. Озера Павлодарской и Кокшетауской областей // Selevinia.* 1995. – 1. – С.35-41.

17 Krupa E. G., Stuge T. S., Lopareva T. Ya., Shaukharbaeva D. S. *Distribution of Planctonic Crustaceans in Lake Balkhash in Relation to Environmental Factors // Inland Water Biology.* – 2008. – Vol. 1. – № 2. – P. 150-157.

#### Тұжырым

Басты түрлердің саны бойынша таралуы мен барлық зоопланктонның Алакөл көл акваториясы бойынша таралуы зерттелінді. Зерттеу көрсеткендей, планктондық қауымдастыққа негізгінен судың химиялық құрамы мен минерализациясы әсер етті.

#### Summary

Zooplankton distribution of Alakol Lake was investigated. It was shown, that the zooplankton distribution depends on water mineralization and chemical composition.

УДК 576.895

### Сапарбаева А.А., Есенбекова П.А. СОЛТҮСТІК ТЯНЬ-ШАНЬ ТАУ ЕТЕГІ СУ ҚОЙМАЛАРЫНЫҢ ҚАНСОРҒЫШ МАСАЛАРЫ (*Diptera, Culicidae*) (Зоология институты)

2009 жылдың зерттеулері нәтижесінде Шарын, Лавар, Қарасу, Балхаш, Іле бассейндеріндегі 26 су қоймаларынан қансорғыш масалардың 9 түрі анықталды: *Aedes caspius*, *Aedes caspius dorsalis*, *Culex pipiens*, *Culex modestus*, *Anopheles hyrcanus*, *Anopheles maculipennis*, *Culex pusillus*, *Anopheles sp.*, *Culiseta sp.*

Республикамызда кеңінен тараған жәндіктердің бірі - қансорғыш масалар. Қазіргі кезде жер шарында қансорғыш масалардың үш мыңнан астам түрі белгілі, олардың бұрынғы КСРО территориясында 109 түрі, ал Қазақстанда 53 түрі белгілі болып отыр. А.М.Дубицкийдің [1-3] деректеріне қарасақ, Республикамызда мекендейтін қансорғыш масалар алты туысқа жатады: *Anopheles* туысының алты түрі, *Culiseta* туысының - 6, *Aedes* туысының - 31, *Culex* туысының - 8, *Uranotaenia* мен *Mansonia* туыстарының бір-бір түрлері бар.

Масалар адам мен жануарларға көп зиян келтіріп, 102 түрлі ауру қоздырғыштарын таратады, мысалы: безгек, туляремия, топалаң, қарасан, анаплазмоз және т.б. [1]. Сондықтан олармен күресу, алдын-ала сақтану шаралары әр уақытта жақсы жолға қойылуы үшін ең алдымен қансорғыш масалардың тіршілік ететін су қоймаларын және түр құрамын анықтау қажет. Сонымен қатар биологиялық және экологиялық ерекшеліктері де анықталуы тиіс.

Дала зерттеу және бақылау жұмыстары 2009 жылдың мамыр-тамыз айларында Солтүстік Тянь-Шань тау етегіндегі Шарын, Лавар, Қарасу, Қаскелең, Іле өзендері бассейндегі ашық, жайылма, таяз,

тұрақты, уақытша пайда болған су қоймаларында жүргізілді. Масалар өсіп көбейетін су қоймалары 3 топқа бөлінді: 1) ашық су қоймалары (су беті таза немесе 10% су өсімдіктері өскен); 2) су беті жартылай су өсімдіктерімен өскен (30-50% су өсімдіктері өскен); 3) су өсімдіктерімен қалың өскен су қоймалары (су бетінің 60%-нан артығына су өсімдіктері өскен). Аталған су қоймаларындағы су температурасы 15-25<sup>0</sup>С аралығында болды. Масалардың түр құрамын, сан мөлшерінің көп тарағанын, көбею орнын анықтау үшін масалар көп тіршілік ететін су қоймаларынан шеңбері 20 см су сүзгісін пайдаланып, масалардың әртүрлі даму сатысындағы дернәсілдері жиналды. Маса дернәсілдерінің сан мөлшерін анықтау үшін су сүзгісімен әртүрлі су қоймаларынан 5-10 жерінен сынамалар алынды. Сынамадағы барлық маса дернәсілдерін санап, оны алынған сынама сан мөлшеріне бөліп, орта саны белгіленді. Сонан кейін судың бір шаршы метрдегі сан мөлшері шығарылды. Әртүрлі су қоймаларында 1 м<sup>2</sup>-де 850-ден 2560 маса дернәсіліне дейін кездесті. Маса дернәсілдері 70<sup>0</sup>С спирті бар ыдыстарда бекітіліп, зертханаға жеткізілді. Ересек масалар эксгаустрмен ұсталды. Зертхана жағдайында МБС-10 микроскопы қолданылып, А.В. Гуцевич және т.б. [2], А.М. Дубицкий [3], А.С. Мончадскийдің [4] анықтамалары пайдаланылып, көбінесе масалардың IV даму сатысындағы дернәсілдерімен анықталды.

Шарын өзені маңындағы жайылма сулардан маса дернәсілдерінің 418 сынамасы алынып, зертханалық зерттеулер нәтижесінде *Aedes caspius*, *Aedes caspius dorsalis*, *Culex pipiens* маса түрлері, Лавар өзені қалдық суларынан алынған 184 сынамадан *Culex modestus*, *Anopheles hyrcanus*, *Anopheles maculipennis* маса түрлері, Қарасу өзені жайылма және қалдық суларынан алынған 137 сынамадан *Culex modestus*, *Anopheles sp.* және *Culiseta sp.* туыстары өкілдері анықталды. Балқаш ауданындағы Миялы елді мекені маңындағы Іле өзенінің жайылма қалдық суларынан 53 сынама жиналып, одан *Aedes caspius*, *Culex pusillus* түрлері, ал Іле ауданындағы Дмитриевка елді мекені маңындағы қалдық сулардан алынған 15 сынамадан *Culex modestus*, *Culex pipiens*, *Anopheles maculipennis* түрлері анықталды.

Осы аталған су қоймаларынан қансорғыш масалардың 9 түрі анықталды: *Aedes caspius*, *Aedes caspius dorsalis*, *Culex pipiens*, *Culex modestus*, *Anopheles hyrcanus*, *Anopheles maculipennis*, *Culex pusillus*, *Anopheles sp.*, *Culiseta sp.*

Шарын, Лавар, Қарасу, Іле бассейндеріндегі әртүрлі 26 су қоймаларынан қансорғыш масалардың 9 түрі анықталды: *Aedes caspius*, *Aedes caspius dorsalis*, *Culex pipiens*, *Culex modestus*, *Anopheles hyrcanus*, *Anopheles maculipennis*, *Culex pusillus*, *Anopheles sp.*, *Culiseta sp.* Кездескен маса түрлерінің ішінде сан жағынан жаз айларында барлық су қоймаларында көп кездескен түрлер - *Culex pipiens*, *Culex modestus*. Шарын мен Лавар су қоймаларында *Aedes caspius*, Шарында *Aedes caspius dorsalis* түрлері басқа түрлермен салыстырғанда басым кездесті.

#### Әдебиеттер

- 1 Гуцевич А.В. Новый вид кровососущего комара из Казахстана. Энтомологическое обозрение. 1962. Т. XLI. № 4. С. 90-91.
- 2 Гуцевич А.В., Мончадский А.С., Штакельберг А.А. Фауна СССР. Насекомые двукрылые. Л., 1970. Т. 3, выпуск 4. 384 с.
- 3 Дубицкий А.М. Кровососущие комары Казахстана. Алматы. 1970. Изд. «Наука». 222 с.
- 4 Мончадский А.С. Личинки кровососущих комаров. М.-Л. 1951. 290 с.

#### Резюме

В результате исследований 2009 г. из бассейнов рек Чарын, Лавар, Карасу, Или выявлено 9 видов кровососущих комаров: *Aedes caspius*, *Aedes caspius dorsalis*, *Culex pipiens*, *Culex modestus*, *Anopheles hyrcanus*, *Anopheles maculipennis*, *Culex pusillus*, *Anopheles sp.*, *Culiseta sp.*

#### Summary

The a result of scientific research of Charyn, Lavar, Karasy, Ily rivers 9 types of mosquitoes been found: *Aedes caspius*, *Aedes caspius dorsalis*, *Culex pipiens*, *Culex modestus*, *Anopheles hyrcanus*, *Anopheles maculipennis*, *Culex pusillus*, *Anopheles sp.*, *Culiseta sp.*

УДК 595.735

Смирнова Д.А.  
**ВЕСНЯНКИ (*Plecoptera*) ЗАИЛИЙСКОГО АЛАТАУ:  
ИЗУЧЕННОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**  
(ТОО «Казахстанское агентство прикладной экологии»)

Приведена история изучения веснянок (*Plecoptera*) Средней Азии. Представлен таксономический состав веснянок отдельных районов, в частности Северного Тянь-Шаня, к которому относится Заилийский Алатау. Дан обзор основных публикаций по фауне региона. В настоящее время для Средней Азии известно 53 вида веснянок, для Северного Тянь-Шаня – 18, для Заилийского Алатау – 6.

Веснянки (*Plecoptera*) – широко распространенный отряд амфибиотических насекомых с неполным превращением. Продолжительность крылатой половозрелой стадии имаго коротка – несколько дней или недель. Наиболее длительный период жизни (от одного года до пяти лет) веснянки проводят в стадии яйца и личинки, являясь одним из основных компонентов бентосных сообществ текучих вод. Личинки веснянок обитают преимущественно в горных водотоках с чистой, холодной, насыщенной кислородом водой. Практическое значение этой группы гидробионтов велико. Благодаря массовому развитию веснянки играют заметную роль в функционировании речных экосистем. Веснянки входят в спектры питания рыб, а хищные личинки составляют конкуренцию в питании последних. На личиночной стадии веснянки наиболее чувствительны к любому типу загрязнений и поэтому успешно используются как биологические индикаторы.

В мировой фауне насчитывается более 3497 видов веснянок [1]. Наиболее хорошо изучена фауна веснянок Европы и Северной Америки. Но даже, несмотря на это, в последнюю четверть века ежегодно в Европе описываются в среднем 2,6 вида веснянок. Сравнительно хорошо изучены веснянки Австралии, Тасмании и Новой Зеландии. Сведения о веснянках Центральной и Южной Америки не полные и не отражают реального разнообразия этой группы. Знания об азиатских веснянках, за исключением Японии и Российского Дальнего Востока, чрезвычайно бедны [1].

До середины 60-х годов нашего века специальные исследования фауны веснянок Средней Азии, к которой относятся горы Южного и Юго-восточного Казахстана (Западный и Северный Тянь-Шань, Джунгарский Алатау) [2], не проводились. Большая часть данных носила характер попутных сборов в ходе различных экспедиций (экспедиции А.П. Федченко, В.Н. Шнитникова и др.) Коллекции насекомых, собранные в этих экспедициях, хранились в музеях различных организаций. Обработывались они не сразу, сведения оказывались разбросанными и публиковались в различных специальных изданиях (статьях, монографиях) таксономического характера.

Первые сведения о веснянках Средней Азии появились после опубликования результатов путешествия А.П. Федченко в Туркестан [3].

В 1869 году супруги Федченко изучали окрестности Самарканда и плодородную Зеравшанскую долину, в 1870-м — Туркестанский, Зеравшанский и Гиссарский хребты. Самые большие и интересные маршруты А.П. Федченко осуществил в 1871 году, когда прошел Присырдарьинскую часть пустыни Кызылкум, Ферганскую долину, а также предгорья Памира, — в то время еще не существовало ни одной достоверной карты этой территории. Сборы имаго веснянок этих экспедиций были обработаны Р. Мак Лахланом и результаты обработки опубликованы в 1875 году [3]. Р. Мак Лахланом были описаны 7 новых для науки видов веснянок, указаны 3 европейских вида, а также сказано, что в коллекции имеются 3-4 вида *Chloroperla* и 2 вида *Capnia*, которые не определены и не описаны.

В сводке Г.Г. Якобсона и В.Л. Бианки [4] перечислены виды, указанные и описанные Р.Мак Лахланом ранее [3], добавлен, описанный последним в 1886 году *Chloroperla capnoptera* [5], а также еще три европейских вида.

До 1969 года различными авторами для Средней Азии описано еще 11 видов, в том числе и из коллекции, собранной А.П. Федченко [6-12].

С середины 60-х годов прошлого века Л.А. Жильцовой начинается планомерное изучение веснянок Средней Азии. Экспедициями этих лет в основном были охвачены Памир, Гиссаро-Дарваз, некоторые районы Тянь-Шаня. В 1969 году ею по литературным данным для Средней Азии указано 28 видов и приводится описание 5 новых видов [13].

До 1979 года Л.А. Жильцова производит описание новых видов по материалам собственных экспедиций, а также по сборам, произведенным другими исследователями, в том числе хранящимися

в коллекциях различных организаций. Параллельно производится уточнение присутствия указанных ранее в литературе видов. По итогам этих работ к концу 70-х годов список веснянок Средней Азии расширился до 52 видов [14-22].

В 60-х -70-х годах прошлого столетия на территории Кыргызстана и Казахстана проводились гидробиологические исследования на горных реках, связанные с акклиматизацией лососевых рыб. Исследования, проведенные на территории Кыргызстана, позволяют уточнить границы распространения отдельных видов [23, 24]. Большинство гидробиологических работ, касающихся горных текучих водоемов, содержат лишь общие сведения о присутствии веснянок, определение систематического положения найденных личинок проведено в лучшем случае до рода, видовые определения нуждаются в проверке [25-27].

Самая последняя сводка сведений о веснянках России и сопредельных стран также содержит указание на присутствие в Средней Азии 52 видов веснянок [28]. В этой сводке для *Arcynopteryx compacta*, указанного Жильцовой ранее для Джунгарского Алатау [19], распространение в Средней Азии не значится, но мы его вносим в список. После 1979 года описан еще один новый вид - *Amphinemura varzobi* Zhiltzova [29].

Таким образом, список веснянок Средней Азии на настоящее время насчитывает 53 вида (Таблица 1). Из них в Северном Тянь-Шане обнаружено 18 видов, из которых в Заилийском Алатау достоверно известно 6 видов.

**Таблица** - Распространение веснянок (Plecoptera) в Средней Азии

| № | Семейство | Вид | Регион* |   |   |   |   |
|---|-----------|-----|---------|---|---|---|---|
|   |           |     | 1       | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2         | 3   | 4       | 5 | 6 | 7 | 8 |

Продолжение таблицы

| 1  | 2                       | 3                                                     | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|----|-------------------------|-------------------------------------------------------|---|---|---|---|---|
| 1  | <i>Perlodidae</i>       | <i>Filchneria olgae</i> McLachlan, 1875               | - | + | - | + | - |
| 2  | <i>Perlodidae</i>       | <i>Filchneria mongolica</i> Klapálek, 1901            | - | - | + | + | - |
| 3  | <i>Perlodidae</i>       | <i>Filchneria mesasiatica</i> Zhiltzova, 1971         | + | + | + | + | - |
| 4  | <i>Perlodidae</i>       | <i>Arcynopteryx compacta</i> McLachlan, 1892          | - | - | - | - | + |
| 5  | <i>Perlodidae</i>       | <i>Mesoperlina capnoptera</i> (McLachlan, 1886)       | - | + | - | - | - |
| 6  | <i>Perlodidae</i>       | <i>Mesoperlina ochracea</i> Klapálek, 1921            | - | + | + | + | - |
| 7  | <i>Perlodidae</i>       | <i>Mesoperlina pecirkai</i> Klapálek, 1921            | + | + | + | + | - |
| 8  | <i>Perlodidae</i>       | <i>Mesoperlina muricata</i> Koponen, 1949             | + | + | + | - | + |
| 9  | <i>Perlodidae</i>       | <i>Mesoperlina martynovi</i> Zhiltzova, 1970          | - | - | - | + | - |
| 10 | <i>Perlodidae</i>       | <i>Zhiltzovaia cachemirica</i> Aubert, 1959           | - | - | - | + | - |
| 11 | <i>Perlidae</i>         | <i>Agnetina cadaverosa</i> (McLachlan, 1875)          | - | - | - | + | - |
| 12 | <i>Perlidae</i>         | <i>Agnetina cocandica</i> (McLachlan, 1875)           | - | + | - | - | - |
| 13 | <i>Perlidae</i>         | <i>Agnetina immersa</i> (McLachlan, 1875)             | - | + | - | - | - |
| 14 | <i>Perlidae</i>         | <i>Agnetina pedata</i> (Koponen, 1949)                | + | + | + | - | - |
| 15 | <i>Chloroperlidae</i>   | <i>Xanthoperla curta</i> (McLachlan, 1875)            | + | + | + | + | - |
| 16 | <i>Chloroperlidae</i>   | <i>Xanthoperla gissarica</i> Zhiltzova et Zwick, 1971 | - | - | - | + | - |
| 17 | <i>Chloroperlidae</i>   | <i>Xanthoperla kishanganga</i> (Aubert, 1959)         | - | - | - | + | - |
| 18 | <i>Taeniopterygidae</i> | <i>Kyphopteryx brodskii</i> (Zhiltzova, 1972)         | + | - | - | - | - |
| 19 | <i>Taeniopterygidae</i> | <i>Kyphopteryx pamirica</i> Zhiltzova, 1972           | - | - | - | + | - |
| 20 | <i>Taeniopterygidae</i> | <i>Mesyatsia tianshanica</i> (Zhiltzova, 1972)        | - | + | - | - | - |
| 21 | <i>Nemouridae</i>       | <i>Amphinemura maracandica</i> (McLachlan, 1875)      | - | - | - | - | - |
| 22 | <i>Nemouridae</i>       | <i>Amphinemoura crenata</i> Koponen, 1949             | + | - | + | + | - |
| 23 | <i>Nemouridae</i>       | <i>Amphinemoura tragula</i> Kimmins, 1950             | - | - | - | + | - |
| 24 | <i>Nemouridae</i>       | <i>Amphinemoura zimmermanni</i> Joost, 1970           | + | + | + | - | - |
| 25 | <i>Nemouridae</i>       | <i>Amphinemoura gritsayae</i> Zhiltzova, 1971         | - | - | - | + | - |
| 26 | <i>Nemouridae</i>       | <i>Amphinemoura kustarevae</i> Zhiltzova, 1976        | + | - | + | - | - |

## Продолжение таблицы

| 1     | 2                 | 3                                                         | 4  | 5  | 6  | 7  | 8 |
|-------|-------------------|-----------------------------------------------------------|----|----|----|----|---|
| 27    | <i>Nemouridae</i> | <i>Amphinemura mirabilis turkestanica</i> Zhiltzova, 1978 | +  | -  | +  | -  | + |
| 28    | <i>Nemouridae</i> | <i>Amphinemura varzobi</i> Zhiltzova, 1989                | -  | -  | -  | +  | - |
| 29    | <i>Nemouridae</i> | <i>Mesonemoura vaillanti</i> (Navás, 1922)                | -  | -  | -  | +  | - |
| 30    | <i>Nemouridae</i> | <i>Mesonemoura tianshanica</i> (Zhiltzova, 1971)          | +  | +  | -  | +  | - |
| 31    | <i>Nemouridae</i> | <i>Nemoura hamulata</i> Zhiltzova, 1971                   | -  | -  | -  | -  | - |
| 32    | <i>Nemouridae</i> | <i>Nemoura lepnevae</i> Zhiltzova, 1971                   | +  | -  | +  | -  | - |
| 33    | <i>Nemouridae</i> | <i>Nemoura kopetdaghi</i> Zhiltzova, 1976                 | -  | -  | -  | +  | - |
| 34    | <i>Nemouridae</i> | <i>Nemoura alaica</i> Zhiltzova, 1976                     | -  | -  | -  | +  | - |
| 35    | <i>Nemouridae</i> | <i>Nemoura almaatensis</i> Zhiltzova, 1979                | +  | -  | -  | -  | - |
| 36    | <i>Nemouridae</i> | <i>Nemoura cinerea</i> (Retzius, 1783)                    | -  | -  | -  | +  | - |
| 37    | <i>Nemouridae</i> | <i>Illiesonemoura ornata</i> (McLachlan, 1875)            | -  | +  | -  | +  | - |
| 38    | <i>Nemouridae</i> | <i>Illiesinemoura alabeli</i> (Zhiltzova, 1971)           | +  | +  | -  | -  | - |
| 39    | <i>Capniidae</i>  | <i>Eucapnopsis stigmatica transversa</i> Aubert, 1959     | +  | -  | +  | +  | - |
| 40    | <i>Capniidae</i>  | <i>Isocapnia aptera</i> Zhiltzova, 1969                   | -  | -  | -  | -  | - |
| 41    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia ansobiensis</i> Zhilt. 1974                     | -  | -  | -  | +  | - |
| 42    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia badakhshanica</i> Zhiltzova, 1974               | -  | -  | -  | +  | - |
| 43    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia bicuspидata</i> Zhiltzova, 1974                 | -  | -  | -  | +  | - |
| 44    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia bimaculata</i> Zhiltzova, 1969                  | -  | -  | +  | +  | - |
| 45    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia hamifera</i> Zhiltzova, 1969                    | -  | -  | -  | -  | - |
| 46    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia jankowskajae</i> Zhilt. 1974                    | -  | -  | +  | -  | - |
| 47    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia longicauda</i> Zhiltzova, 1969                  | +  | +  | +  | -  | - |
| 48    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia pedestris</i> Kimmins, 1946                     | -  | -  | -  | +  | - |
| 49    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia prolongata</i> Zhiltzova, 1969                  | +  | +  | +  | +  | - |
| 50    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia shugnanica</i> Zhilt. 1974                      | -  | -  | -  | +  | - |
| 51    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia singularis</i> Zhiltzova, 1974                  | -  | -  | -  | +  | - |
| 52    | <i>Capniidae</i>  | <i>Capnia turkestanica</i> Kimmins, 1950                  | +  | +  | +  | +  | + |
| 53    | <i>Leuctridae</i> | <i>Leuctra kopetdaghi</i> Zhiltzova, 1972                 | -  | -  | -  | +  | - |
| Всего |                   |                                                           | 18 | 18 | 18 | 33 | 4 |

\*1- Северный Тянь Шань, 2 - Западный Тянь шань, 3 - Центральный Тянь Шань, 4 – Памиро-Алай, 5 - Джунгарский Алатау

Изучение фауны веснянок Заилийского Алатау, как и других гор, входящих в состав казахстанской части Северного Тянь-Шаня, является чрезвычайно актуальным. Можно сказать, что плекоптерофауна Казахстанской части Северного Тянь-Шаня едва затронута изучением. И замечание К.А. Бродского о том, что «потребуется еще много усилий для ...возможности «просто определить виды» [30] остается по-прежнему злободневным. Особенно это касается водной фазы жизненного цикла веснянок. Личиночные стадии описаны далеко не для всех видов. В вышеупомянутой сводке В.А. Тесленко и Л.А. Жильцовой [28] даны определительные таблицы для 12 видов личинок из указанных 53 видов веснянок, обнаруженных на территории Средней Азии. Для Северного Тянь-Шаня описания личинок имеются лишь для 5 видов, для Заилийского Алатау только для одного.

Неполнота наших знаний об экологии большинства видов веснянок, недостаточная изученность их жизненных циклов, отсутствие описаний личиночных стадий (и как следствие - отсутствие определительных таблиц) затрудняет использование веснянок в гидробиологическом мониторинге.

#### Литература

- 1 Fochetti R., Tierno de Figueroa J. Global diversity of stoneflies (Plecoptera; Insecta) in freshwater // *Hydrobiologia*. 2008. Vol. 595. P. 365–377.
- 2 Гвоздецкий Н. А. , Михайлов Н. И. Физическая география СССР. М.:Мысль, 1978



- 3 McLachlan R. (Мак Лахлан Р.) Сетчатокрылые (Neuroptera) // Путешествие в Туркестан А.П. Федченко. Изв. Импер. о-ва любителей естествознания антропологии и этнографии. 1875. Т. 19, вып. 1. С. 1–60 (Perlidae: С. 49–55).
- 4 Бианки В.Л. VI. Веснянки Plecoptera //Якобсон Г.Г., Бианки В.Л. Прямокрылые и ложносетчатокрылые. СПб, 1905. С.502–634.
- 5 McLachlan R. Tijdschrift voor entomologie, V. 29. P.157
- 6 Klapálek. 1901. Bull. Int. Acad. Sci. Bohême (Sci. Math. Nat.) 7:13.
- 7 Klapálek. 1921. Ann. Soc. ent. Belg. 61:146-150
- 8 Navás. 1922. Mem. R. Acad. Cienc. Artes Barcelona 3 17(15):389
- 9 Kimmins. 1947[1946]. Ann. Mag. nat. Hist. 11 13:731
- 10 Koronen. 1949. In Koronen & Brinck. Neue oder wenig bekannte Plecoptera. Ann. Entomol. Fenn. 19
- 11 Kimmins. 1950. Ann. Mag. nat. Hist. 12 3:
- 12 Aubert. 1959. Mém. Soc. Vaudoise Sci. Nat. 12(3):89
- 13 Жильцова Л.А. Новые и редкие виды веснянок сем. Capniidae (Plecoptera) из Средней Азии// Энтомологическое обозрение. 1969. Т. 48, вып.3. С. 593-611
- 14 Жильцова Л.А. Ревизия среднеазиатских видов веснянок рода Mesoperlina Klap. (Plecoptera, Perlodidae)// Энтомологическое обозрение 1970. Т. 49, вып.3. С. 578-591.
- 15 Жильцова Л.А. К познанию веснянок (Plecoptera) Средней Азии. Новые и малоизвестные виды сем. Nematouridae//Энтомологическое обозрение. 1971а.Т.50, вып. 2. С. 347-365.
- 16 Жильцова Л.А. Род Filchneria Klap. и его положение в системе сем. Perlodidae (Plecoptera)//Зоологический журнал 1971б. Т.50, вып.7. С.1034-1040.
- 17 Жильцова Л.А. Новое для Средней Азии семейство веснянок (Plecoptera, Leuctridae) // Зоол. журн. 1972а. Т. 51, вып. 11. С. 1741–1743.
- 18 Жильцова Л.А. Новое для фауны Средней Азии сем. Веснянок Taeniopterygidae (Plecoptera)//Зоологический журнал 1972б. Т. 51, вып. 12. С. 1815-1822
- 19 Жильцова Л.А. Новые и малоизвестные виды веснянок сем. Capniidae (Plecoptera) из Средней Азии//Энтомологическое обозрение 1974. Т. 53, вып. 1. С. 137-149.
- 20 Жильцова Л.А. Дополнения к фауне веснянок сем. Nematouridae (Insecta, Plecoptera) Средней Азии.1.//Зоологический журнал. 1976. Т. 55, вып. 10. С. 1475-1481.
- 21 Жильцова Л.А. Дополнения к фауне веснянок сем. Nematouridae (Insecta, Plecoptera) Средней Азии.2.//Вестник зоологии. 1978, № 1. С. 34-42.
- 22 Жильцова Л.А. Новые виды веснянок сем. Nematouridae (Plecoptera) из Азиатской части СССР// Новые виды насекомых Азиатской части СССР. Л.:1979, Т.88. С. 10-14.
- 23 Кустарева Л.А., Иванова Л.М. Бентос притоков озера Иссык-Куль. Фрунзе:Илим, 1980. 104 с.
- 24 Оморов Э.О. К экологии веснянок (Plecoptera) горных потоков Южного Тянь-Шаня (На примере фауны р. Акбура)//Ихтиологические и гидробиологические исследования в Киргизии, 1977. С.45-50.
- 25 Курмангалиева Ш.Г. О естественной кормовой базе для форели в некоторых водоемах Заилийского Алатау//Биологические основы рыбного хозяйства республик Средней Азии и Казахстана. Тезисы докладов. Балхаш:1967. С. 178-180.
- 26 Курмангалиева Ш.Г. Донная фауна р.Кульсай (бассейн р. Чилик, Кунгей-Алатау)//Биологические основы рыбного хозяйства республик Средней Азии и Казахстана. Тезисы докладов. Фергана:1972. С.
- 27 Курмангалиева Ш.Г. Донная фауна (Ephemeroptera, Trichoptera, Diptera и др.) водоемов Заилийского и Кунгей Алатау. Автореф. дисс.... канд. биол. наук. Алма-Ата, 1976.
- 28 Тесленко В.А., Жильцова Л.А. Определитель веснянок (Insecta, Plecoptera) России и сопредельных стран. Имаго и личинки / Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук. – Владивосток: Дальнаука, 2009. – 382 с.
- 29 Жильцова Л.А. Новый и малоизвестные виды веснянок (Plecoptera, Nematouridae, Capniidae, Leuctridae) фауны СССР//Энтомологическое обозрение. 1989. Т. 68, вып.3. С.582-586.
- 30 Бродский К.А. Горный поток Тянь-Шаня. Эколого-фаунистический очерк. Л.:Наука, 1976. 244 с.

### **Тұжырым**

Орталық Азия (Plecoptera) веснянкалар түрлерінің зерттеу жұмыстары берілген. Белгілі аймақтардағы, атап айтқанда, Солтүстік Тянь-Шань өлкесіне жататын Іле Алатау аймағының веснянкалар түрлерінің таксономиялық құрамы көрсетілген. Айтылған аймақтың жан-жануарлары туралы маңызды шығармашылықтарға шолу жүргізілді. Кәзіргі уақытта, Орталық Азия өңірінде веснянкалардың 53 түрі, Солтүстік Тянь-Шань өлкесінде – 18, Іле Алатау аумағында 6 түрі белгілі.

### **Summary**

The hystorical review of study stoneflies (Plecoptera) of Middle Asia is given. Taxonomic composition of stoneflies of the different areas is submitted, in particular Zailiisky Alatau as a part of the Northern Tien-Shan. An overview of major publications on the fauna of the region is produced. Currently 53 species of stoneflies are known for Middle Asia, 18– for the Northern Tien-Sha, 6 - for Zailiisky Alatau.

## МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 579

Гибадилова А.М., Темирбеков Ж.Т.

МОНИТОРИНГ РАСПРОСТРАНЕНИЯ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНЫХ КУЛЬТУР В  
ОБЪЕКТАХ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ АКМОЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ

(Кокшетауский государственный университет им. Ш. Уалиханова)

*Из культур сальмонелл выделенных из объектов внешней среды (вода, почва, воздух, пищевые продукты) в Акмолинской области превалирует Salmonella enteritidis. Salmonella typhi murium обнаруживается в воде открытых водоемов, в домашних условиях и в твороге. Имеют место единичные находки сальмонелл редких групп, в частности Salmonella arizona, Salmonella urbana.*

Род сальмонелла относится к семейству кишечных бактерий (Enterobacteriaceae) и состоит из серологически родственных, аэробных, не образующих спор палочек, растущих на обычных питательных средах.

Как правило, они встречаются в подвижной фазе с перетрихальным расположением жгутиков, однако бывают и безжгутиковые неподвижные, а также имеющие жгутики, но подвижные формы [1].

За последние годы, систематика сальмонелл много раз менялась. В различных классификациях внутри рода *Salmonella* различали от одного до нескольких тысяч видов. Современная классификация, основанная на строении ДНК, включает только 2 вида – *Salmonella enterica* и *Salmonella bongori*, причем последний вид для человека непатогенен.

Таким образом, возникла необходимость изучения особенностей распространения сальмонелл, патогенность, пути распространения в Акмолинской области.

**Материалы и методы**

Использованные материалы – это: 1) питательные среды: Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфит агар. 2) культуры *Salmonell*, выделенные из следующих объектов: вода, почва, воздух, пищевые продукты. 3) соли серной кислоты, нитраты и нитриты, мочевины, лактоза, глюкоза.

Методы: пробы воды исследовались на наличие *Salmonell* высевом на различные дифференциальные питательные среды, микроскопирование проводилось с использованием светового, биологического микроскопа марки hund WETZLAR.

На обычном питательном агаре, желатине или жидких питательных средах рост этих бактерий не отличается от многих других микробов. На агаре и желатине они растут в форме колоний средней величины, после суточного выращивания диаметр их при не слишком густом посеве достигает 1-2 мм, но встречаются также и карликовые колонии. Колонии обычно плоские, мутноватые или почти прозрачные, от бесцветных до серо-белых. По мере старения колонии мутнеют, и в них появляются темные точки. Поверхность их большей частью сочная и блестящая. Под микроскопом они выглядят зернистыми [2].

Кроме гладких форм (S), встречаются и шероховатые (R) формы. Гладкие формы сальмонелл дают в бульоне однородный рост, шероховатые формы образуют осадок с прозрачной надосадочной жидкостью.

У большинства свежевыделенных штаммов *Salmonella paratyphi* B., *Salmonella abortus equi*, *Salmonella cholerae suis*, *Salmonella enteritidis* и др. проявляется способность к валообразованию. Если колонии этих видов бактерий выращивать 24 часа в термостате и хранить еще 1-2 дня при комнатной температуре, то по краям отдельных колоний возникает круто поднимающийся слизистый разбухший вал. Характерное свойство слизистого вала – способность к сильному преломлению света. Под микроскопом со слабым увеличением на этом валу часто видна радиальная исчерченность [3].

Встречаются слизистые формы сальмонелл, колонии которых, через 24 часа выращивания при 37° напоминают гомогенную каплю слизи.

При посеве на дифференциальные питательные среды микробы рода сальмонелла растут по-разному: на среде Эндо колонии бледно-розовые, на средах Левина и Плоскирева - прозрачные, бледные или слегка розовые. На висмут-сульфит агаре сальмонеллы образуют черные колонии с металлическим блеском, цвет среды под колониями при этом становится черным. Исключение составляют *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A. и *Salmonella cholerae suis*, которые растут в виде мелких серовато-зеленых колоний с черным центром.

### Результаты и их обсуждение

Сальмонеллы не расщепляют адонит и сахарозу, не способны продуцировать индол с помощью декарбоксилазы из триптофана гидролизованного пептида, образуют сероводород из солей серной кислоты, не разжижают желатин под действием желатиназы, но гидролизуют мочевины с помощью выделения уреазы, дают отрицательную реакцию Форгес-Проскауэра и положительную с метилротом. Все культуры не ферментируют лактозу, ферментируют глюкозу, как правило, с образованием газа, в подавляющем большинстве случаев не расщепляют салицин и редуцируют нитраты и нитриты [4].

Наличие большого количества общих биохимических свойств у различных представителей семейства кишечных и в то же время варибельность в отношении некоторых биохимических тестов у различных штаммов одного и того же серологического типа сальмонелл заставляют искать новые биохимические тесты, позволяющие детально изучить биологические свойства представителей рода сальмонелла.

Повсеместное распространение сальмонелл в природе и разнообразие путей, которыми они проникают в организм человека, объясняется их генетической пластичностью. Сальмонеллы легко находят экологические ниши и адаптируются к самым разным условиям. Не соблюдение ряда санитарно-гигиенических норм населением, производствами, связанных с пищевой промышленностью, приводят к инфекционным заболеваниям. Чаще, это приводит к одному из заболеваний, возбудителем, которого является сальмонелла, сальмонеллез у человека [5].

Сальмонеллы подразделяются на 7 подвигов, по антигенным характеристикам, имеют серовары, число которых увеличивается с каждым годом и в настоящее время составляет более 2500 [6].

Сальмонеллез относится к числу широко распространенных во всем мире кишечных инфекций, удельный вес среди которых составляет 30-40%. По данным ВОЗ во всех регионах мира в настоящее время инфицированность людей сальмонеллами составляет до 10 % от общего числа населения. Наиболее частым путем передачи возбудителя остается водный и пищевой, реже контактный [7].

Сальмонеллы долго сохраняют жизнеспособность во внешней среде в воде открытых водоемах и питьевой воде до 4 месяцев, в почве 1-9 месяцев, в домашней пыли 1,6 года, в колбасных изделиях 60-130 суток, на замороженных фруктах и овощах 0,5- 2,5 месяцев, в замороженном мясе, яйцах до 13 месяцев. Наиболее устойчива *Salmonella typhi murium* [8].

Анализ культур сальмонелл, выделенных по Акмолинской области за 2006-09 годы показывает, что среди 56 положительных находок сальмонелл из объектов внешней среды (вода, почва, воздух, пищевые продукты) преобладает *Salmonella enteritidis*. (таблица 1) Обращает на себя внимание тот факт, что в 2008 году *Salmonella typhi murium* обнаруживается в воде открытых водоемов в 3-х случаях, в домашнем очаге - 3 и в одном продукте – твороге. Имеют место единичные находки сальмонелл редких групп, в частности *Salmonella arizona*, *Salmonella urbana*.

**Таблица 1** - Анализ культур сальмонелл, выделенных по Акмолинской области за 2006-2009 годы

| Выделенные культуры сальмонелл              | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 |
|---------------------------------------------|------|------|------|------|
| Гр. ABCDE<br><i>Salmonella enteritidis</i>  | 10   | 9    | 13   | 12   |
| Гр. ABCDE<br><i>Salmonella typhi murium</i> | -    | -    | 7    | 2    |
| Гр. ABCDE<br><i>Salmonella sandrov</i>      | -    | -    | -    | 1    |
| Сальмонеллы других групп                    | 1    | -    | 1    | -    |
| Всего                                       | 11   | 9    | 21   | 15   |

Итоги микробиологических исследований объектов внешней среды показывают, что наиболее результативными методами выявления сальмонелл являются смывы, на долю которых приходится 78,6% в среднем за 4 года, пищевые продукты и вода – 14,3 % и 7% соответственно (таблица 2)

**Таблица 2** - Исследования объектов внешней среды

| Исследуемые объекты внешней среды                    | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 |
|------------------------------------------------------|------|------|------|------|
| Пищевые продукты                                     | 1    | 2    | 4    | 1    |
| Вода                                                 | -    | -    | 3    | 1    |
| Исследование методом смыва с каких-либо поверхностей | 10   | 7    | 14   | 13   |
| Всего                                                | 11   | 9    | 21   | 15   |

В свою очередь анализ положительных смывов показывает, что *S. enteritidis* чаще обнаруживается в птицепродуктах. (таблица 3)

Из таблиц видно, что в 4 из 8 случаев обнаружения сальмонелл в продуктах, *Salmonella enteritidis* выявляется в окорочках, куриной печени, мясе, в фарше индейки и колбасе.

В заключении можно отметить, что, несмотря на постоянное увеличение числа серотипов выделенных сальмонелл, по-прежнему до 96% всех случаев обусловлены сальмонеллами в первую очередь *Salmonella enteritidis* (81%), тогда как *Salmonella typhi murium* (19%).

**Таблица 3** - *Salmonella enteritidis*, выделенная методом смывов

| Объект исследования            | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 |
|--------------------------------|------|------|------|------|
| птицы, птицепродукты           | 7    | 7    | 6    | 9    |
| дом, организованные коллективы | 3    | -    | 5    | 5    |
| текущий санитарный надзор      | -    | -    | 1    | 1    |

К особенностям эпидемиологии сальмонелл в области за последние годы следует отнести также повышение этиологической роли *S. enteritidis*, активизацию пищевого пути передачи возбудителей инфекции с преобладанием роли птицы и птицепродуктов [9].

Другой особенностью современной эпидемиологии сальмонеллезов является установление роли человека как источника заражения сальмонеллезом. Заражение человека от больного возможно не только через пищу, в которой сальмонеллы находят благоприятные условия для размножения, а так же и контактно-бытовым путем. Промежуточным фактором передачи возбудителя, а иногда и конечным, может быть вода, загрязненная стоками животноводческих хозяйств и мясоперерабатывающих предприятий [10].

Проанализировав причины заражения и условия адаптации бактериальной палочки к различным средам, необходимо заострить внимание жителей области к проведению профилактических мероприятий, в том числе мер борьбы с инфекционными заболеваниями вызванных возбудителями рода *Salmonella*.

### Литература

- 1 Амиреев А.А. Эпидемиология - Алматы, 2002 г.-С.13
- 2 Черкасский Б.Л., Рожнова С.Ш. Лабораторная диагностика сальмонеллезов человека и животных. Методические указания.- Москва, 1990 г.-С.20
- 3 Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология- Санкт-Петербург, «Специальная литература», 1998 г.-С. 337-340.
- 4 Покровский В.И., Поздеев О.К. Медицинская микробиология. Справочник. ГЭОТАР Медицина, Москва.-1999г.- С.370.
- 5 Покровский В.И., Килессо В.А., Ющук Н.Д. Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане. Вып.3-4 - Алматы, 2001г.-С.749
- 6 Черкасский Б.Л. Особоопасные инфекции. Справочник.- Москва: Медицина.- 1996г. -С.160
- 7 Табаева А.А., Котова А.Л. Сальмонеллы редких групп, Алматы, 2001г.-С.193
- 8 Шур И.В. Заболевания сальмонеллезной этиологии. -Москва, 1964г.-С.120
- 9 Шемякина А.А. Сохраняемость некоторых сальмонелл в молочно-кислых продуктах в условиях эксперимента.- Свердловск, 1966г.-С.35
- 10 Вакараш Н.А. Изучение выживаемости сальмонелл на предметах внешней среды. -Москва, 1966 - С.25

### Тұжырым

Ақмола облысында соңғы жылдары сыртқы орта объектерінен (су, топырақ, ауа, ас-су) бөлінген сальмонеллалар ішінде жиі кездесетіні *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi murium* болды, олар ашық су қоймаларынан, үй ошақтарынан және ірімшіктен бөлінді. Сонымен қатар сальмонеллалардың сирек кездесетін түрлеріде байқалды, мысалы, *Salmonella arizona*, *Salmonella urbana*.

### Summary

From the selected cultures salmonella on Akmola of area from objects of external environment wednesday (water, ground, air, foodstuff) prevails *Salmonella enteritidis*. *Salmonella typhimurium* it is found out in water of open reservoirs, in the home and in cottage cheese. The finds salmonella of rare groups, in particular *Salmonella arizona*, *Salmonella urbana* take place.

УДК: 635.64:632.35 (574,51)

Низамдиноват Г.К.

### БАКТЕРИАЛЬНЫЙ РАК ТОМАТА В УСЛОВИЯХ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

(Казахский НИИ защиты и карантина растений)

*При обследовании посадок томата в хозяйствах Алматинской области выявлено поражение их бактериальным раком. Описаны симптомы и динамика развития болезни. Изучены морфологические, культуральные и биохимические свойства возбудителя болезни на основании которых проведена идентификация бактерии.*

Томат – ценная овощная культура, которая содержит большое количество необходимых для человека питательных веществ (каротин, витамины В, С, РР и др., сахара, минеральные и органические вещества). Плоды томата широко используются в свежем виде, а также для консервирования и переработки. Одной из причин низкой урожайности и плохого качества плодов этой культуры является поражение их болезнями, наиболее вредоносными из них являются бактериальные заболевания, к которым относится и бактериальный рак.

Данное заболевание встречается во многих странах, где возделываются томаты. Однако по данным Nadas Rivka et.al, бактериальный рак – является карантинным для ЕЭС и Израиля [1].

В Казахстане, это заболевание впервые обнаружено Г.П.Лопухиной в 1937г. в пригородной зоне города Алма-Аты [2]. Затем в течение нескольких лет бактериальный рак был зарегистрирован во многих хозяйствах Алма-Атинской области, а также в Кустанайской, Семипалатинской, Северо-Казахстанской и Карагандинской областях. В отдельные годы пораженность томатов достигала 60%. Однако, до настоящего времени, возбудитель бактериального рака не был изолирован в чистую культуру и не были проведены стандартные бактериологические тесты необходимые для его идентификации.

Для уточнения видового состава бактериальных заболеваний в 2007-2009гг проводили обследования овощеводческих хозяйств Карасайского, Талгарского, Енбекшиказаскского районов Алматинской области. При этом учитывали распространение и степень развития бактериальных заболеваний по общепринятым методикам [3]. Степень поражения учитывалась по четырехбалльной шкале. Динамика болезней изучалась путем наблюдений и учетов за характером распространения и развития болезней в течение вегетационного периода. Учеты велись через каждые 10 дней, начиная с всходов и до конца плодоношения, на 10 растениях в десяти точках.

### Материалы и методы

При обследовании отбирали образцы больных растений, пораженные бактериальным раком. Выделение бактерий проводили на твердой питательной среде (КА) в чашках Петри. После тщательной поверхностной стерилизации образцы растирали в стерильной ступке, делали серию разведений и высевали на питательную среду. Чашки помещали в термостат при температуре 24-25<sup>0</sup>С через 2-4 суток на питательных средах появлялись колонии бактерии, затем проводили наблюдения за их развитием. Из выросших на среде колоний бактерий отбирали те, которые по морфологической структуре, консистенции и цвету соответствовали фитопатогенным бактериям, пересевали на скошенный агар для дальнейших исследований.

Предварительную проверку патогенных свойств изолированных бактерий проводили на индикаторном растении - комнатной герани (*Pelargonium zonala*) инфекционно-инfiltrационным

методом Клемента [3]. Для этого использовали суточную культуру бактерий, концентрация инокулюма,  $10^9$  мл мол. Бактериальная суспензия вводилась в межклеточные пространства листа с помощью шприца. Если бактерия патогенная, то через 24-72 часа на листьях растения в местах введения инокулюма появляются хлороз. Сапрофитные виды бактерий не образует некроз.

При определении возбудителя одним из основных свойств его является способность вызывать типичные поражения на растении-хозяине. Определение патогенности выделенных нами бактерии, из пораженных образцов, проводили на молодых растениях в стадии 5-7 листьев. Заражение проводили путем введения инокулюма бактерий в сосудистую систему растений. Аналогичным способом заражали контрольные растения стерильной водой.

#### Результаты и обсуждения

При обследовании овощеводческих хозяйств в 2007-2009гг. бактериальный рак был выявлен в хозяйствах Карасайского, Талгарского и Енбекшиказахского районах Алматинской области. Наиболее сильно болезнь проявилось в 2009г., распространенность 5-15%. Это связано с обильным выпадением осадков в течение вегетационного периода.

Изучение динамики развития бактериального рака, показало что, первые признаки болезни отмечались через месяц после высадки рассады в грунт, в фазе бутонизации симптомы проявлялись в виде медленного увядания. В период плодоношения количество больных растений увеличилось, распространение в этот период достигало 15%. Признаки болезни начинались проявляться в виде увядания обычно снизу, постепенно переходя от нижних стеблей к верхним. Характерным признаком бактериального рака томата являлось то, что увядание листьев первоначально проявлялось с одной стороны растения, другая же, оставалась некоторое время не пораженной (рисунок 1). На срезах стебля больного растения наблюдалось потемнение сосудов (рисунок 2). Пораженные плоды были неоднородно окрашены, на них наблюдалось поражение в виде белых пятен с темным центром, напоминающих птичий глаз (рисунок 3). Более четко симптомы болезни отмечались к концу вегетации.

По данным литературы, основными источниками распространения бактериального рака томата являются зараженные семена и почва с находящимися в ней остатками больных растений [4]. В связи с этим, причиной болезни могут быть семена и растительные остатки, которые могут сохраняться в результате бессменного возделывания томата на одном и том же участке.

Выделенные нами бактерии на картофельном агаре в чашках Петри образовывали растекающие колонии бледно желтого цвета, округлые, гладкие, прозрачные, блестящие и слегка вязкие. Позднее колонии приобретают горчично-желтый цвет и приятный запах.

Морфологические свойства изучали путем микроскопирования по общепринятым в бактериологии методам [5]. Биохимические свойства устанавливали с использованием ряда диагностических сред. Характер роста определяли на бульоне. Использование бактериями углеводов соединений проверяли на среде Омелянского с добавлением 1% углеводов. Протеолитическую активность определяли путем посева (укола) культуры бактерии на желатине. Редукция нитратов бактериями проверялась на бульоне с добавлением 1%  $KNO_3$ . В качестве индикаторов использовали реактив Грисса.



Рисунок 1 - Одностороннее увядание



Рисунок 2 - Поперечный срез больного растения



**Рисунок 3** - «Птичий глаз» на плодах



**Рисунок 4** - Искусственное заражение томата бактериальным раком

При проверке патогенности на листьях герани появились некрозы, что подтверждало патогенность исследуемого штамма.

Результаты искусственного заражения показали, что бактерии из пораженных образцов вызвали симптомы, сходные с естественным поражением на растениях, из которых были изолированы (Рисунок 4).

На основании патогенных, культурально-морфологических и биохимических свойств изолированные бактерии были идентифицированы как *Clavibacter michiganensis* pv. *tritici* Davis. Бактерии представляют собой неспорозные, неподвижные, клинообразные клетки (размером 0,6-0,7\*0,7-1,0 мкм), иногда встречаются коккообразные, грамположительные аэробы. Разжижают желатин медленно; створаживают молоко; разлагают крахмал; не выделяют индол и сероводород; не восстанавливают нитраты; осуществляют утилизацию сахаров – из глюкозы, сахарозы, галактозы, левулозы, мальтозы, а из лактозы и маннита – слабо [3]. Оптимальная температура его роста составляет 25...27°C; при 47°C рост микроорганизмов отсутствует, при 50...53°C они погибают.

Таким образом, томаты в условиях Алматинской области, томаты поражается бактериальным раком. Распространенность болезни достигает до 15%, возбудителем которой является фитопатогенная бактерия - *Clavibacter michiganensis* pv. *tritici* Davis.

#### Литература

- 1 Hadas Rivka Kritman G Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp *nichiganensis* in tomato seeds threshold level and disease potential // *Phytoparasitica*. 2005. №3. –P.282-283.
- 2 Лопухина Г.П. Болезни помидор.-Алма-Ата, «Кайнар», 1966.- С.23-24.
- 3 Методические указания по изоляции и идентификации фитопатогенных бактерий. / Под ред. Чумаевская М.А., Матвеева Е.В. М., 1986. – 40 с
- 4 Галачьян Р.М. Бактериальные болезни томатов в Армянской ССр и мероприятия по борьбе с ними. Ереван. 1958. –С. 40-55.
- 5 Методические рекомендации по изучению бактериальных болезней томата и мерам борьбы с ними. / Под ред. А.М.Лазарев, Г.А.Быкова., 2003. – С.20-22.

#### Тұжырым

Алматы облысының көкөніс дақылдары шаруашылықтарында қызанаққа зерттеу жүргізілді. Нәтижесінде бұл дақылда таралған және зиянды ауру – бактериалы ісік екені анықталды. Оның морфологиялық, культуралды және биохимия құрылымы жағынан жемістің бактериялы ісік ауруына сәйкес екені анықталды.

#### Summary

The tomato was investigate on farm Almaty district. There was determinate that bacterial cancer is wide-spread and dangerous disease of tomato. Disease is caused by *Clavibacter michiganensis* pv. *tritici* Davis.



<sup>1</sup>Gomaa M.A.E., <sup>2</sup>Ayad E., <sup>3</sup>Soda M., <sup>2</sup>Darwish S.

## ISOLATION AND IDENTIFICATION OF NOVEL HUMAN-PROBIOTIC CULTURES

(<sup>1</sup>Institute for Microbiology, Hannover University, <sup>2</sup>Faculty of Agriculture - Saba Basha, Alexandria University, <sup>3</sup>Faculty of agriculture, Alexandria University)

*The word "probiotic" is derived from Greek and it means "for life", that nomenclature was given to that group of microorganisms that can obtain a protective role in the intestinal tract. Lactic acid bacteria (LAB) and bifidobacteria are unalterably considered to be the main components of probiotics they are also constitute the most appropriate choice for application as protective cultures. Some probiotic strains work better with certain species than others such phenomena was related to the isolation source in many cases [1]. In this study breast-fed infants were chosen as isolation source. Samples were obtained from two healthy breast-fed infants, twice each. According to the pre-identification testes results, cultures were grouped in five major clusters: 13 Enterococcus and 5 Lactococcus for cocci; 28 obligatory homofermentative, 21 facultatively heterofermentative, and 35 obligatory heterofermentative for rods. The final identification was done by SDS-PAGE technique to species level, twenty six strains were identified as Lactobacillus fermentum and seventeen strains were identified as Lactobacillus salivarius strains. The identified cultures were kept in the Culture Collection of Faculty of Agriculture Alexandria University (FAAU).*

In the intestinal tract good microflora can provide a protective effect only when a proper balance is maintained among all the different bacteria that normally reside [2]. If the normal bacteria become depleted or the balance is disturbed, potentially harmful bacteria can overgrow and become established, causing digestive and other health problems. These harmful bacteria are known as pathogenic bacteria and they have the ability to cause gastrointestinal (GI) problems such as diarrhea or abdominal pain if not kept in check by the beneficial bacteria [3].

The word "probiotic" is derived from Greek and it means "for life", that nomenclature was given to that group of microorganisms that can obtain a protective role in the intestinal tract. Probiotics are defined as a live microbial feed supplement that beneficially affects the host animal by improving its intestinal microbial balance [1]. The most frequently used probiotic genera are lactobacilli and bifidobacteria. The potential mechanisms of their action include competitive bacterial interactions, production of antimicrobial metabolites, mucosal conditioning and immune modulation [4, 5]. Not all of the probiotic cultures can act effectively with the human host [1]. It was clearly demonstrated during the last 30 years that, some probiotics will perform better with particular animal species than with others [1, 6]. It is, therefore, indispensable to select organisms, which can survive in the gut of the test animal. So that isolating probiotic cultures for human-use should be from a healthy human-source. The aim of this study was to use human source (e.g. infants) to isolate and identify some probiotics bacteria.

### Materials and methods

**Bacterial cultures and growth conditions.** One hundred and sixty reference strains included different subspecies of lactobacilli, pediococci, lactococci, enterococci, leuconostoc, bifidobacteria, streptococci, and *Streptococcus thermophilus*. Their protein fingerprints were used for making the database for identification of isolates. These strains were obtained from: Centre National de Recherches Zootechniques, Jouy-en-Josas, France (CNRZ); Culture Collection Laboratorium Vor Microbiologie Gent, Belgium (LMG); American Type Culture Collection (ATCC); Culture Collection of Faculty of Agriculture Alexandria University (FAAU). The strains were maintained as frozen stock cultures at -40 °C in reconstituted skim milk powder (RSM, 12.5% w/v) containing glycerol 15% (w/v). Cultures were propagated twice in suitable media and incubated at optimum temperatures for 16 h before use.

**Fecal samples collection and preparation.** Fresh fecal samples were obtained from two healthy breast-fed children. Samples were collected twice, child A at 3 and 5 months of age and child B at 4 and 6 months of age. The samples were collected early morning and transported within 1 h of collection to the laboratory in icebox at 4 °C ± 1 °C.

**Selective media.** Fecal samples about 1 g each were weighted, homogenized and diluted 10<sup>-10</sup> in reproduced diluents containing 8.5 g L<sup>-1</sup> of NaCl, 1.0 g L<sup>-1</sup> of peptone (Biolife, Italy) and 0.1 g L<sup>-1</sup> of L-cysteine (sigma, Germany) at pH 7.0. 1 mL portion of each dilution was spread onto the surfaces of plate followed by 20 mL of agar medium: Plate count agar (PCA, Oxid) for total count, Rogosa agar (Biolife, Italy) to isolate lactobacilli, MRS Biolife, Italy [7] supplemented with 0.05% L-cysteine (Sigma, Germany) (MRS-C) to isolate LAB and for the growth of Bifidobacterium spp. [8] and MRS supplemented with 100 mg L<sup>-1</sup> neomycinsulfate (Sigma), 15 mg L<sup>-1</sup> nalidixic acid (Sigma) and 3 g L<sup>-1</sup> lithium chloride (NCC, Egypt)

(MRS-NNL) was used to isolate *Bifidobacterium* spp. [9]. The choice of the media types was mainly to be selective to certain species of microorganisms. All plates were incubated at 37 °C under anaerobic conditions for 48 h. Each sample was isolated in triplicates.

Counting of microbes and collecting of isolates. The conventional diluting pouring plate technique was followed for enumerating microbes in the samples. All plates which contain 30-300 colonies were counted and the average of the triplicates from the same dilution was calculated directly by colony forming unit (CFU g<sup>-1</sup>). Representative colonies were collected. Each isolate was purified by streaking two times on the respective isolation medium and incubated at 37 °C under anaerobic conditions.

Morphological aspects. The cultures were examined microscopically by Gram-staining and morphological characteristics noted according to Harigon and MacCane [10].

Catalase test. To detect catalase activity, a drop of broth culture was transferred onto a clean black-slide, flooded instantly with a drop of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (20%) and observed for the production of effervescence. Yeast strain *Saccharomyces lactis* was used as the known positive culture for the catalase test.

The pre-selection and identification. The work was proceed only with gram positive and catalase negative purified cultures were stored at -40 °C in sterile reconstituted skim milk (12.5% w/v) containing (15% w/w) glycerol (Sigma) till further tests were made. Isolates were pre-identified by morphological and physiological tests. Briefly, cocci cultures were tested for growth in M17 broth at 10 and 45 °C; in SF medium; in M17 broth containing 6.5% (w/v) NaCl and the production of CO<sub>2</sub> ability. Rod cultures were tested for growth in MRS broth at 10 and 45 °C and the production of CO<sub>2</sub>.

Identification using SDS-PAGE technique. At the early stationary phase, bacterial cells were harvested by centrifugation at 10000 xg for 10 min at 4 °C. The resulting pellet was washed twice with sodium phosphate buffer (1 mM) containing 0.8% NaCl, pH 7.3 (Sodium phosphate-buffered saline). The wet weight of the bacterial cells ranged from 50 mg and not higher than 100 mg. The pellet was resuspended in 900 µL of sample treatment buffer (6.2 mM Tris-HCl buffer containing 5% (v/v) mercaptoethanol and 10 % (v/v) glycerol; final pH 6.8) the mixture was kept in ice till the next step takes place. The ice-cooled cell suspension was then treated with an ultrasonic XL 2020 apparatus, using a needle probe tip during 5 min, 200 µL of 20 % SDS were then mixed with a vortex. The mixture was heated at 95 °C for 10 min then cooled and centrifuged at 10000 xg for 10 min at 4 °C in a microcentrifuge (Eppendorf, Germany). SDS-PAGE technique was performed for all supernatants (protein extract) following the standard method of Pot et al. [11].

Computer-assisted analysis of protein electrophoretic fingerprints. In our work the GELCOMPAR (Comparative Analysis of Electrophoresis Patterns; Version 4.0) software developed by Applied Maths (Kortrijk, Belgium) was used for data analysis process. Capture standardization, normalization, comparison and calculation of similarity and cluster. All analysis and storage data were performed according to the manufacturer manual. It should however be noticed that for normalization, a reference bacterial extract of *Psychrobacter immobilis* LMG 1125 obtained from Mrs. Katrien Vanhonacker (BCCM/LMG Culture Collection University Gent-Lab. Microbiology, Belgium) have to be included on each slab gel.

### Results and discussion

#### *Microbial count in feces samples.*

The count of bacteria in the feces of child A at the age of 3 and 5 months and child B at the age of 4 and 6 months enumerated on four different media, PCA for total bacterial count, Rogosa for lactobacilli count, MRS-C for LAB count and for the growth of *Bifidobacterium* spp. and MRS-NNL for *Bifidobacterium* spp. count are shown in Table (1).

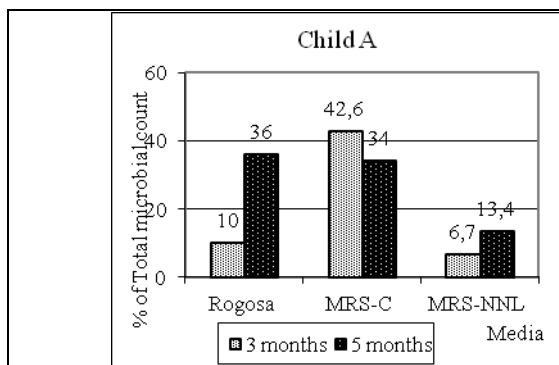
**Table 1** - Microbial viable counts of feces samples (CFU g<sup>-1</sup>) in 4 different isolation media

| Source |             | Isolation Medium      |                       |                       |                          |
|--------|-------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|
| Child  | Age (month) | PCA (Total bacterial) | Rogosa (Lactobacilli) | MRS-C (LAB and)       | MRS-NNL (Bifidobacteria) |
| A      | 3           | 3.85x10 <sup>10</sup> | 3.57x10 <sup>9</sup>  | 1.64x10 <sup>10</sup> | 2.59x10 <sup>9</sup>     |
|        | 5           | 5.00x10 <sup>6</sup>  | 1.80x10 <sup>6</sup>  | 1.70x10 <sup>6</sup>  | 6.70x10 <sup>5</sup>     |
| B      | 4           | 1.80x10 <sup>8</sup>  | 1.20x10 <sup>7</sup>  | 1.50x10 <sup>8</sup>  | 8.94x10 <sup>7</sup>     |
|        | 6           | 1.51x10 <sup>8</sup>  | 3.11x10 <sup>6</sup>  | 1.11x10 <sup>8</sup>  | 2.57x10 <sup>6</sup>     |

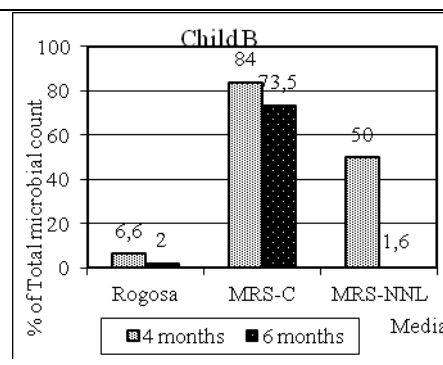
The data indicated that the counts of all bacterial groups decreased with age. Total bacterial count of the feces of child A enumerated on PCA medium was 3.85×10<sup>10</sup> CFU g<sup>-1</sup> at age of 3 months, decreased to

$5.00 \times 10^6$  CFU g<sup>-1</sup> at the age of 5 months. A rather lower reduction was noted regarding child B, where the total count declined from  $1.80 \times 10^8$  CFU g<sup>-1</sup> at the age of 4 months to reach  $1.51 \times 10^8$  CFU g<sup>-1</sup> at the age of 6 months. These findings are comparable to the work of [6, 12], they reported that, significant reduction on the total count of human feces samples could be observed from the second month of age and continue to adult age. Such reduction was expected to affect the distribution of bacteria and there diversity. Count results in the other media will reflect that.

Figures 1 and 2 represent the viable count on the three media for the feces obtained from child A and child B as a percentage from the total count. The data reveals that proportions of microorganisms counted on Rogosa (lactobacilli), MRS-C (LAB and *Bifidobacterium* spp.) and MRS-NNL (*Bifidobacterium* spp.) were 9.3, 42.6, 6.7% and 36, 13.4, 34% in case of child A at age of 3 and 5 months respectively. A close trend was observed in case of child B, where the count on the same media as percentage of the total count were 6.6, 84 and 50.0 % at 4 months of age and 2.0, 73.5 and 1.6 % at 6 months of age respectively.



**Figure 1** - Bacterial counts on the three media as percentage of total count in feces of child A



**Figure 2** - Bacterial counts on the three media as percentage of total count in feces of child B

Considerable counts on MRS-NNL medium, which is selective for bifidobacteria, ( $2.59 \times 10^9$  and  $8.94 \times 10^7$  CFU g<sup>-1</sup>) were detected in samples obtained from child A aged 3 months and child B at the age of 4 months respectively. This result is in agreement with those of [12-15]. They reported that *Bifidobacterium* spp. is a common member of the gut microflora of humans and they are more numerous in the infant gut specially breast-fed babies which however decrease rapidly with time. It also was noted that, bifidobacteria count on MRS-NNL media was decreased rapidly in case of child B.

The results also showed that the reduction rate of the microbial groups population were much higher in the case of child A as compared with child B. This may be due to environmental factors, genetic differences or the nature of maternal nutrition. Other studies reported that, the composition of the microbiota in infants stool is influenced by the mode of delivery [16], the environment, the diet and possibly the genetic background, as revealed in a study on monozygotic twins [17, 18].

**Identification. Pre identification.**

One hundred and nine isolates were obtained from the four feces samples from child A and B.

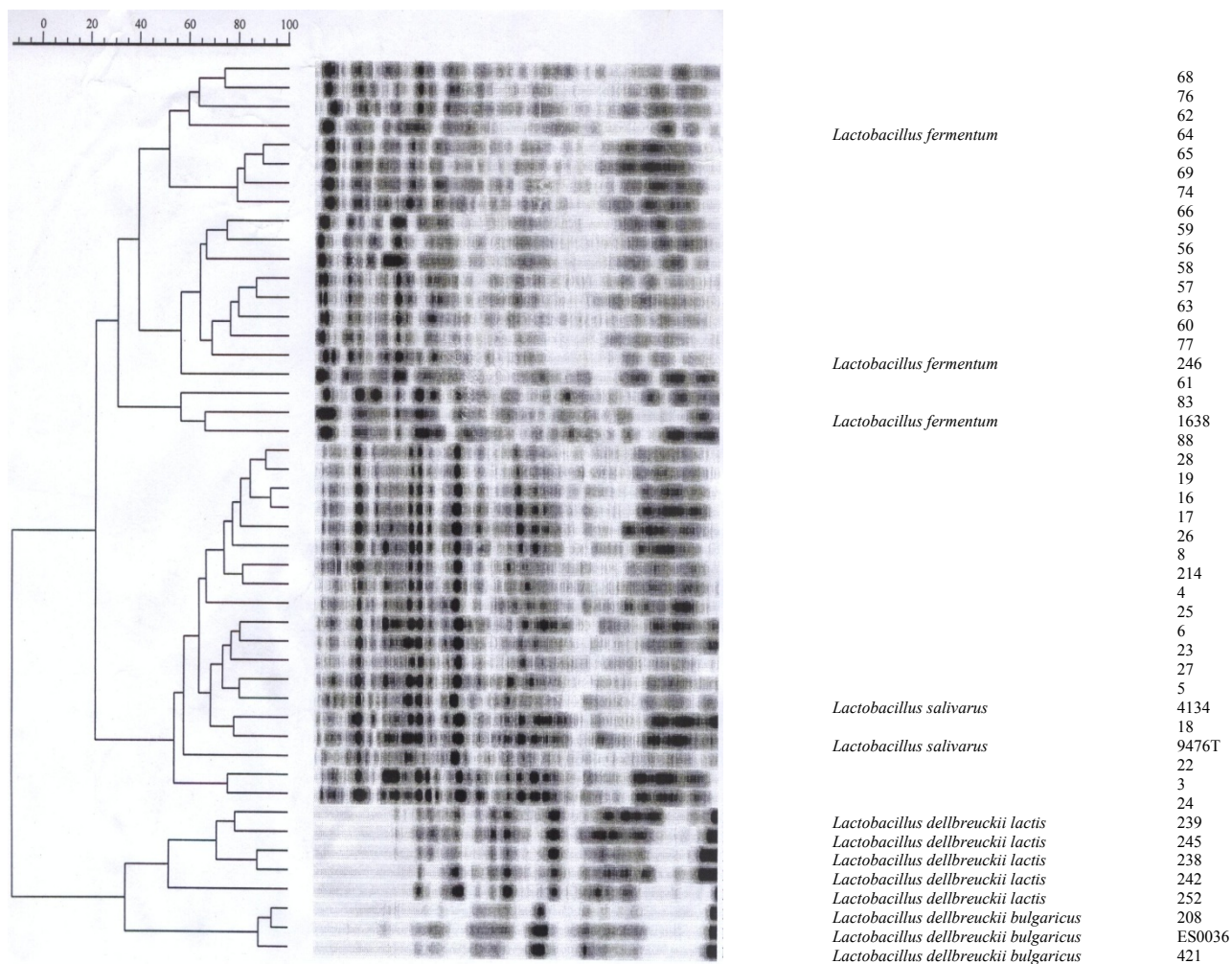
**Table 2** - Pre-identification tests results for 102 isolates

| Isolates                    |       |                                |     | Pre-identification tests |               |                |                 |                           |                        |                |
|-----------------------------|-------|--------------------------------|-----|--------------------------|---------------|----------------|-----------------|---------------------------|------------------------|----------------|
| Type                        | Total | division                       | No. | Gram stain               | Catalase test | Growth at 45°C | Growth at 100°C | CO <sub>2</sub> Productio | Growth on CF           | Growth on 6.5% |
| Cocci                       | 18    | <i>Enterococcus</i>            | 13  | +                        | -             | +              | +               | -                         | +                      | +              |
|                             |       | <i>Lactococcus</i>             | 5   | +                        | -             | -              | +               | -                         | -                      | -              |
| Rod                         | 84    | Obligatory homofermentati      | 28  | +                        | -             | +              | -               | -                         | Test was not performed |                |
|                             |       | Facultatively heterofermentati | 16  | +                        | -             | -              | +               | -                         |                        |                |
|                             |       |                                | 5   | +                        | -             | +              | +               | -                         |                        |                |
| Obligatory heterofermentati | 35    | +                              | -   | +                        | -             | +              |                 |                           |                        |                |

They were examined microscopically for Gram staining and catalase activity. One hundred and two isolates were Gram positive catalase negative (eighteen cocci and eighty rods). According to the obtained results, cultures were grouped in five major clusters: 13 *Enterococcus* and 5 *Lactococcus* for cocci and 28 obligatory homofermentative, 21 facultatively heterofermentative, and 35 obligatory heterofermentative for rods (Table 2).

**Identification by SDS-PAGE**

Using the Gel Compar software package, all 102 protein patterns of tested strains were compared with protein fingerprints of 160 reference strains including the genera *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium* and *Streptococcus thermophilus*. The resulting dendrogram is shown in **Ошибка! Источник ссылки не найден.**



**Figure 3** - Dendrogram calculated by the unweight average pair grouping method of the correlation coefficients obtained between all pairs of one-dimensional SDS-PAGE protein patterns of strains of the unknown isolated cultures, compared to a number of reference representative strains.

According to the SDS-PAGE results, the preliminary tests were confirmed for twenty six strains *Lactobacillus fermentum* and seventeen *Lactobacillus salivarius* strains. Previous works [19-21] reported that, *Lactobacillus* species are commonly present in human fecal samples and more particularly *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* subsp. *salicinius* and *L. paracasei* subsp. *paracasei*. These *Lactobacillus* species have also received considerable attention with respect to their putative healthful properties when ingested as probiotics. It was indicated that, the human strain *L. fermentum* KC5b isolated from adult's stool was comparable to the commercial probiotics *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* JCM 1002 and *L. acidophilus johnsonii* in its ability to tolerate acid and bile and cholesterol reduction [22]. Furthermore, this strain was of human origin, which could be of advantage in its ability to compete with the indigenous microflora. Human-derived *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus paracasei* cultures have

been well characterized with respect to their probiotic properties and their behavior in dairy products, including Cheddar cheese and yogurt [2, 3, 23].

Thirteen strains of enterococci, five strains of lactococci, eleven strains of obligatory homofermentative lactobacilli, twenty one strains of facultatively heterofermentative lactobacilli and fifteen strains of obligatory heterofermentative lactobacilli did not resemble any of the reference strains and they were removed separately. Such miss-matching is due to differences in terms of the bacterial origin followed by significant difference in the protein profile. Those findings were in agreement with Roussel *et al.* [24]. They reported that, protein pattern of some LAB strains derived from human origin did not match with strains of dairy origin.

The identified cultures were kept in the Culture Collection of Faculty of Agriculture Alexandria University (FAAU). Further work concerning characterization of the probiotic properties is under preparation.

#### Acknowledgements

This work was supported by Prof. Dr Morsi El-Soda Laboratory team.

#### References

- 1 Fuller, R., *J Appl Bacteriol*, 66:365 (1989).
- 2 Conway, P.L., Gorbach S. L., and Goldin B. R., *J Dairy Sci.*, 70:1 (1987).
- 3 Bruce, A. W. and Reid G., *Can J Microbiol*, 34:339 (1988).
- 4 Isolauri, E., *Curr Allergy Asthma Rep*, 4:270 (2004).
- 5 Kalliomaki, M. A. and E. Isolauri, *Probiotics and down-regulation of the allergic response. Immunol Allergy Clin North Am*, 2004. 24(4): p. 739-52, viii.
- 6 Tannock, G. W., *et al.*, *Appl Environ Microbiol*, 66:2578 (2000).
- 7 De Man, J., Rogosa, M. and Sharpe, E., *J. Appl. Bacteriol.*, 23:5 (1960).
- 8 Kosikowski, F. V., *Cheese and fermented milk products. . Vol. 2 éd. 1982, New York: Brooktondale.*
- 9 Blackwell, J.H., *et al.*, *J Dairy Sci*, 65:1624 (1982).
- 10 Harigon, W. F. a.M., M.E., *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology, ed. W.F.a.M. Harigon, M.E. . 1976, New York: Academic Press.*
- 11 Pot, B., Vandamme, P. and Kersters, K., *Analysis of electrophoretic whole-organism protein fingerprints. In Chemical methods in prokaryotic systematic ed. G.M.a.O.D.A. G. 1994, England: Wiley and Sons, Inc.*
- 12 Sghir, A., *et al.*, *Appl Environ Microbiol*, 66:2263 (2000).
- 13 Langendijk, P.S., *et al.*, *Appl Environ Microbiol*, 61:3069 (1995).
- 14 Franks, A. H., *et al.*, *Appl Environ Microbiol*, 64:3336 (1998).
- 15 Requena, T., *et al.*, *Appl Environ Microbiol*, 68: 2420 (2002).
- 16 Vaughan, E. E., *et al.*, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 82:341 (2002).
- 17 Fanaro, S., *et al.*, *Acta Paediatr Suppl*, 91:48 (2003).
- 18 Klijn, A., Mercenier A., and Arigoni F., *FEMS Microbiol Rev*, 29:491 (2005).
- 19 Bianco, J. A., *et al.*, *Cardiology*, 86:189 (1995).
- 20 Fierke, C. A. and G. G. Hammes, *Methods Enzymol*, 249:3 (1995).
- 21 Walter, J., *et al.*, *Appl Environ Microbiol*, 67:2578 (2001).
- 22 Pereira, D. I. and G. R. Gibson, *Appl Environ Microbiol*, 68:4689 (2002).
- 23 Kaila, M., *et al.*, *Pediatr Res*, 32:141 (1992).
- 24 Roussel, Y., *et al.*, *J Appl Bacteriol*, 74:549 (1993).

УДК 612.332.085.3:669.29

Ағаділова Ә.Б., Мухамедьярова Ә.С., \*Парманбекова М.Х.  
**ҚОРҒАСЫН ТҰЗЫМЕН УЛАНҒАНДАҒЫ КҮЙІС ҚАЙЫРАТЫН МАЛДАРДЫҢ  
 АҒЗАСЫНДАҒЫ АЗОТТЫҚ АЛМАСУҒА ЦЕОЛИТТІҢ ӘСЕРІ**

(Адам және жануарлар физиологиясы институты,  
 \*Қазақ мемлекеттік қыздар педагогикалық университеті)

*Күйіс қайыратын малдарға қорғасын тұзымен жасалған созылмалы тәжірибелерде қандағы аммиак пен мочевианың жоғарылауына әкелетін гепатоцит функциясының бұзылуын байқадық. Азыққа цеолит қосып беру қорғасын тұзының улы әсерін бейтараптайтыны анықталды.*

Кейінгі жылдары адамзаттың қоршаған ортаның қолайсыз факторларына қатысты экологиялық қарым-қатынасының түрлі аспектілері зерттеушілердің назарында болып отыр [1].

Ауыр металл тұздары бауырда, бүйректе жинақтала отырып ДНК синтезі мен нуклеин қышқылдарының метаболизмін бұзады [2]. Сондай ауыр металдың бірі-қорғасын тұзы. Адам мен жануарлар денесіне тыныс алу және асқазан – ішек жолдары арқылы еніп, қорғасын тұзы қан айналым және жүрек-қан тамырлар жүйесін зақымдайды, орталық және шеткі нерв жүйесінің дегенеративті өзгерісін туғызады, зат алмасу процесін, оның ішінде липидтік алмасуды өзгертеді, белок синтезін баяулатады және ферменттердің тотығу-тотықсыздану процесін бәсеңдетеді.

Ауыр металдардың улы әсерін бейтараптауда кейінгі жылдары жануарлар азығына адсорбент қосып беру кеңінен қолданыс табууда. Осындай адсорбенттердің біріне цеолит жатады. Ол ағздан ауыр металл тұздарын шығара отырып, зат алмасу процесін жеделдетеді.

Біздің жұмысымыздың мақсаты қорғасын тұзының азоттық алмасуға әсерін және цеолиттің адсорбент ретіндегі маңызын зерттеу болып табылады.

#### Зерзаттары және әдістері

Ұзақ мерзімді созылмалы тәжірибелерге қазақтың биязы жүнді қойлары алынды. Тәжірибелер аш ішектің бөлігін 25-30 см мөлшерде оқшаулау және бауыр қақпа венасына ангиостомия жасау арқылы жүргізілді. Тәжірибе 4 кезеңге бөлінді. 1-ші кезеңде (бақылау) жануарлар 10 күн бойы тамақтанудың жалпы жағдайында ұсталды. 2-ші кезеңде – жануарларға негізгі азыққа қосып қорғасын ацетаты (20 мг/кг тірі салмаққа) белгіленген мөлшерде енгізілді. 3-ші кезеңде – қорғасын ацетатымен қатар негізгі азыққа табиғи адсорбент – цеолит (1г/кг тірі салмаққа) қосып берілді. 4-ші кезеңде барлық қоспаларды беру тоқтатылып, ағздағы өзгерістер анықталды. Күре тамыр мен бауырдың қақпа венасынан бір мезгілде қан алынды. Қан плазмасынан аммиак [3] пен мочевианың [4] концентрациясы анықталды. Алынған нәтижелерге Microsoft Excel бағдарламасымен статистикалық өңдеу жүргізілді.

#### Нәтижелер және оларды талдау

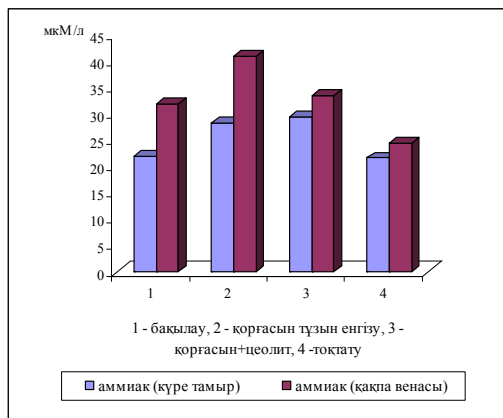
Ауыр металл тұздары ең алдымен бауыр функциясын бұзады. Жүргізілген тәжірибелер жануарлар азығына сірке қышқылды қорғасын тұзын қосып беру күре тамыр және қақпа венасының қан құрамындағы аммиак концентрациясын жоғарылататынын көрсетті.

**Кесте** - Сірке қышқылды қорғасын тұзы мен цеолит енгізгендегі қан құрамындағы биохимиялық өзгерістер

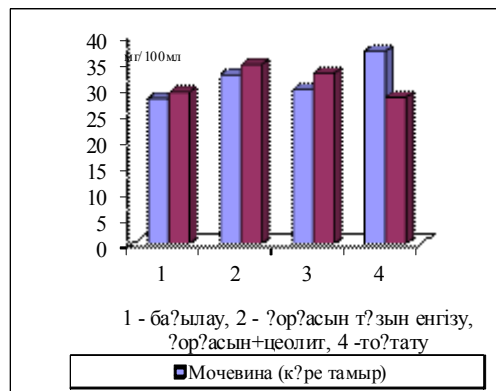
| Көрсеткіштер                          | Тәжірибе кезеңдері |                      |                     |                       |
|---------------------------------------|--------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|
|                                       | 1                  | 2                    | 3                   | 4                     |
| Аммиак, мкМ/л<br>(күре тамыр)         | 21,9±0,3           | 28,3±0,5<br>(p<0,05) | 29,4±0,7            | 21,6±0,9<br>(p<0,001) |
| Аммиак, мкМ/л<br>(қақпа венасы)       | 31,8±1,2           | 41,0±2,1<br>(p<0,01) | 33,5±2,8            | 24,4±1,3<br>(p<0,01)  |
| Мочевина, мг/100мл<br>(күре тамыр)    | 27,5±1,3           | 32,3±1,3<br>(p<0,05) | 29,5±0,6            | 36,8±2,4<br>(p<0,01)  |
| Мочевина, мг/100 мл<br>(қақпа венасы) | 29,0±1,4           | 34,3±1,6<br>(p<0,05) | 32,6±0,9<br>(p<0,1) | 28,0±1,7              |

Қорғасын тұзымен әсер еткенде қан құрамындағы аммиак концентрациясының жоғарылауы аммиактың мочевиінаға айналуын қамтамасыз ететін бауыр функциясының бұзылғандығын көрсетеді.

Жануарлар азығына сірке қышқылды қорғасын тұзымен бірге цеолит қосып беру порталды қандағы аммиак концентрациясын, ал күре және бауыр қақпа қанындағы мочевиіна деңгейін төмендетті.



**Сурет 1 - Қорғасын тұзын қосқандағы күре және қақпа венасының қан құрамындағы аммиак мөлшері**



**Сурет 2 - Қорғасын тұзын қосқандағы күре және қақпа венасының қан құрамындағы мочевиіна мөлшері**

Қорғасын тұзын беруді тоқтату аммиак пен мочевиіна деңгейін төмендеткенін байқадық.

Созылмалы тәжірибелерде қойларға қорғасын тұзын енгізгендегі өзгерістер, яғни күре және бауыр қақпа венасында аммиак пен мочевиіна концентрациясының жоғарылауы гепатоциттер функциясының бұзылғанын көрсетеді [5]. Сонымен бірге қорғасын тұзы қойлардың асқорыту жүйесінде функционалдық өзгерістер тудырады. Азыққа цеолит қосып беру байқалған ауытқуларды түзете отырып, жануарлар ағзасындағы азоттың руменогепатикалық айналымын тұрақтандырады.

#### Әдебиеттер

- 1 Гигиена. Под общей редакцией академика РАМН Т.И.Румянцева. Учебник для вузов. М.: ГЭОТАР – МЕД. 2001
- 2 Korenkova B., Nad P., Skalicka M. The effects of industrial emissions on heavy metal occurrence in organs and tissues of cattle in the vicinity of Kosice.//J. Trace and microbe techn.,1998, Vol. 16, No 4, P. 445-452.
- 3 Chaney, A.L. Modified reagents for determination of urea and ammonia /A.L. Chaney, E.P. Marbach // Clin. Chem. – 1962. - V. 8. – P. 130.
- 4 Kulhanek, V. Mimoradne citlive a jednoduche stanoveny mocoviny v krevnim seru, mozkomisnem toku a v moci /V. Kulhanek, V Vojtiskova // Vnitr. Lek. – 1965. – № 7. – P. 692-696.
- 5 Валеева И.Х., Гумерова А.А., Киясов А.П. О механизме пролиферации гепатоцитов, индуцированной нитратом свинца // Казанский мед. журнал, 2000, 81, №3, 195-197 Б.

#### Резюме

В условиях хронического эксперимента на жвачных животных при свинцовом отравлении наблюдали нарушение функции гепатоцитов, приводящее к повышению содержания аммиака и мочевины в крови животных. Добавление в рацион животных цеолита нивелирует отравляющее действие соли свинца.

#### Summary

In the conditions of chronic experiment on ruminant animals at the leaden poisoning looked after the parafunction hepatocytis resulting in the increase of maintenance of ammonia and urea in the blood of animals. Addition in the ration of animals of zeolite levels poison action of salt of lead.

ӘОЖ: 612.015.1-3-616.45-001.1/3

Төлеуханов С.Т., Атанбаева Г.Қ., Бактыбаева Л.Қ., Ургалиев Ж.Ш.  
ЕГЕУҚҰЙРЫҚТАРДЫҢ ҚАНЫНЫҢ ЛЕЙКОГРАММАСЫНА  
АУЫР МЕТАЛДАРДЫҢ ӘСЕРІ  
(әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті)

*Егеуқұйрықтардың мырыш, кадмий және үш тұздың қосылыстарымен уланғаннан кейін лейкограммалардағы көрсеткіштер 60 күндік бақылауда, иммунодепрессивті синдромға ұшыраған. Ал қорғасын тұзымен уланған егеуқұйрықтардың 60-шы күні лейкограмма көрсеткіштері бақылау тобындағы егеуқұйрықтардың лейкограмма көрсеткіштеріне ұқсастығы байқалды.*

Қазіргі таңда қоршаған орта факторларымен осы заманғы адамдардың экологиялық қарым-қатынасының түрлі аспектілері зерттеушілердің назарындағы мәселе болып табылады. Көптеген созылмалы аурулар жағымсыз экологиялық факторлардың адам ағзасына әсер етуінің нәтижесі деп есептеледі [1, 2]. Аурудың басталуы ағзаның иммундық қызметінің төмендеуімен байланысты. Иммунотапшылық жағдайы иммундық жүйенің бір немесе бірнеше элементтері қызметтерінің жойылуының немесе жетіспеушілігінің нәтижесінде пайда болады. Спецификалық иммундық тапшылық негізінде туындайтын ауру себептері, жүре пайда болатын иммунитет негіздері Т– және В – лимфоциттер қызметтерінің бұзылуы болып табылады. Ал спецификалық емес иммунотапшылықтар иммундық жүйенің иммундық жауапта салғырт әрекет ететін комплемент және фагоциттер секілді элементтерінің бұзылуына байланысты. Алғашқы иммунотапшылық жағдайы иммундық жүйе жасушаларының ішкі ақауларынан және көбіне генетикалық өзгерістерден болады [3, 4, 5]. Ал екінші иммунотапшылық жағдайы ағзаға экологиялық факторлардың (ауыр металлдар және т.б.), дәрілік препараттардың әсерінен, тамақтанудың жетіспеушілігінен туындайды [6]. Сондықтан да, екінші иммунологиялық тапшылық ағза жасушаларындағы генетикалық өзгерістерге негізделмеген, яғни жүре пайда болған фактор болып табылады және оны коррекциялауға болатыны сөзсіз. Бірақ артық мөлшердегі металлдар иондарының жануарлар мен адамдардың иммундық жүйесіне әсері жеткілікті көлемде зерттелмеген.

Ауыр металлдармен қатты улану нәтижесінде шеткі қанның лейкограммасында болатын өзгерістерді анықтау қазіргі заманғы клиникалық диагностика үшін өте маңызды.

#### **Зерттағары және әдістері**

Зерттеу жұмысы салмағы 200-220 граммды, олар стандартты виварлы тамақпен тамақтандырылды. Ересек, түрлі жынысты, жалпы саны 50 ақ лабораториялық егеуқұйрықтарға жасалынды.

Ауыр металлдар тұздарының улы әсерін анықтау үшін лабораториялық егеуқұйрықтарды 5 экспериментальді топқа бөлінді. Әр топқа 10 егеуқұйрықтардан болды. 1 топтағы жануарларға мырыш ( $ZnSO_4$ ) тұзы 500 мг/л концентрацияда, 2-ші топтағы жануарларға қорғасын  $Pb(COOH_2)$  тұзының судағы 3,0 мг/л концентрациясы, 3-ші топтағыларға кадмий ( $CdCl_2$ ) тұзының судағы 0,1 мг/л концентрациясы, ал 4-ші топтағы жануарларға мырыш+ қорғасын + кадмий тұздары 0,1 + 3,0 + 500 мг/л концентрациясында берілді. 5-ші бақылау тобындағы егеуқұйрықтар кәдімгі таза ауыз суымен қамтылды. Ауыр металлдар тұздары ерітілген су егеуқұйрықтарға 1 мл-ден пероральді жолмен 10 күн бойы берілді. 60 күн бақыланды. Шектелген зиянсыз концентрациясы 50 есе артырылған ауыр металлдар тұздарының судағы мөлшерімен жүргізілді. Егеуқұйрықтар қанының лейкограммаларының бақылау жағдайындағы және қорғасын ацетаты, мырыш сульфаты, кадмий хлориды, үш тұздардың қоспасы қосылған су ішкізгеннен кейін 60 күн қадағаланып зерттелді.

Қанның иммундық жағдайын мынандай әдістермен бақылады: қан жұғындысын дайындау және оны Романовский-Гимза бояуымен бояу; қан жұғындысы бойынша лейкоцитарлы формуланы анықтау әдісі жаңа үлгідегі бағдарламасы бар компьютерге жалғанып, бейнекамерамен қамтылған SA3300C микроскоп көмегімен қан клеткаларында болған өзгерістерді тіркеп, талдау жасалынды [7, 8, 9, 10].

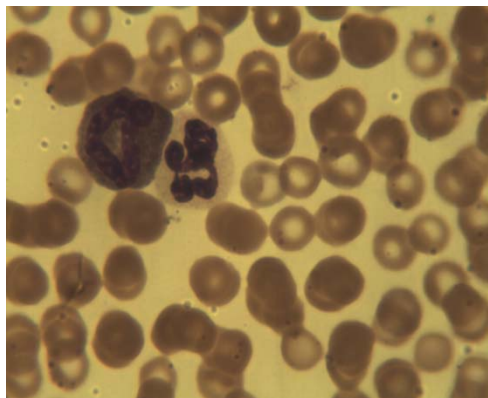
Зерттеу барысында мәліметтерге математикалық талдау жасау Microsoft Excell бағдарламасының көмегімен жасалынды. Барлық алынған мәліметтер статистикалық нақтылық ерекшеліктерін салыстыру Стьюдент (t) ісімен орындалды.



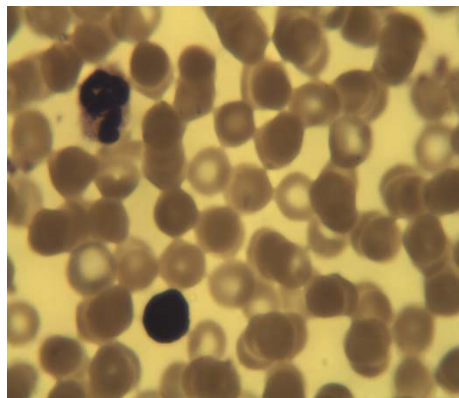
### Нәтижелер және оларды талдау

Егеуқұйрықтар қанының лейкограммасының бақылау жағдайында және қорғасын ацетаты, мырыш сульфаты, кадмий хлориды және осы үш тұздың қоспасы қосылған су ішкізгеннен кейін 60 күн қадағаланып зерттелді.

Бақылау жағдайындағы егеуқұйрықтардың лейкограммасымен салыстырғанда, мырыш тұзымен уланғаннан кейін миелоциттердің пайда болды 9%-ті көрсетті.

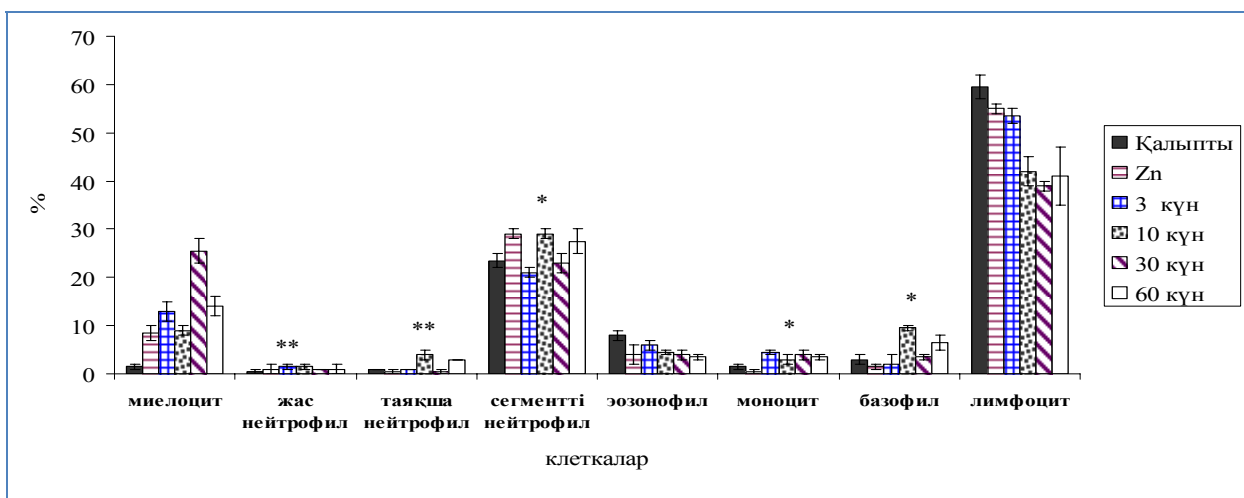


**Сурет 1** - Мырыш тұзымен уланғаннан кейінгі сегментті нейтрофиль көріністері



**Сурет 2** - Қорғасын тұзымен уланғаннан кейінгі егеуқұйрықтардың сегментті нейтрофильдің және көрінісі.

Сегментті нейтрофильдер бақылау жағдайында 28% болса, 3 күні миелоциттер 12%-ке жоғарлады, сегментті нейтрофильдер бақылау жағдайымен салыстырғанда төмендеген 20%-ке, 10 күні миелоцит санының 9% қайта төмендегені байқалды, сегментті нейтрофильдер 30% бақылау жағдайындағы көрсеткіштерді көрсетті. Ал 30 күні миелоциттердің 25% -ке ( $P < 0,05$ ) дейін өскен, сегментті нейтрофильдері өзгеріс көрсеткен жоқ. 60 күні миелоциттер 15% -ке жоғарлады, сегментті нейтрофильдері 22%-ті көрсеткен. Сонымен қатар жас нейтрофильдер мен таяқша нейтрофильдердің 0,5% ғана пайда болғанын атап айтсақ, перифериялық қанда миелоциттер және сегментті ядролы нейтрофильдердің ( $P < 0,05$ ), жоғарғы көрсеткіштерін байқадық. Сегментті нейтрофильдердің ядролары бірнешеге бөлінгені (Сурет 1) көрсетілген. Сондай-ақ таяқша және жас нейтрофильдерде ( $P < 0,01$ ), эозинофилдер мен базофилдердің, моноцит ( $P < 0,05$ ), көрсеткіштерінің ең жоғары саны 5-10% қатты өзгеріс болған жоқ. Ал лимфоцитарлы көрсеткіші 30-60 күндері екі есе төмендеді (Сурет 3). Біздің зерттеуіміз жануарлар салмағына 250 мг дозадағы мырыш тұзы нейтрофилез және лимфопения негізінде лейкопения туындайтынын көрсетті.



Ординат өсінде – клетканың санының % -тік көрсеткіші, абсцисс өсінде – қан клеткалары.

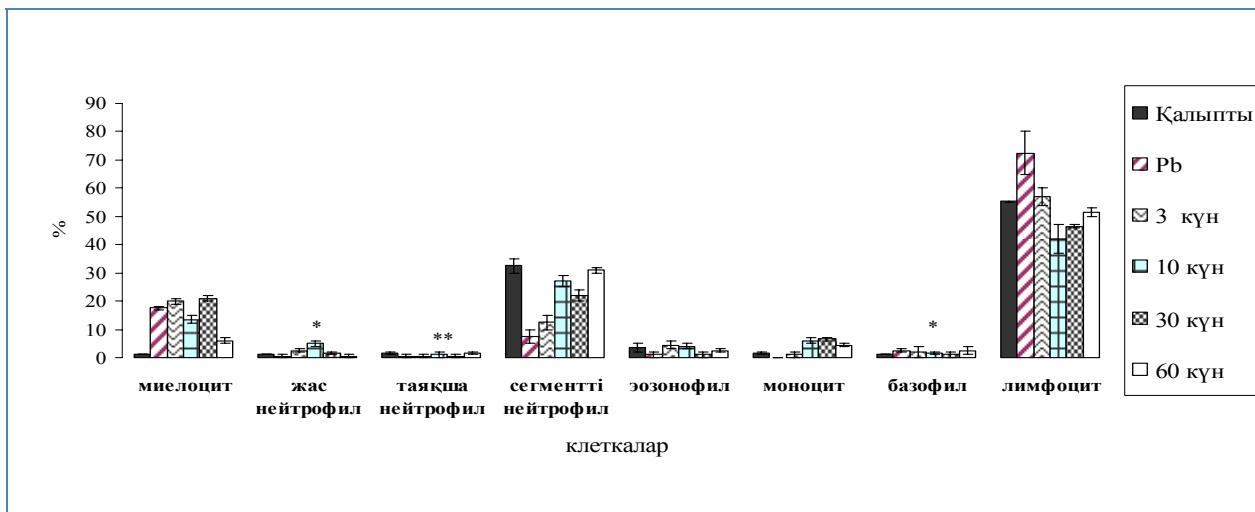
Ескерту: ANOVA тәсілімен нақтылықтың орташа мәнінің айырмасы параметрлік емес тандауға: \* алдындағы параметрдің қатынасына ( $P < 0,05$ ), бір тәуліктік бақылауды есептегендегі бақылаудың қатынасына \*\* - алдындағы параметрдің қатынасы бойынша ( $P < 0,01$ ).

**Сурет 3** - Мырыш тұзымен уланғанға дейінгі және кейінгі егеуқұйрықтардың лейкограммасының көрсеткіштері.

Қорғасын тұзымен уланған топтағы егеуқұйрықтар лейкограммалрындағы өзгерістері. Мұнда бақылау жағдайындағы егеуқұйрықтардың лейкограммасымен салыстырғанда, қорғасын тұзымен уланғаннан кейін миелоциттердің саны 18%-ті көрсетті. Сегментті нейтрофильдер бақылаумен салыстырғанда 9%-ке күрт төмендегені байқалды, 3 күні миелоциттер 20%-ке жоғарлады, сегментті нейтрофильдер бақылау жағдайымен салыстырғанда төмендеген 10%-ке нейтрофелезді ( $P < 0,05$ ) көрсетті, 10 күні миелоцит саны 12%-ке қайта төмендегені байқалды, сегментті нейтрофильдер 25% - ті көрсетті. Ал 30 күні миелоциттердің 20% -ке дейін өскен, сегментті нейтрофильдері өзгеріс көрсеткен жоқ. 60 күні миелоциттер 5% - ке төмендеген, сегментті нейтрофильдері 30%-ті бақылау жағдайындағы көрсеткіштерді көрсетті. Сегментті нейтрофильдердің ядролары бірнешеге бөлінгені көрсетілген. Сондай-ақ таяқша ( $P < 0,05$ ) және жас нейтрофилдерде ( $P < 0,01$ ), эозинофилдер мен базофилдердің ( $P < 0,05$ ), моноцит көрсеткіштерінің ең жоғары саны 2-5% қатты өзгеріс болған жоқ. Ал лимфоцитарлы көрсеткіші уланғаннан кейін 80% дейін жоғарлады, 3 күні бақылау жағдайындағы көрсеткіштерді көрсетті 55%. 10-30 күндері екі есе төмендеді, 60 күні бақылау жағдайындағы көрсеткішті көрсетті (Сурет 2).

Қорғасын ацетатымен уланған егеуқұйрықтардың 10 күні перифериялық қанының жалпы сипатына қарасақ нейтрофилез және лимфопения негізінде ауыр лейкопения болғаны анық. Қорғасын тұзымен уландырылғаннан кейін сегментті нейтрофилдер қатты өзгерген жоқ (Сурет 4). Қорғасын ацетатымен уланған егеуқұйрықтардың 60 күні лейкограмма көрсеткіштері бақылау жағдайындағы лейкограмма көрсеткіштеріне ұқсастығы байқалды, яғни иммунитеті қайта жоғарлай бастады.

Кадмий тұзымен уланған топтағы егеуқұйрықтар бақылау жағдайындағы егеуқұйрықтардың лейкограммасымен салыстырғанда, кадмий тұзымен уланғаннан кейін 1-3 күндері миелоциттердің пайда болған, 12%-ті көрсетті. Сегментті нейтрофильдер 30% бақылау жағдайындағы көрсеткіштермен салыстырғанда қатты өзгеріс көрсеткен жоқ, 10 күні миелоцит саны 12%-ке қайта жоғарлағаны байқалды, сегментті нейтрофильдер 35%-ті көрсетті. Ал 30 күні миелоциттердің 22% - ке дейін өскен, сегментті нейтрофильдері 28%-ке төмендеді. 60 күні миелоциттер 17% - ке төмендеген, сегментті нейтрофильдері 18%-ті ( $P < 0,05$ ) көрсетсе, бақылау жағдайындағы көрсеткіштермен салыстырғанда төмендеген, жетілмеген нейтрофильдердің перифериялық қанға шығуы байқалды.

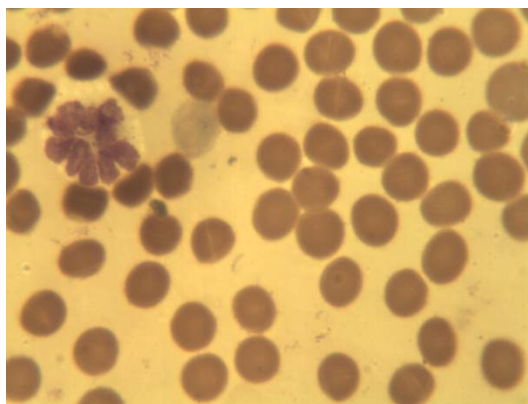


Ординат өсінде – клетканың санының % -тік көрсеткіші, абсцисс өсінде – қан клеткалары.

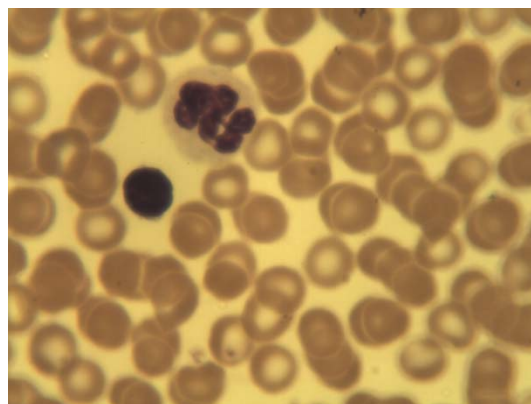
Ескерту: ANOVA тәсілімен нақтылықтың орташа мәнінің айырмасы параметірлік емес таңдауға: \* алдындағы параметрдің қатынасына ( $P < 0,05$ ), бір тәуліктік бақылауды есептемегендегі бақылаудың қатынасына \*\* - алдындағы параметрдің қатынасы бойынша ( $P < 0,01$ ).

**Сурет 4** - Қорғасын тұзымен уланғанға дейінгі және кейінгі егеуқұйрықтардың лейкограммасының көрсеткіштері.

Ал таяқша және жас нейтрофилдерде ( $P < 0,01$ ), эозинофилдер мен базофилдердің және моноцит көрсеткіштерінің ең жоғары саны 2-8% қатты өзгеріс болған жоқ. Ал лимфоцитарлы көрсеткіші уланғаннан кейін 3-10 күндері 30%-ке дейін төмендей бастады. Кадмий тұзымен уланғаннан кейін мұнда сегментті нейтрофильдер екі есе бірнеше бөліктерге бөлінгенін байқалды (Сурет 5).



**Сурет 5** - Кадмий тұзымен уланғаннан кейінгі егеуқұйрықтардың сегментті нейтрофильдің көрінісі

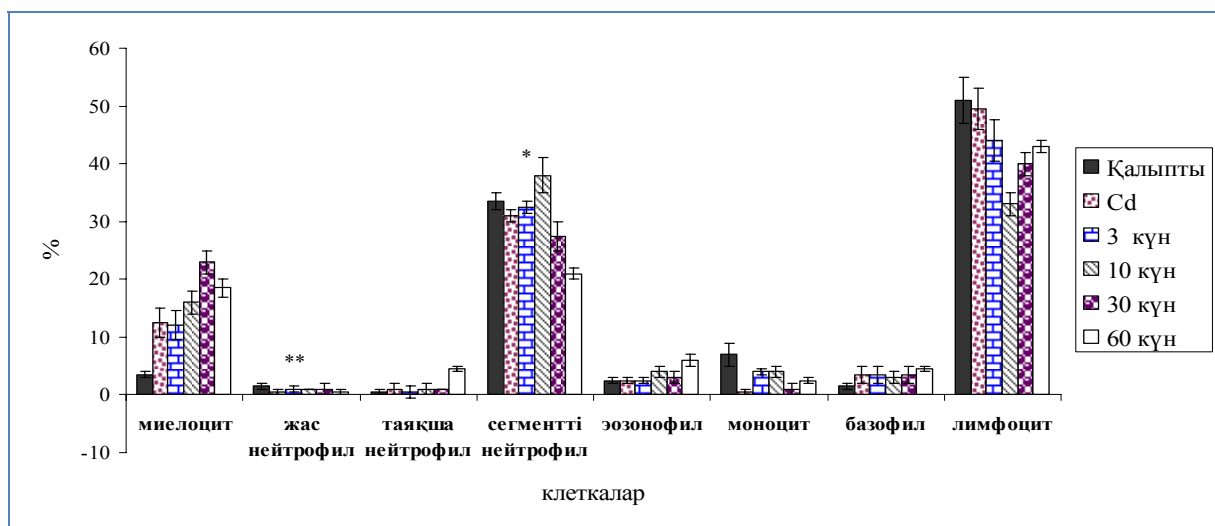


**Сурет 6** - Мырыш, қорғасын, кадмий тұздарының қосындысымен уланғаннан кейінгі егеуқұйрықтардың сегментті нейтрофильдің көрінісі.

30-60 күндері қайта лимфоциттер саны жоғарлады, бірақта бақылау жағдайындағы көрсеткіштермен салыстырғанда төменгі көрсеткішті 38% көрсетті (Сурет 7).

Яғни, кадмий тұзы лимфоциттер санының күрт артуына жағдай тудырды, жетілмеген лимфоциттер санын арттырады, иммунитеттің белсенділігін төмендетеді.

Мырыш, қорғасын, кадмий осы үш тұздың қосылысымен уланған топтағы егеуқұйрықтар бақылау тобындағы егеуқұйрықтардың лейкограммасымен салыстырғанда, уланғаннан кейін миелоциттер саны 30%-ке дейін жоғарлады шеткі қанға шыққаны байқалды.



Ординат өсінде – клетканың санының % -тік көрсеткіші, абсцисс өсінде – қан клеткалары.

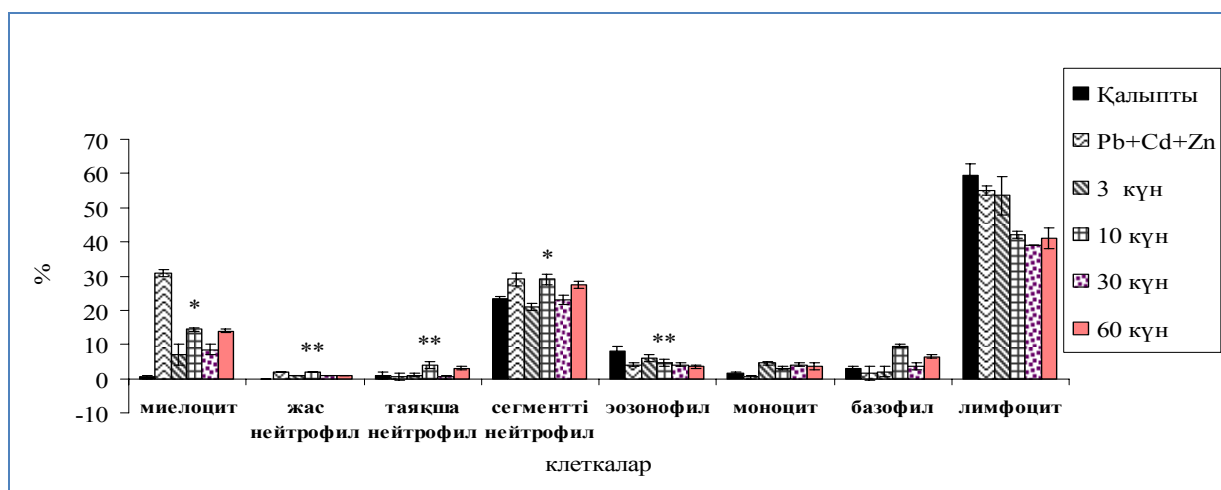
Ескерту: ANOVA тәсілімен нақтылықтың орташа мәнінің айырмасы параметрлік емес таңдауға.\* алдындағы параметрдің қатынасына ( $P < 0,05$ ), бір тәуліктік бақылауды есептемегендегі бақылаудың қатынасына \*\* - алдындағы параметрдің қатынасы бойынша ( $P < 0,01$ ).

**Сурет 7** - Кадмий тұзымен уланғанға дейінгі және кейінгі егеуқұйрықтардың лейкограммасының көрсеткіштері

Сегментті нейтрофилдер 30%-ке бақылау жағдайдағы көрсеткіштермен салыстырғанда қатты өзгеріс көрсеткен жоқ, 3 күні миелоциттер 8% -ке ( $P<0,05$ ) төмендеген, сегментті нейтрофильдер бақылау жағдайымен салыстырғанда 20%-ке төмендеген, нейтрофелезді көрсетті, 10 күні миелоцит саны 12%-ке қайта жоғарлағаны байқалды, сегментті нейтрофильдер 30%-ті көрсетті. Ал 30 күні миелоциттердің 8% -ке қайта төмендеген, сегментті нейтрофильдерінде 28%-ке ( $P<0,05$ ) төмендеді. 60 күні миелоциттер 15% - ке таяқша ( $P<0,05$ ) және жас нейтрофилдерде ( $P<0,01$ ), сегментті нейтрофильдері бақылау жағдайындағы көрсеткіштермен салыстырғанда төмендеген, жетілмеген нейтрофильдердің перифериялық қанға шығуы байқалды.

Таяқша нейтрофиль ( $P<0,01$ ) және жас нейтрофиль ( $P<0,01$ ) эозинофилдер ( $P<0,01$ ) мен базофилдердің, моноцит көрсеткіштерінің ең жоғары саны 2-12% -ті көрсетті қатты өзгеріс болған жоқ. Ал лимфоцитарлы көрсеткіші уланғаннан кейін 3-30 күндері 30%-ке дейін төмендей бастады. 60 күні қайта лимфоциттер саны жоғарлады, бірақта бақылау тобындағы көрсеткіштерден төменгі көрсеткішті көрсетті.

Сонымен үш тұздың қосылысы уландыру барысында жылдам дамиды агранулоцитті лейкокемияны тудырады және жетілмеген лимфоциттер санын арттырады, иммунитеттің белсенділігін жояды деп тұжырым жасауға болады. Сегментоядролы нейтрофильдер гиперсегменттелген (Сурет 6). Қалған агранулоцитті лимфоциттер саны 4-5 есеге төмендеді (Сурет 8).



Ординат өсінде – клетканың санының % -тік көрсеткіші, абсцисс өсінде – қан клеткалары.

Ескерту: ANOVA тәсілімен нақтылықтың орташа мәнінің айырмасы параметрлік емес тандауға: \* алдындағы параметрдің қатынасына ( $P<0,05$ ), бір тәуліктік бақылауды есептегендегі бақылаудың қатынасына \*\* - алдындағы параметрдің қатынасы бойынша ( $P<0,01$ ).

### Сурет 8 - Мырыш, қорғасын, кадмий тұздарының қосындысының уланғанға дейінгі және кейінгі егеуқұйрықтардың лейкограммасының көрсеткіштері

Сонымен мырыш тұзымен уланған егеуқұйрықтардың лейкограммасында нейтрофилез және лимфопения негізінде лейкопения туындайтынын көрсетсе, ал қорғасын ацетатымен уланған егеуқұйрықтардың 60 күні лейкограмма көрсеткіштері қайта қалпына келгенін көрдік, яғни иммунитеті қайта жоғарлай бастады.

Кадмий тұзы лимфоциттер санының күрт артуына жағдай тудырды. Кадмий уландыру барысында жылдам дамиды агранулоцитті лейкокемияны тудырады және жетілмеген лимфоциттер санын арттырады, иммунитеттің белсенділігін төмендетеді. Кадмий тұзымен уланғаннан кейін мұнда сегментті нейтрофильдер екі есе бірнеше бөліктерге бөлінгені байқалды. Нейтрофилез және лимфопения барысында лейкопения тіркелді. Нейтрофильдер токсикалық түйіршіктелген және ядросы гиперсегменттелгендігімен сипатталды. Кадмий тұзымен уланған жануарларда патологиялық лимфоцитоз, нейтропения лейкопения барысында байқалды.

Үш тұздың қосылысы уландыру барысында жетілмеген лимфоциттер санын арттырады, иммунитеттің белсенділігі төмендейді. Мұнда 3 күнен 60 күнің аралығында, егеуқұйрықтардың иммунитетінің қалпына келмегенін, керісінше иммунодепрессияға ұшрағанын байқадық.

Қорыта келе егеуқұйрықтардың мырыш, кадмий және үш тұздың қосылыстарымен уланғаннан кейін лейкограммалардағы көрсеткіштер 60 күндік бақылауда, иммунодепрессивті синдромға

ұшрағанын байқадық. Ал қорғасын тұзымен уланған егеуқұйрықтардың лейкограмма көрсеткіштері 60-шы күні бақылау тобындағы егеуқұйрықтардың лейкограмма көрсеткіштеріне ұқсас болғаны айқындалды.

#### Әдебиеттер

- 1 Экологическая антология «Город XXI века» // Под ред. Т. Костиной. Алматы. 1999.
  - 2 В. Г. Галактионов. Иммунология: Учебник // М.: Изд-во МГУ. 1998.
  - 3 Свамбаев Е.А., Тулеуханов С.Т., Бактыбаева Л.К., Гумарова Л.Ж. Влияние солей свинца на показатели иммунной системы крыс. // Основные проблемы сохранения биоразнообразия. Материалы международной научно-практической конференции, 17-18 октября 2006 г.- Алматы, 2006.-с.33-34.
  - 4 Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы: механизм действия и клинического применение. // Иммунология.-2003.-№4, т.24, с 196-203.
  - 5 Principles and methods for assessing direct immunotoxicity associated with exposure to chemicals // Environ. Health Criteria. —2008. —N180. —C1. —VI. —390 p.
  - 6 Тулеуханов С.Т., Бактыбаева Л.К., Свамбаев Е.А., Гумарова Л.Ж. Влияние солей тяжелых металлов на картину периферической крови крыс. // Вестник КазНУ. Серия биологическая.-2006.- №3(29), с36-41.
  - 7 Кольбай И.С., Ибадуллаева С.Ж. Системный анализ кардиогемодинамики у жителей различных регионов Приаралья // Известия МН-АН РК. Сер.биол. и мед. - 1997.- № 4. - с. 46-56.
  - 8 Калдыбаев Б.К. Эколого - генетическая оценка последствий загрязнения агроценозов восточной части зоны земледелия Иссык-Кульской области. // Автореферат дисс. канд. биол. наук. Алматы, 2000-28
- с.
- 10 Гигиена Под общей редакцией академика РАМН Т. И. Румянцев. Учебник для вузов // М.: ГЭОТАР - МЕД, 2001.

#### Резюме

Показатели лейкограммы выявили, что цинковая, кадмиевая и сочетанной трехсолевая интоксикация в течение 60 дней привела к иммунодепрессии. При свинцовой интоксикации также наблюдалась иммунодепрессия, но на 60 сутки наблюдения показатели были близки к норме.

#### Summary

The factors of leucogramme have revealed that zinc, cadmium and combined combinative intoxication for 60 days has brought about immunodepressive syndrome. Under lead intoxication also existed immunodepressive syndrome, but on 60 day of the observation to factors were close to normal.

ЮБИЛЕИ



**Выдающийся ботаник-ресурсовед Казахстана**

*К 70-летию со дня рождения члена - корреспондента*

*НАН РК Мадениета Каратаевича Кукунова*

5 марта 2010 г. - одному из ведущих ботаников - ресурсоведов страны, члену-корреспонденту НАН РК, профессору, доктору биологических наук Мадениету Каратаевичу Кукунову исполнилось бы 70 лет. 12 июня 1997 г. он скончался после тяжелой болезни. Вся творческая жизнь Мадениета Каратаевича Кукунова неразрывно связана с Институтом ботаники, где в 1963 г. он начал трудовую деятельность после окончания естественно-географического факультета КазПИ им. Абая, по специальности «география и биология».

Он прошел все ступени от старшего лаборанта до заместителя директора Института ботаники. Под руководством профессора В. П. Михайловой в 1970 г. он успешно защитил кандидатскую диссертацию на тему «Биоэкологическая характеристика некоторых видов сем. Гречишных (*Polygonaceae* Lindl.) и содержание в них флавоноидов».

В 1989 г. в г. Ташкенте Мадениет Каратаевич защитил докторскую диссертацию «Ресурсы официальных и перспективных лекарственных растений юго-востока Казахстана». С 1976 г. и до последних дней М. К. Кукунов возглавлял лабораторию растительных ресурсов Института ботаники. В 1995 г. он за выдающиеся результаты ботанических исследований был избран членом-корреспондентом Национальной Академии наук Республики Казахстан.

Мадениет Каратаевич Кукунов известен в республике и далеко за ее пределами как высококвалифицированный специалист в области ботанического ресурсоведения, охраны растений и рационального природопользования. Под его руководством и непосредственном участии выполнен ряд фундаментальных научных разработок и внедрений по отдельным группам полезных растений. Наряду с перспективными методами поиска полезных растений, применяемых в ботаническом ресурсоведении, М.К.Кукунов особо выделял этноботанические исследования. Обобщением широких поисковых исследований были составлены карты с легендами, которые переданы для практического использования «Союзэфирлекарспрому», РПО «Фармация».

М. К. Кукунов – автор 171 научных работ, в их числе 3 личные монографии, 4 коллективных, 6 тематических сборников, «Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений Казахстана», авторское свидетельство «Способ получения средства, обладающего противоопухолевой активностью». Он был участником многих международных, всесоюзных, республиканских съездов, симпозиумов, конференций. Его работы отмечены грамотами и медалями ВДНХ республики и бывшего Союза, президиума НАН РК.

Под руководством профессора М. К. Кукунова защищено 6 кандидатских и 2 докторские диссертации, студентами КазГУ и КарГУ выполнены многочисленные дипломные работы. Им создана школа по ботаническому ресурсоведению.

М.К. Кукунов до последних дней продолжал плодотворно руководить разносторонними научными исследованиями. Он успел написать полностью книгу «Ботаническое ресурсоведение Казахстана», но к сожалению, ему не удалось увидеть ее вышедшей в свет. В этой книге подведены итоги ресурсоведческих исследований за 40 – летний период и намечены перспективы развития ботанического ресурсоведения. Этот труд – первый и единственный в своем роде учебник, не имеющий аналогов в отечественной науке, который по праву пополнит ее золотой фонд.

В память ученого лаборатории растительных ресурсов Института ботаники и фитоинтродукции МОН РК присвоено имя Мадениета Каратаевича Кукунова, а также новому виду астрагала – *Astragalus kukenovii* Vait.

Мадениет Каратаевич Кукунов талантливый ученый, замечательный педагог, прекрасный человек – таким он останется в памяти друзей, учеников и коллег.

**Зав. лаб. растительных ресурсов им. М.К. Кукунова  
ДГП «Института ботаники и фитоинтродукции» МОН КН РК  
Д. К. Айдарбаева**