

ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498

Индекс 75866; 25866

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ХАБАРШЫ

Биология сериясы

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

ВЕСТНИК

Серия биологическая

AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

EXPERIMENTAL BIOLOGY

№2 (79)

Алматы
«Қазақ университеті»
2019



ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ №2 (79) маусым



25.11.1999 ж. Қазақстан Республикасының Мәдениет, ақпарат және қоғамдық келісім министрлігінде тіркелген

Қуәлік №956-Ж.

Журнал жылына 4 рет жарыққа шығады

ЖАУАПТЫ ХАТШЫ

Сапарғалиева Н.С., б.ғ.к., аға оқытушы (Қазақстан)
e-mail: bb.kaznu.kz@gmail.com

РЕДАКЦИЯ АЛҚАСЫ:

Бисенбаев А.Қ., б.ғ.д., ҚР ҰҒА академигі (ғылыми редактор)
(Қазақстан)

Бекманов Б.О., б.ғ.к., доцент (ғылыми редактордың орынбасары)
(Қазақстан)

Төлеуханов С.Т., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Айташева З.Г., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Кистаубаева А.С., б.ғ.к. (Қазақстан)

Иващенко А.Т., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Мухитдинов Н.М., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Нуртазин С.Т., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Туруспеков Е.К., б.ғ.к., қауымдастырылған профессор
(Қазақстан)

Омаров Р.Т., PhD (Қазақстан)

Искаков Б.К., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Сарбасов Д., PhD, профессор (АҚШ)

Орынбаева З., PhD, профессор (АҚШ)

Курмашева Р.Т., PhD (АҚШ)

Сапарбаев М., PhD, профессор (Франция)

Ищенко А., PhD (Франция)

Лось Д., б.ғ.д., профессор (Ресей)

ТЕХНИКАЛЫҚ ХАТШЫ

Қайрат Б.Қ., биология магистрі (Қазақстан)

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

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



**ҚАЗАҚ
УНИВЕРСИТЕТІ**
Б А С П А Ү Й І

Ғылыми басылымдар бөлімінің басшысы

Гүлмира Шаккозова

Телефон: +7 747 125 6790

E-mail: Gulmira.Shakkozova@kaznu.kz

Редакторлары:

Гүлмира Бекбердиева

Агила Хасанқызы

Компьютерде беттеген

Айгул Алдашева

ИБ №

Пішімі 60x84 $\frac{1}{8}$. Көлемі 0 б.т. Офсетті қағаз.

Сандық басылыс. Тапсырыс № 0. Бағасы келісімді.

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің
«Қазақ университеті» баспа үйі.

050040, Алматы қаласы, әл-Фараби даңғылы, 71.

«Қазақ университеті» баспа үйінің баспаханасында басылды.

© Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, 2019

ШОЛУ МАҚАЛАСЫ



REVIEW ARTICLE



ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

МРНТИ 34.15.25; 31.27.00; 34.15.27

Алыбаев С.Д., Бисенбаев А.К.

Казахский национальный университет имени им. аль-Фараби,
Казахстан, г. Алматы, e-mail: amangeldy.bisenbaev@kaznu.kz

TOR СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА В РАСТЕНИЯХ

Мишень рапамицина млекопитающих (Mammalian target of rapamycin (mTOR)) представляет собой серин-треониновую киназу, которая функционирует в качестве центрального элемента в сигнальном пути, отвечающем за клеточную реакцию на стрессы и доступность питательных веществ/энергии, и обеспечивает соответствующие изменения процессов роста, пролиферации и выживания клеток, а также синтеза белка. До настоящего времени изучение молекулярных механизмов TOR сигнальной системы в основном было сосредоточено на клетках дрожжей и животных. Растительные организмы, в большинстве своем неподвижные и ограниченные к одному месту обитания, обязаны постоянно подстраивать темпы роста (выраженного в увеличении размеров органов) и развития (состоящего в формировании новых органов и структур) в зависимости от наличия питательных веществ. Кроме того, растения также преодолевают неблагоприятные внешние факторы, не имея возможности их физически избежать. TOR сигнальная система является центром регуляторных сетей поддержания баланса между защитой и ростом у всех эукариот. Следовательно, раскрытие молекулярных механизмов TOR сигнальной системы у растений является ключом к контролю устойчивости к стрессу и продуктивности растений. Последние достижения в изучении пути передачи сигналов TOR у растений позволяют предположить значительное совпадение клеточных процессов и процессов развития, которые регулируются TOR у растений, животных и людей. Целью данного обзора является раскрытие последних достижений в исследованиях пути передачи сигналов TOR у растений.

Ключевые слова: TOR, млекопитающие, растения, водоросли, *Saccharomyces cerevisiae*, рапамицин, аутофагия, раптор.

Alybayev D.S., Bisenbaev K.A.
Al-Farabi Kazakh National University,
Kazakhstan, Almaty, e-mail: amangeldy.bisenbaev@kaznu.kz

TOR signaling system in plants

The mammalian target of rapamycin (TOR), is a protein Ser-Thr kinase that functions as a central element in a signaling pathway responsible for a cellular reaction towards stresses and nutrient/energy availability and promote appropriate changes in cell growth and proliferation, cell survival, and protein synthesis. Until now, study of the molecular mechanisms of TOR signaling pathway have been mainly focused on yeast and animal cells. As sessile organisms plants are limited to one habitat are obliged to constantly adjust the growth rates (expressed in increasing the size of organs) and development (consisting in the formation of new organs and structures) to the availability of nutrients. Furthermore, plants also overcome adverse external factors without being able to physically avoid them. Therefore, the disclosure of molecular mechanisms of the TOR signaling pathways in plants is the key to controlling stress resistance and plant productivity. Recent advances in the study of TOR signaling pathway in plants suggest a significant overlap in the cellular and developmental processes that are regulated by TOR in plants, animals and humans.

The purpose of this review is to reveal the latest advances in studies of the TOR signaling pathway in plants

Key words: TOR, mammals, plants, algae, *Saccharomyces cerevisiae*, rapamycin, autophagy, raptor.

Алыбаев С.Д., Бисенбаев А.К.,
өл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: amangeldy.bisenbaev@kaznu.kz

Өсімдіктердің TOR сигналды жүйесі

Сүтқоректілердің рапамициннің нысанасы (Mammalian target of rapamycin (mTOR)) клетканың стрестік жағдайға немесе қоректік заттар мен энергияның бар-жоқтығына жауап беретін сигналды жүйенің орталық элементі болып табылатын серин-треонинді киназаларға жатады, клеткалардың өсуіне, бөлінуі мен ақуыз биосинтезіне жауап береді. Осы уақытқа дейін TOR сигналды жүйесінің молекулалық механизмдері негізінен ашытқылар мен сүтқоректілерде жақсы зерттелінді. Өсімдіктер көп жағдайда бір жерге орнығып өсуіне байланысты өзінің өсіп-өну үрдістерін (мүшелерінің ұлғаюы мен жаңа мүшелерінің пайда болуы) қоректік заттардың бар-жоқтығына байланысты үнемі реттеп отыруларына тура келеді. Сонымен қатар өсімдіктер, өз орынын өзгерте алмайтынына қарамастан, қоршаған ортаның қолайсыз әсерлеріне төтеп бере алады. Барлық эукариоттарда TOR сигналдық жүйе қорғаныш пен өсу арасындағы балансты тұрақтандыратын түйінді реттегіш орталық болып табылады. Сондықтан да өсімдіктердегі TOR сигналды жүйесінің молекулалық механизмдерін ашу, өсімдіктердің қоршаған ортаның қолайсыз факторларына тұрақтылығы мен өнімділігін арттырудың кілті болып табылады. Өсімдіктердің TOR сигналды жүйесін зерттеу бағытындағы соңғы деректер, TOR жүйесі арқылы реттелетін өсімдіктер мен жануарлардың клеткалық және өсу үрдістерінің ұқсастығын байқатады. Осы шолудың мақсаты өсімдіктердегі TOR сигналды жүйесінің реттелу механизмдерін зерттеудегі соңғы жетістіктерін қарастыру.

Түйін сөздер: TOR, сүтқоректілер, өсімдік, балдырлар, *Saccharomyces cerevisiae*, рапамицин, аутофагия, раптор.

Введение

Клеточные сигнальные и метаболические регуляторные сети переплетены и играют определяющую роль в выборе программы развития в ответ на изменения окружающей среды и стрессы. Мишень рапамицина (*Target of rapamycin, TOR*) является центром таких регуляторных сетей у всех эукариот, от одноклеточных дрожжей и водорослей до многоклеточных растений, животных и человека [1]. Со времен открытия рапамицина как продукта метаболизма бактерии *Streptomyces hygroscopicus* из почвенного образца с острова Пасхи и характеристики гена TOR киназы у дрожжей [2], млекопитающих [3] и растений [4], достигнут огромный прогресс в расшифровке молекулярных механизмов TOR сигнальной системы. У растений, как и у животных, *tor* ноль-мутанты являются эмбрионально *летальными*, тогда как *рапамицин* лишь частично снижает широкий спектр действия TOR сигнальной системы [4, 5, 6, 7]. Однако, с использованием индуцибельных *tor*-RNAi линий растений, количественных методов анализа мишеней фосфорилирования TOR киназы и специфических химических ингибиторов исследованы возможная связь между молекулярными, клеточными и метаболическими функциями TOR сигнальной системы и его прямыми или опосредованными субстратами

фосфорилирования в разных процессах развития растений.

Целью настоящего обзора, является раскрыть последнее достижения в исследованиях TOR сигнальной системы в растениях.

Структура TOR белка

TOR киназа – это эволюционно консервативная серин-треониновая киназа, которая входит в семейство родственных по отношению к фосфатидилинозитол-3-киназе (*phosphatidylinositol 3-kinase related kinases, PIKK*) [3]. Все обнаруженные TOR белки имеют схожее строение: все содержат С-концевой домен, гомологичный каталитическим доменам PI3K и PI4K. TOR киназа в отличие от других киназ этого семейства содержит FKBP-рапамицин-связывающий домен (FRB), примыкающий к каталитическому киназному домену. Помимо каталитических и FRB доменов TOR-белки имеют на N-конце tandemно повторяющиеся мотивы HEAT (*Huntington, Elongation Factor 3 regulatory, subunit A of PP2A, TOR1*). Мотивы HEAT обуславливают белок-белковые взаимодействия в многокомпонентных белковых комплексах. Также имеется так называемый FAT домен (*FRAM/ATM/TRRAP*), обнаруженный исключительно у представителей семейства PIKK. Данный домен состоит из приблизительно 500 аминокислот и рас-

полагается ближе к N-концу по сравнению с FRB и киназным доменами. Функция FAT неизвестна. Предположительно, данный участок, подобно HEAT, обеспечивает белок-белковые взаимодействия. Наконец, PI3K содержат короткую

C-концевую последовательность – FATC [8]. Этот домен присутствует только при наличии FAT, и, возможно, важен для каталитической активности киназ семейства PI3K. Доменная структура киназ TOR приведена на рисунке 1.

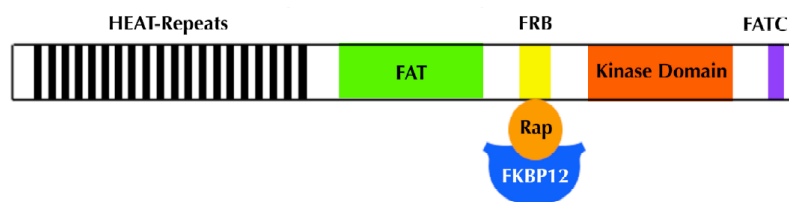


Рисунок 1 – Доменная структура mTOR

Белки TOR были описаны в растениях, включая модельное растение *Arabidopsis thaliana* и одноклеточного зеленого водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*. Геном *Arabidopsis thaliana* содержит один ген TOR (AtTOR), который кодирует белок (молекулярной массой приблизительно 280 кДа.) с высокой идентичностью с TOR млекопитающих и дрожжей. Аналогичным образом, исследование генома *Chlamydomonas* показала высокую консервативность TOR киназы в зеленых водорослях, и в этом одноклеточном организме идентифицирован единственный ген TOR киназы (CrTOR). Анализы AtTOR и CrTOR показали, что оба белка содержат домены, высоко-консервативные в TOR киназе, включая FRB домен, C-концевой киназный домен, N-концевые повторы HEAT, FAT и FATC домены связанные с фосфатидилинозитол-3-киназой [9]. В секвенированном геноме *Oryza sativa* [10], *Solanum lycopersicum* [11], *Solanum tuberosum* [13], *Zea mays* [12] и других растениях идентифицированы гены кодирующие предполагаемую TOR киназу. Показано, что TOR из разных видов растений имеют высокое сходство аминокислотных последовательностей с TOR млекопитающих и дрожжей, особенно в киназной и FRB доменах. В геноме *Gossypium hirsutum* выявлено, что гены TOR киназы хлопчатника представлена в двух генетических локусах GhTOR1 и GhTOR2 [14]. Полноразмерная последовательность гена GhTOR1 состоит из 20,012 п.н. и содержит 58 экзонов, тогда как GhTOR2 имеет 21,569 п.н. с тем же числом экзонов, что и в GhTOR1. Аминокислотная последовательность белка GhTOR1 показал сходную организацию доменов, как у арабидопсиса и человека. При этом домен FATC не был обнаружен в белке GhTOR2.

Высокая степень консервативности аминокислотной последовательности TOR киназы среди всех изученных видов растений подтверждает жизненно важное значение этой киназы и, как следствие, TOR сигнальной системы для роста и развития растений.

Действие рапамицина на рост и развитие растений и водорослей

Протеинкиназа TOR была впервые идентифицирована с помощью генетического скрининга линий *Saccharomyces cerevisiae* устойчивых к действию рапамицина [15]. Устойчивые к рапамицину линии в основном несут рецессивные миссенс-мутации, приводящие к аминокислотным заменам в белке FKBP12 (12 kDa FK506 Binding Protein), но также были идентифицированы доминантные миссенс-мутации в двух генах, названных TOR1 и TOR2 (Target of Rapamycin 1 и 2). Дальнейшие исследования показали, что мутации консервативного остатка серина в домене FRB TOR1 или TOR2 придают доминантную устойчивость к рапамицину [16]. Вскоре после этого три научные группы определили «физическую мишень рапамицина» у млекопитающих с помощью биохимических методов с использованием рапамицина и FKBP12. Рапамицин был незаменимым инструментом для изучения роли TOR сигнальной системы как у дрожжей, так и у животных, но эффект рапамицина у животных более ограничен в отношении синтеза белка, аутофагии и пролиферации и дозозависимый эффект рапамицина широко варьировались в зависимости от типа клеток и тканей [17-20].

Рапамицин – это липофильный макролид, продуцируемый *Streptomyces hygroscopicus*.

Кристаллы этого антибиотика практически нерастворимы в воде, но легко растворяются в этаноле, метаноле, диметилсульфоксиде и других органических растворителях. Химическое строение рапамицина представлено на рисунке 2. Несмотря на слабую антибактериальную активность, рапамицин является сильным ингибитором дрожжевого роста. Наиболее выражен его эффект в отношении представителей рода *Candida*, в частности *C. albicans* [21].

Структурный аналог рапамицина – FK506, является антибиотиком синтезируемым *Streptomyces tsukubaensis*. FK506 является сильным иммуносупрессантом, чье ингибирующее воздействие было изучено в ходе ряда испытаний прикладного характера. FK506 связываются

с широко распространенными и филогенетически консервированным внутриклеточным рецептором FKBP12 [22]. Рапамицин и FK506 имеют сходное химическое строение (рисунок 2), что вызвало интерес к рапамицину, как к потенциальному иммуносупрессанту.

Оба соединения связываются с одним и тем же доменом FKBP12 белка. Если FK506 образует комплекс с FKBP12, то происходит ингибирование активности Ca^{2+} -зависимой серин-треониновой фосфатазы – кальциневрина. Тогда как, комплекс FKBP12-рапамицин связывается с FRB доменом TOR киназы, образуя тройной комплекс, что приводит к торможению активности TOR-киназы посредством аллостерического взаимодействия [23].

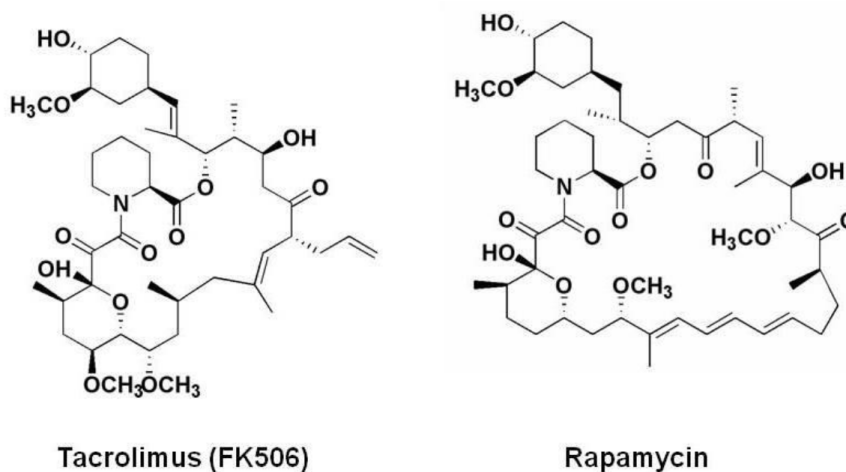


Рисунок 2 – Структура FK506 и рапамицина

У водорослей чувствительность к рапамицину зависит от видовой принадлежности. При этом, уровень ингибирования клеточного роста и доза рапамицина значительно варьируются от 100 нМ (40% ингибирование роста) для *Chlamydomonas reinhardtii* [24] до 50 мкМ (40% ингибирование роста) для *Euglena gracilis* [25], при этом незначительный эффект при дозе 10 мкМ наблюдалась для диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricornerutum* [26] и красных водоросли *C. merolae* [27]. Следует отметить, что в присутствии 1 мкМ рапамицина содержание хлорофилла снижалось у *C. merolae*, но не у *C. reinhardtii* [25].

Получены устойчивые к рапамицину мутантные по гену FKBP12 линии *C. Reinhardtii*. С помощью мутантной линии *C. Reinhardtii* показано, что рапамицин ингибирует проли-

ферацию клеток посредством взаимодействия комплекса рапамицин-FKBP12 с TOR, что является сильным аргументом для дальнейшего использования рапамицина в этой экспериментальной системе [24]. Эти немногочисленные данные показывают, что рапамицин не является общим сильным ингибитором TOR киназы у водорослей, напоминая разнообразие фоновых реакций клеточных линий млекопитающих к рапамицину.

Некоторые эксперименты по изучению влияния рапамицина на растительные организмы показали, что высшие растения устойчивы к низким концентрациям данного макролида, в отличие от одноклеточных водорослей [4, 7, 11, 13, 14, 28, 29, 30, 31]. Авторы не исключают вероятность селективного преимущества мутации в гене FKBP12 растений, чтобы противостоять по-

чвенному стрептомицету, который продуцирует рапамицин [32].

Предполагается, что нечувствительность или слабая чувствительность растений к рапамицину связана с низкой способностью FKBP12 белков растений образовывать ингибиторный тройной комплекс с рапамицином из-за изменений аминокислотных остатков, критически важных для взаимодействия с рапамицином [31, 33, 34]. С помощью двухгибридного дрожжевого анализа и изучения белок-белкового взаимодействия в условиях *in vitro* показано отсутствие взаимодействия между FKBP12 арабидопсиса (AtFKBP12) и FRB доменом TOR киназы арабидопсиса (AtTOR-FRB). При этом, AtTOR-FRB образовывал комплекс с человеческим HsFKBP12 или дрожжевым ScFKBP12 [4, 29, 31].

Таким образом, растения арабидопсиса могут стать чувствительными к рапамицину за счет сверхэкспрессии FKBP12 дрожжей и человека [7, 28, 31, 35, 36]. Чувствительность к рапамицину (10-500 нМ) также значительно усиливалась у линии красной водоросли *C. merolae* экспрессирующей ген ScFKBP12.

Несколько научных групп показали, что растения арабидопсиса, выращенные на твердой среде, нечувствительны к рапамицину вплоть до концентрации 10 мкМ [28, 29, 7, 31]. Такой диапазон концентраций в 100-1000 раз превышает концентрацию, которая ингибирует пролиферацию дрожжей (100 нМ) или уменьшают размер клеток и пролиферацию В-клеток лимфоцитов (0.005-0.5 нМ) или эмбриональных фибробластов мыши (50-250 нМ) [18, 37, 38].

Наиболее изученной мишенью TOR киназы является серин/треониновая протеин киназа p70-S6 киназа 1 (S6K1). Уровень фосфорилированности этого белка является индикатором активности mTORC1 в клетках. У арабидопсиса TOR киназа фосфорилирует AtS6K1 по треонину расположенному в 449 положении начиная с N-конца. В работе Xiong и Sheen [36] показано, что AtTOR-зависимое фосфорилирование T449-AtS6K1 (эквивалентно к T389 у животных S6K1) значительно ингибируется более низкими концентрациями рапамицина, в протопластах коэкспрессирующих гены AtS6K1 и AtFKBP12 или HsFKBP12.

Другие авторы [28] сконструировали трансгенные растения, сверхэкспрессирующие AtFKBP12 и/или ScFKBP12 и/или HsFKBP12. Затем изучали чувствительность трансгенных растений к рапамицину. Однако, в этих экспери-

ментальных условиях, сверхэкспрессия FKBP12 не приводило к усилению чувствительности к рапамицину. Таким образом, это несоответствие с данными Xiong и Sheen [36] указывает на возможные ошибки в конструировании трансгенных линий для сверхэкспрессии FKBP12.

Интересно отметить, в ряде работ показано зависимость чувствительности растений к рапамицину от условий роста. Выявлено, что, арабидопсис выращенный в жидкой культуре, более чувствителен к рапамицину [28, 36, 39]. Высказано предположение о возможной роли гипоксии в усилении чувствительности растений к рапамицину [28]. Действительно, рост в жидких средах, в присутствии рапамицина, значительно замедляется. При этом, через 9 дней роста в присутствии рапамицина, корни семян арабидопсиса имеют длину около 2-3 см, что примерно в 2-3 раза меньше, чем у вертикально выращенных семян на твердой среде [7, 30]. Можно предположить, что гипоксический стресс может усиливать экспрессию AtFKBP12 и/или AtTOR в этих условиях значительной степени заблокирован, что может повысить доступность AtTOR к рапамицину. Однако следует отметить, что растения томата проявляют чувствительность к рапамицину. При обработке растений томата рапамицином в дозе 10 мкМ происходило существенное ингибирование роста растений. Инкубация *растений* в присутствии АТФ-конкурентных ингибиторов TOR киназы – KU63794, AZD8055 и Torin-1 приводило к аналогичному подавлению роста растений. Эти данные указывают на то, что FKBP12 белок функционирует в растениях томата, и TOR сигнальная система контролирует рост и развитие растений. Кроме того, было показано, что AtFKBP12 взаимодействует с ядерным белком, который контролирует эндоредупликацию [40]. Как и в случае кальциневрина, HsFKBP12 также является субъединицей рецептора первого типа трансформирующего ростового фактора В (TGF-β), который является трансмембранной серин-треониновой киназой и регулирует рост и дифференцировку в большинстве клеток животных [41]. У клеточных линий нокаутных по генам HsFKBP12 клеточный цикл останавливается из-за нарушения регуляции передачи сигналов TGF-рецептором [42]. Следовательно, возникает вопрос участвует ли AtFKBP12, в отсутствие рапамицина, в регуляции клеточного цикла или других процессах, мешающих исследованию TOR сигнальной системы в линиях растений сверхэкспрессирующих FKBP12. Действи-

тельно, сверхэкспрессия гетерологичного гена FKBP12 может также изменить физиологию растений, поскольку ген PaFKBP12 из антарктического мха *Polytrichastrum alpinum*, эктопически экспрессированный в растении арабидопсиса значительно усилил устойчивость растений к стрессу [43]. Таким образом, даже если линии сверхэкспрессирующие FKBP12 не имеют более заметного фенотипа [28, 31], это не исключает возможность изменений на клеточном/тканевом уровнях по сравнению с диким типом.

Следует также отметить, что рапамицин в животных системах ингибирует протеиназную и пептидазную активность каталитического ядра протеасомы при низких микромолярных концентрациях (0.5-5 мкМ). Показано, что рапамицин препятствует связыванию активатора протеасомы PA200 с каталитическим ядром 20S протеасомы. Авторы предполагают, что рапамицин и родственные им соединения аллостерически регулирует функцию протеасом [44]. При этом этот эффект рапамицина не зависит от функциональной активности TOR сигнальной системы. Эти исследования справедливо поднимает вопрос о селективности рапамицина по отношению к TOR киназе при высоких концентрациях.

Таким образом, несмотря на то, что FKBP12 белок арабидопсиса не может связываться с рапамицином с образованием ингибиторного комплекса с TOR, было обнаружено, что рапамицин оказывает ингибирующее действие на прорастание семян, хотя и в гораздо более высокой концентрации, чем было показано в клетках животных и дрожжей. Следовательно, нельзя исключить вероятность существования истинного гомолога FKBP12, который возможно еще не идентифицирован у растений. В последнее время трансгенные растения сверхэкспрессирующие FKBP12 дрожжей и человека становятся модельной системой для исследования функционирования TOR сигнальной системы в растениях. Учитывая влияние FKBP12 на независимые от TOR сигнальной системы клеточные процессы, необходимо избегать использование модельных систем на основе трансгенной сверхэкспрессии FKBP12. Кроме этого, в проводимых исследованиях концентрацию FKBP12 и/или рапамицина, а также физиологические параметры клеток необходимо тщательно контролировать, поскольку они могут оказать влияние на результаты, не зависящие от ингибирования TOR сигнальной системы.

TOR-комплексы в растениях

С помощью генетических и биохимических исследований выявлена два основных комплекса TOR сигнальной системы млекопитающих: mTORC1, чувствительный к рапамицину и нечувствительный к рапамицину mTORC2. Комплекс, способный связывать FKBP12-рапамицин, и, следовательно, рапамицин-чувствительный, помимо mTOR состоит из белков раптора, mLST8 (или GβL) и PRAS40. Данный комплекс был назван mTORC1. Функциональное состояние этого комплекса напрямую зависит от наличия и доступности питательных веществ. mTORC1 регулирует рост клеток, а также модулирует такие процессы как трансляция мРНК, биогенез рибосом, метаболизм питательных веществ, аутофагия. mTORC2 регулирует другую, рапамицин-нечувствительную, ветвь mTOR-опосредованной сигнальной трансдукции и состоит из mTOR, mLST8, риктора, Sin1 и PRR5 (или Protor). **mTORC2 контролирует пространственную организацию роста клеток, за счет регуляции структуры и полярности цитоскелета.**

Некоторые компоненты TOR сигнальной системы идентифицированы у растений. Гены RAPTOR (RAPTOR1A и RAPTOR1B) и LST8 (LST8-1 и LST8-2) были идентифицированы у всех секвенированных видов растений. У *Arabidopsis* гены RAPTOR1B (At3g08850) и LST8-1 (At3g18140) активно экспрессируются в клетках растений и мутантные растения по этим генам жизнеспособны [45, 46, 47, 48, 49, 50]. Однако, нет никаких данных о присутствии TORC2 комплекса у растений, так как основные компоненты данного комплекса, такие как риктор и Sin1 отсутствуют в геноме растений.

У млекопитающих mLST8 – единственный партнер mTOR, обнаруживаемый в обоих комплексах. Этот белок, целиком состоит из семи повторов WD40. **Эти повторы являются короткими мотивами длиной 40 аминокислот.** mLST8 связывается с киназным доменом mTOR, стимулируя тем самым киназную активность. Тем не менее, mLST8, по-видимому, необязателен для ассоциации mTOR с раптором, и поэтому может не играть критической роли для функционирования mTORC1.

Генетические исследования гомозиготных линий арабидопсиса по мутации в гене LST8-1 показало, что отсутствие этого гена приводит к замедлению вегетативного роста и преимущественному развитию верхушечной почки, и тор-

мозило рост боковых почек [48]. При этом наблюдалось отклонения в развитии цветка. Кроме этого, мутантные растения проявляли значительную чувствительность к продолжительности светового дня и содержали более высокие концентрации крахмала и аминокислот, включая пролин и глютамин. У мутантных растений наблюдались низкие концентрации инозита и рафинозы. Следовательно, представляется вероятным, что белок LST8-1 играет в растениях важную роль в регуляции уровня аминокислот и синтеза мио-инозита и рафинозы во время адаптации растений к длительному световому дню.

Раптор – уникальный компонент mTORC1. У млекопитающих это белок молекулярной массой 150 кДа, содержащий N-терминальный домен (RNC, *raptor* N-terminal conserved) и три следующих за ним повтора HEAT и семь повторов WD40 на C-конце [3]. Изучение взаимодействия между TOR дрожжей и Kog1, дрожжевым гомологом раптора, установило, что повторы WD40 Kog1 связываются с N-концевыми мотивами HEAT TOR, и что в результате данного взаимодействия домен RNC располагается вблизи киназного домена TOR. По всей видимости, домен RNC раптора служит для представления субстратов каталитической субъединицы mTORC1.

У арабидопсиса нарушение работы гена *AtRaptor1B* приводит к широким спектрам дефектов в развитии растений. Наблюдается утолщение и замедление роста корней, задержка инициации листьев и оплодотворения, а соцветие побега показывает снижению апикального доминирования [45]. Двойные мутанты *AtRaptor1A*, *AtRaptor1B* показывают нормальное эмбриональное развитие, но не способны поддерживать постэмбриональный рост, обусловленный дефектом меристемы.

В работе других авторов [49] показано, что прорастания мутантных по гену *raptor1b* растений происходило со значительной задержкой, а также были менее устойчивы к стрессам, что приводило к снижению жизнеспособности. Эти физиологические фенотипы сопровождалось морфологическими изменениями, включая снижение пигментации оболочки семени. Кроме этого, у мутантов наблюдалась высокое содержание свободных аминокислот и снижение уровня вторичных метаболитов и запасных белков. Интересно отметить, наблюдаемые морфологические и физиологические изменения сопровождалось с увеличением содержания абсцизиловой кислоты, ауксина и жасминовой кислоты, которые, как известно, ингибируют прорастание. При

этом, задержка прорастания и роста проростков, наблюдаемая в семенах *raptor1b*, может быть частично восстановлена за счет экзогенного добавления гибберелловой кислоты, что указывает на то, что TOR сигнальная система находится в центре регуляторных сетей, контролирующих метаболизм, созревание и прорастание семян.

Недавно, трехмерная структура mTORC1 была определена с помощью криоэлектронной микроскопии высокого разрешения [51, 52]. Предполагается, что в ходе формирования комплекса два белка mTOR димеризуются, образуя полую ромбовидную структуру со своими партнерами по связыванию, RAPTOR и mLST8. При этом RAPTOR и mLST8 образуют более длинный и короткий ось в периферической части комплекса. Кроме этого, трехмерная структура раскрывает доступность и селективность субстрата к каталитическому центру и объясняет, как комплекс FKBP12-рапамицин ограничивает доступ субстрата к каталитическому сайту [52, 53].

Взаимодействия между компонентами комплекса TOR также, по-видимому, сохраняются у растений. Показано, что связывание белка RAPTOR с N-концевым HEAT-доменом TOR киназы необходим для TOR-зависимого фосфорилирования S6K в арабидопсисе [29]. Белки LST8 арабидопсиса и млекопитающих взаимодействуют с C-концевым киназным доменом TOR растений и могут модулировать активность TOR киназы по отношению к селективным субстратам.

Необходимо отметить, что всесторонний генетический, геномный, метаболический и фенотипический анализы функций TORC1 растений позволяет предположить значительное совпадение клеточных процессов и процессов развития, которые регулируются TORC1 сигнальной системой у растений, животных и человека (рис. 2) [36, 54, 55, 56]. Консервативная чувствительность к FKBP12-рапамицину и высокое сходство TOR, RAPTOR и LST8 между растениями и животными позволяют предположить, что растение может образовывать структуру, подобную TORC1, у животных и человека.

Субстраты TORC1

Всего несколько непосредственных субстратов mTORC1 было обнаружено. Наиболее изученные из них – 4EBP1 и S6K1. Уровень фосфорилированности этих двух белков является индикатором активности mTORC1 в клетках [29]. Малое количество известных субстратов

mTORC1 может служить отображением того обстоятельства, что внутриклеточные мишени mTORC1 структурно разнообразны и мало определяемы биоинформатическими способами.

4EBP1 – это трансляционный репрессор, связывающий и ингибирующий фактор eIF4E, ключевой фактор для трансляции 5'-кэпированных мРНК, среди которых транскрипты, кодирующие такие стимулирующие рост клеток белки, как мус, циклин D1, VEGF, STAT3 и др. mTORC1 фосфорилирует 4EBP1 по сайтам Thr-37, Thr-46, Ser-65, Thr-70, Ser-80, в результате чего 4EBP1 отделяется от eIF4E [6].

S6K1 фосфорилируется mTORC1 по Ser-389 в гидрофобном мотиве, связывающем каталитический домен с С-терминальным аутоингибиторным доменом. Данное фосфорилирование позволяет PDK1 фосфорилировать Thr-229 в активационной петле киназного домена, что приводит к активации S6K1. Активная киназа S6K1 фосфорилирует рибосомальный белок S6, необходимый для трансляции 5'-ТОР мРНК, кодирующих рибосомальные белки и факторы элонгации. S6K, помимо S6, фосфорилирует ряд других белков, среди которых IRS-1, GSK3, eEF2, проапоптотический белок Bad и др.

При активном mTORC1 S6K фосфорилирует и ингибирует IRS-1 (по Ser-302). Последний связан с инсулиновыми и IGF-1-рецепторами и активирует PI3K. То есть, фосфорилирование IRS-1 киназой S6K является механизмом обратной связи, ингибирующим проведение сигнала от рецептора к mTOR [5]. Так, мыши с нокаутированным *s6k1* жизнеспособны, но при диете, обогащенной жирами, несмотря на десенситизацию инсулиновых рецепторов, не подвержены ожирению, так как отсутствие петли обратной связи усиливает их чувствительность к инсулину.

Также S6K фосфорилирует белок PDCD4 и направляет его по пути деградации. PDCD4 блокирует трансляцию, присоединяясь к хеликазе eIF4A, которая ответственна за «раскручивание» вторичных структур 5'-НТП мРНК [5].

Несмотря на то, что у mTORC1 скорее всего есть и другие субстраты, 4EBP1 и S6K являются ключевыми факторами, отвечающими за mTORC1-опосредованную регуляцию клеточного роста. Однако в настоящее время гомолог 4EBP1 не был идентифицирован в растениях, что позволяет предположить, что эффекты TOR на трансляционный контроль опосредованы другими эффекторными белками в растениях.

Геном арабидопсиса также содержит два гена S6 киназы (*AtS6k1* и *AtS6k2*, каталожные номера

генов – At3g08720 и At3g08730 соответственно) непосредственного субстрата TOR. Несмотря на то, что N- и С-концевые последовательности этих белков отличаются от S6K животных, у киназного домена сохраняется высокая консервативность. Основные и регуляторные сайты фосфорилирования, обнаруженные в S6K человека (Thr229, Ser371, Thr389 и Thr226, Ser370, Thr388 для hS6K1 и hS6k2 соответственно), консервативны и присутствуют в последовательностях его гомологов у арабидопсиса (Ser290, Ser431, Thr449 и Ser296, Ser437, Thr455 для AtS6K1 и AtS6K2 соответственно).

В арабидопсисе активность S6 киназы также стимулируется ауксином, который, очевидно, увеличивается под действием TOR киназы. Эксперименты по сверхэкспрессии гена S6K линии в арабидопсисе, показали, что трансгенные растения проявляют мужскую стерильность. Авторы предположили, что стерильность может являться последствием повышенной трансляции регуляторных генов, содержащих предполагаемые 5'ТОР последовательности в 5'-нетранслируемой последовательности (5'-НТП, участка между 5'-концом мРНК и началом белок-кодирующей последовательности) соответствующих мРНК. Также было показано, что, как и в клетках животных, раптор взаимодействует с S6K *in vivo* и регулирует его активность по отношению к рибосомному белку S6. Все эти и другие данные указывают на то, что S6K является мишенью TOR киназы в растениях.

У эукариот более 30% мРНК обладают одним или несколькими короткими открытыми рамками считывания (*uORF*) в 5'-НТП. Показано, что *uORF* содержащиеся в 5'-НТП мРНК подавляют трансляцию [57, 58, 59]. Если в составе 5'-НТП мРНК расположена небольшая *uORF*, то после ее трансляции некоторые рибосомы сохраняют способность к повторной инициации (реинициации).

У растений арабидопсиса реинициация трансляции после *uORF*-зависимой репрессии зависит от фосфорилирования eIF3h, которая является субъединицей эукариотического фактора инициации 3 (eIF3) и одновременно является предполагаемой мишенью S6K1. Выявлено, что под действием ауксина TOR киназа фосфорилирует S6K1, что в свою очередь фосфорилирует eIF3h и активирует реинициацию трансляции *uORF*-мРНК фактора ARF (auxin response factor) [60]. Более того показано, что TAV фактор реинициации вируса мозаики цветной капусты (transactivator-viropasmin) может связываться и

активировать TOR киназу клетки хозяина для трансляции полицистронных мРНК. Под действием TAV TOR киназа клетки хозяина активирует S6K1 и, таким образом, фосфорилирует eIF3h и RISP (re-initiation-supporting protein), чтобы рекрутировать факторы реинициации и полисомы для реинициации трансляции мРНК [61, 62].

Кроме того, недавно было установлено, что MRF1 (MA3 DOMAIN-CONTAINING TRANSLATION REGULATORY FACTOR1) является субстратом S6K, который регулирует трансляцию мРНК, особенно в условиях дефицита энергии [63].

TAP46 растений, ортолог TAP42 у дрожжей и $\alpha 4$ (регуляторная субъединица протеин фосфатазы 2A; белок $\alpha 4$ человека также известен как IGBP1) у животных, также играет роль субстрата TOR киназы и участвует в регуляции трансляции. TAP46 является консервативной регуляторной субъединицей PP2A (протеин фосфатазы 2A) и является прямым субстратом TOR киназы. Нарушение экспрессии TAP46 приводит к глобальным дефектам трансляции с уменьшением накопления полисом и включения метионина в состав новосинтезируемого белка [64]. Хотя уровни белка TAP46 в растениях зависят от активности TOR киназы, участвует ли TAP46 в регуляции трансляции через S6K1 или выполняет ли он аналогичные функции как у животных остается неизвестным [65].

Активация и репрессия глюкоза-TORC1 сигнальной системы

Обширные исследования показали, что TORC1 активируется питательными веществами и факторами роста, но инактивируется недостатком энергии, голоданием и стрессами как у растений, так и у животных [36, 55, 56, 66]. У растений глюкоза, полученная в результате фотосинтеза, является основным питательным веществом для развития клеток и организма [39, 67].

С использованием химических ингибиторов, эстрадиол индуцируемых Tor-RNAi-мутантов (tor-es), маркировки клеточного цикла, фосфорилирования S6K и анализа транскриптом, было показано, что глюкоза-TOR путь передачи сигнала активирует рост корня с помощью переключения стратегии выработки энергии от анаэробного гликолиза на окислительное фосфорилирование. Кроме того, гормоны роста растений, такие как ауксин, брассиностероид (BR),

цитокинин и гиббереллин, не могут способствовать быстрому удлинению корня при переходе от гетеротрофного к фотоавтотрофному статусу без фотосинтеза или экзогенных сахаров. У арабидопсиса глюкоза-TOR сигнальная система изменяет транскрипционное перепрограммирование широких наборов генов, участвующих в центральном и вторичном метаболизме, клеточном цикле, транскрипции, передаче сигналов, транспорте и фолдинге белков [39]. Однако, конкретные механизмы, лежащие в основе, глюкоза-TOR сигнальной системы до сих пор не известно. Одним из возможных общих механизмов глюкоза-TOR сигнальной системы может является стимуляция димеризации TORC1, которая является предпосылкой для ее транслокации на мембрану лизосомы [68]. Такая транслокация и активация TORC1 индуцируется с помощью чувствительных к глюкозе Tel2-Tti1-Tti2 (TTT)-RUVBL1/2 комплекс у мух и животных [68, 69].

Сборка комплекса TTT-RUVBL1/2 и его взаимодействие с TOR требует АТФ-азную активность RUVBL1/2 белка. Показано, что АТФ-азная активность RUVBL1/2 белка подавляется ингибиторами электрон-транспортной цепи митохондрий и в отсутствии питательных веществ.

Геном арабидопсиса содержит гомологичные гены, кодирующие предполагаемые Tti1, Tti2, Tel2 и RUVBL, которые могут образовывать комплекс TTT-RUVBL1/2 для регуляции димеризации и активации TORC1 [7, 70]. Существует ли такой комплекс у растений пока не известно. Определение субклеточных сайтов (то есть вакуолей, эндосомы, митохондрий и/или ядра) для активации TORC1 и новых компонентов TOR сигнальной системы является объектом будущих исследований.

Глюкоза зависимая активация TOR сигнальной системы также может происходить косвенно путем инактивации эволюционно консервативной протеинкиназы SnRK1, сенсора глюкозы/энергии (SNF1-связанной киназы 1, ортолога α -субъединицы АМФ-активируемой протеинкиназы (АМПК)) в растениях, как и у млекопитающих. Возможно, такой механизм представляет собой еще один эволюционно консервативный узел для интеграции ответов на питательные вещества, энергию и стрессы [71-74].

У арабидопсиса гены KIN10 и KIN11 кодируют каталитические субъединицы гетеротримерного комплекса SnRK1, который подавляется глюкозой, но активируется голоданием, отсутствием энергии и многими абиотическими стрессами [71]. Аналогично, АМПК млекопита-

ющих непосредственно фосфорилирует и активирует TSC2 (комплекс туберозного склероза 2) или фосфорилирует и инактивирует RAPTOR для репрессии mTORC1 при недостатке энергии и стрессах [73, 75]. Хотя у растений отсутствуют гены TSC, показано, что KIN10 взаимодействует и фосфорилирует RAPTOR [76]. Возможно действия SnRK1 и TOR киназ направлены на более распространенные субстраты фосфорилирования, чтобы антагонистически определять уровни питательных веществ и энергии и координировать транскриптом, метаболизм, рост и развитие клеток. Однако, для оценки роли этого фермента в регуляции этих процессов необходимы дальнейшие исследования.

TOR зависимая регуляция аутофагии у растений

Аутофагия — это эволюционно высококонсервативная катаболическая программа, характерная для всех типов эукариотических клеток. В процессе аутофагии происходит разрушение и рециркуляция белков, цитоплазматических органелл и макромолекул, при этом возрождаемые низкомолекулярные вещества и энергия используются для поддержания развития и роста организма в ответ на недостаток питательных веществ и энергии, а также на многие биотические и абиотические стрессы.

АМПК и mTOR являются основными регуляторами аутофагии в ответ на уровень питательных веществ и энергии. В условиях недостатка питательных веществ АМПК млекопитающих активирует аутофагию путем фосфорилирования ULK1 (UNC-51-like kinase 1, a homolog of yeast ATG1), чтобы способствовать образованию комплекса с ULK1, FIP200 (ATG17; также известен как RBC1CC1), ATG13 и ATG101 для инициации образования аутофагосом. В условиях достатка питательных веществ, mTOR фосфорилирует ULK1 и ATG13 для предотвращения образования комплекса [68, 77, 78].

Другой субстрат mTOR, TFEB (транскрипционный фактор EB), также участвует в регуляции аутофагии и лизосомного биогенеза [79].

У растений TOR и SnRK1 участвуют в регуляции аутофагии. В *tor-RNAi*, *raptor1b* и *tap46* мутантных растениях, а также при инактивации TOR киназы АТФ конкурентным ингибитором AZD8055 происходит инициация аутофагии, о чем свидетельствует увеличение количества аутофагосом и уровня экспрессии гена ATG8e [64, 80, 81]. Необходимо отметить, что ключевым

посредником при индукции аутофагии в ответ на стресс служит белок ATG13. В нормальных физиологических условиях TOR-киназа фосфорилирует ATG13. Такая гиперфосфорилированная форма ATG13 имеет низкое сродство к ATG1, и комплекс ATG1/ATG13, иницирующий образование аутофагосомы, не формируется. Связывание ATG1/ATG13 становится возможным лишь при снижении активности TOR-киназы. Показано, что ATG1 и ATG13 белки арабидопсиса образуют комплекс и иницирует образование аутофагосомы, указывая на высококонсервативную функцию ATG1/13 как у растений, так и у животных. Интересно, содержание и уровень фосфорилирования белков ATG1 и ATG13 арабидопсиса чувствительны к наличию питательных веществ, потенциально опосредованных регуляцией TOR киназы [82, 83].

Фитогормональная регуляция активности

Фитогормон абсцизовая кислота (АБК) участвует в регуляции таких жизненно важных для растений процессах как созревание и поддержание покоя семян, ингибирование прорастания, переход к цветению и многие другие. Кроме того, АБК является одним из центральных регуляторов формирования ответов на абиотические стрессы такие, как высыхание, засоление и низкая температура. АБК снижает интенсивность транспирации и фотосинтеза [84], перепрограммирует метаболизм для накопления осмолитов, ингибирует рост и способствует покою и старению, чтобы адаптироваться и пережить сильный стресс [85]. Подобно другим фитогормонам, возникновение биологического ответа на АБК на клеточном уровне является результатом инициации биохимических реакций, обеспечивающих работу пути передачи гормонального сигнала, который включается после связывания АБК с ее рецепторами PYR1/PYL/RCAR (далее PYL). Впоследствии рецепторный комплекс АБК-PYL ингибирует протеин фосфатазы принадлежащие к семейству PP2C, включая ABI1 (ABA Insensitive), ABI2, HAB1 (Hypersensitive to ABA 1/2), HAB2, PP2CA и AHG1 (ABA Hypersensitive Germination 1/3). Ингибирование протеин фосфатаз PP2C высвобождает SnRK2 (non-fermenting-1 SNF1-related protein kinase-2), которая фосфорилирует нижестоящие эффекторы для инициации защитных реакций, таких как закрытие устьиц и перепрограммирование экспрессии генов [86]. Необходимо отметить, что SnRK2 киназа близка к

протеинкиназам дрожжей SNF1 (от Sucrose Non-Fermenting Kinase 1), а также протеинкиназам млекопитающих, активируемым АМФ (АМПК, от AMP-Activated Protein Kinase). Функционирование АМПК и SNF1 связано с регуляцией метаболизма клеток млекопитающих и дрожжей при понижении энергетического обеспечения, как в случае недостатка питательных элементов. У животных комплекс TOR регулируется протеинкиназой AMP (АМПК), основным сенсором энергии у человека. Подобные антагонистические взаимоотношения между ортологом АМПК растений SnRK2 и связанными с TOR сигнальными путями в ответ на изменение условий питания и энергии были предложены у *Arabidopsis*. У млекопитающих, находящихся выше TOR, SnRK1 может ингибировать активность TOR посредством прямого взаимодействия и фосфорилирования белка Raptor – основного компонента TOR сигнальной системы, который возможно, приводит к разборке комплекса. Недавно, в работе Wang с соавторами [87] было показано, что в отсутствие стресса, TOR киназа фосфорилирует рецепторы АБК PYL белки по консервативному остатку серина для предотвращения инициации реакции на стресс у растений в нормальных условиях. Это фосфорилирование нарушает комплекс PYL с АБК и с эффекторными фосфатазами семейства PP2C, что в конечном итоге приводит к инактивации киназ SnRK2. В условиях стресса происходит АБК-зависимая активация SnRK2 протеинкиназ, который в свою очередь фосфорилирует белок Raptor, основного компонента TOR сигнальной системы растений, что вероятно запускает диссоциацию комплекса TOR и торможению роста растений.

Таким образом, фосфорилирование Raptor посредством SnRK2s представляет собой механизм, который предотвращает рост растений в неблагоприятных условиях для сохранения энергии и обеспечения выживания. Тогда как, фосфорилирование PYL – рецептора АБК отключает АБК зависимые сигнальные системы при наступлении благоприятных условий для роста растений.

Заключение

Мы попытались суммировать результаты исследований TOR сигнальной системы, полу-

ченные за последние несколько лет. Уже существует неопровержимые доказательства того, что клеточные и сигнальные пути, регулирующие разные процессы развития растений контролируются TOR киназой. Здесь мы попытались выделить некоторые важные направления исследований, которые указывают о важной роли TOR сигнальной системы в растениях и водорослей. Показаны, что TOR из разных видов растений имеют высокое сходство аминокислотных последовательностей с TOR млекопитающих и дрожжей, особенно в киназной и FRB доменах. Высокая степень консервативности аминокислотной последовательности TOR киназы среди всех изученных видов растений подтверждает жизненно важное значение этой киназы и, как следствие, TOR сигнальной системы для роста и развития *растений*. При этом консервативная чувствительность к комплексу FKBP12-рапамицин и высокое сходство аминокислотных последовательностей TOR, Raptor и LST8 между растениями и животными позволяют предположить, что растение может образовывать структуру, подобную TORC1, как у животных и человека.

Всесторонний генетический, геномный, метаболический и фенотипический анализ функций TOR растений позволяет предположить значительное совпадение клеточных процессов и процессов развития, которые регулируются TORC1 сигнальной системой у растений, животных и человека. Исследования мутантных растений указывают на вероятность существования, помимо консервативного TORC1 комплекса, новых TOR комплексов локализованных в разных субклеточных структурах и/или в различных типах клеток. Следовательно, необходимы исследования, направленные на обнаружения новых регуляторов расположенных до и после TOR сигнальной системы. В ближайшее время место основного аналитического подхода в исследованиях TOR сигнальной системы, по-видимому, займет фосфопротеомика, что позволит выявить широкий спектр субстратов TOR киназы и новых белковых компонентов.

Благодарности

Работа поддержана грантом № AP05131598 МОН РК

Литература

- 1 Xiong Y. and Sheen J. (2015). Novel links in the plant TOR kinase signaling network. *Curr. Opin. Plant Biol.* 28, 83-91.
- 2 Sehgal S.N., Baker H. and Vezina, C. (1975). Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. II. Fermentation, isolation and characterization. *J. Antibiot. (Tokyo)* 28, 727-732.
- 3 Sabatini D.M., Erdjument-Bromage, H., Lui M., Tempst P. and Snyder S.H. (1994). RAFT1: A mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-independent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell* 78, 35-43.
- 4 Menand B., Desnos T., Nussaume L., Berger F., Bouchez D., Meyer C. and Robaglia C. (2002). Expression and disruption of the Arabidopsis TOR (target of rapamycin) gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 6422-6427.
- 5 Gangloff Y.-G., Mueller M., Dann S.G., Svoboda P., Sticker M., Spetz J.-F., Um S. H., Brown E.J., Cereghini S., Thomas G. et al. (2004). Disruption of the mouse mTOR gene leads to early postimplantation lethality and prohibits embryonic stem cell development. *Mol. Cell. Biol.* 24, 9508-9516.
- 6 Kang S.A., Pacold M.E., Cervantes C.L., Lim, D., Lou, H.J., Ottina, K., Gray, N.S., Turk, B.E., Yaffe, M.B. and Sabatini, D.M. (2013). mTORC1 phosphorylation sites encode their sensitivity to starvation and rapamycin. *Science* 341, 1236566.
- 7 Ren M., Venglat P., Qiu S., Feng L., Cao Y., Wang E., Xiang D., Wang J., Alexander D., Chalivendra S. et al. (2012). Target of rapamycin signaling regulates metabolism, growth, and life span in Arabidopsis. *Plant Cell* 24, 4850-4874.
- 8 Cafferkey R., McLaughlin M., Young P., Johnson R, Livi G (1994). Yeast TOR (DRR) proteins: amino-acid sequence alignment and identification of structural motifs. *Gene* 141:133-36.
- 9 Shi L., Wu Y. and Sheen J. (2018). TOR signaling in plants: conservation and innovation *Development*. 145, dev160887. doi:10.1242/dev.160887
- 10 Maegawa K., Takii R., Ushimaru T., Kozaki A.. (2015). Evolutionary conservation of TORC1 components, TOR, Raptor, and LST8, between rice and yeast *Mol Genet Genomics*. Oct; 290(5):2019-30.
- 11 Xiong F., Dong P., Liu M., Xie G., Wang K., Zhuo F., Feng L., Yang L., Li Z, Ren M. Tomato FK506. (2016). Binding Protein 12KD (FKBP12) Mediates the Interaction between Rapamycin and Target of Rapamycin (TOR). *Front Plant Sci.* 2016 Nov 18; 7:1746.
- 12 Agredano-Moreno L.T, Reyes de la Cruz H, Martínez-Castilla L.P, Sánchez de Jiménez E. (2007). Distinctive expression and functional regulation of the maize (*Zea mays* L.) TOR kinase ortholog. *Mol Biosyst.* Nov; 3(11):794-802.
- 13 Deng K., Dong P., Wang W., Feng L., Xiong F., Wang K., Zhang S., Feng S., Wang B., Zhang J. et al. (2017). The TOR pathway is involved in adventitious root formation in Arabidopsis and potato. *Front. Plant Sci.* 8, 784.
- 14 Song Y., Zhao G., Zhang X.Y., Li L.X., Xiong F.J., Zhuo F.P., et al. (2017). The crosstalk between target of rapamycin (TOR) and Jasmonic Acid (JA) signaling existing in Arabidopsis and cotton. *Sci. Rep.* 7:45830.
- 15 Heitman J., Movva N.R. and Hall M.N. (1991). Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science* 253, 905-909.
- 16 Stan R., McLaughlin M. M., Cafferkey R., Johnson R.K., Rosenberg M., Livi G.P. (1994). Interaction between Fkbp12-Rapamycin and Tor Involves a Conserved Serine Residue. *Journal of Biological Chemistry* 269, 32027- 32030.
- 17 Mukhopadhyay S., Frias M.A., Chatterjee A., Yellen P., Foster D.A. (2016). The Enigma of Rapamycin Dosage. *Molecular Cancer Therapeutics* 15, 347-353.
- 18 Sarbassov D.D., Ali S.M., Sengupta S., Sheen J.-H., Hsu P.P., Bagley A.F., Markhard A.L. and Sabatini D.M. (2006). Prolonged rapamycin treatment inhibits mTORC2 assembly and Akt/PKB. *Mol. Cell* 22, 159-168.
- 19 Thoreen C.C. (2017). The molecular basis of mTORC1-regulated translation. *Biochemical Society Transactions* 45, 213-221.
- 20 Zhao J., Zhai B., Gygi S. P., Goldberg A. L. (2015). mTOR inhibition activates overall protein degradation by the ubiquitin proteasome system as well as by autophagy. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 112, 15790-15797.
- 21 Vezina C., Kudelski A., Sehgal S.N. (1975). Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J. Antibiot.* 28:721-26.
- 22 Schreiber S.L., Crabtree G.R. (1992). The mechanism of action of cyclosporine and FK506. *Immunol. Today* 13:136-42.
- 23 Tocci M., Matkovich D., Collier K., Kwok P., Dumont F., Lin S., Degudicibus S., Siekierka J., Chin J., Hutchinson N. (1989). The immunosuppressant FK506 selectively inhibits expression of early T cell activation genes. *J. Immunol.* 143:718-26.
- 24 Crespo J.L., Diaz-Troya S., Florencio F.J. (2005). Inhibition of target of rapamycin signaling by rapamycin in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology* 139, 1736-1749.
- 25 Mukaida S., Ogawa T., Ohishi K., Tanizawa Y., Ohta D., Arita M. (2016). The effect of rapamycin on biodiesel-producing protist *Euglena gracilis*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 80, 1223-1229.
- 26 Prioretti L., Avilan L., Carriere F., Montane M. H., Field B., Gregori G., Menand B., Gontero B. (2017). The inhibition of TOR in the model diatom *Phaeodactylum tricornutum* promotes a get-fat growth regime. *Algal Research* 26, 265-274.
- 27 Imamura S., Ishiwata A., Watanabe S., Yoshikawa H., Tanaka K. (2013). Expression of budding yeast FKBP12 confers rapamycin susceptibility to the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 439, 264-269.
- 28 Deng K., Yu L., Zheng X., Zhang K., Wang W., Dong P., Zhang J., Ren M. (2016). Target of Rapamycin Is a Key Player for Auxin Signaling Transduction in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science* 7, 291
- 29 Mahfouz, M.M., Kim, S., Delauney, A.J. and Verma, D.P. (2006). Arabidopsis TARGET OF RAPAMYCIN interacts with RAPTOR, which regulates the activity of S6 kinase in response to osmotic stress signals. *Plant Cell* 18, 477-490.
- 30 Montané M.-H. and Menand B. (2013). ATP-competitive mTOR kinase inhibitors delay plant growth by triggering early differentiation of meristematic cells but no developmental patterning change. *J. Exp. Bot.* 64, 4361-4374.

- 31 Sormani R., Yao L., Menand B., Ennar N., Lecampion C., Meyer C., Robaglia C. (2007). *Saccharomyces cerevisiae* FKBP12 binds *Arabidopsis thaliana* TOR and its expression in plants leads to rapamycin susceptibility. *BMC Plant Biology* 7, 26.
- 32 Vezina C., Kudelski A., Sehgal S. N. (1975). Rapamycin (Ay-22,989), a New Antifungal Antibiotic. I. Taxonomy of Producing Streptomycete and Isolation of Active Principle. *Journal of Antibiotics* 28, 721-726.
- 33 Choi J., Chen J., Schreiber S. L., Clardy J. (1996). Structure of the FKBP12-rapamycin complex interacting with the binding domain of human FRAP. *Science* 273, 239-242.
- 34 Xu Q., Liang S.P., Kudla J., Luan S. (1998). Molecular characterization of a plant FKBP12 that does not mediate action of FK506 and rapamycin. *The Plant Journal* 15, 511-519.
- 35 Leiber R.-M., John F., Verhertbruggen Y., Diet A., Knox J.P. and Ringli C. (2010). The TOR pathway modulates the structure of cell walls in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22, 1898-1908.
- 36 Xiong Y. and Sheen J. (2012). Rapamycin and glucose-target of rapamycin (TOR) protein signaling in plants. *J. Biol. Chem.* 287, 2836-2842.
- 37 Thoreen C.C., Sabatini D.M. (2009). Rapamycin inhibits mTORC1, but not completely. *Autophagy* 5, 725-726. Van Dam T. J.P., Zwartkruis F. J.T., Bos J.L., Snel B. 2011. Evolution of the TOR Pathway. *Journal of Molecular Evolution* 73, 209-220.
- 38 Wicker L.S., Boltz R. C., Jr., Matt V., Nichols E.A., Peterson L.B., Sigal N. H. (1990). Suppression of B cell activation by cyclosporin A, FK506 and rapamycin. *European Journal of Immunology* 20, 2277-2283.
- 39 Xiong Y., McCormack M., Li L., Hall Q., Xiang C. and Sheen J. (2013). Glucose-TOR signalling reprograms the transcriptome and activates meristems. *Nature* 496, 181-186.
- 40 Vespa L., Vachon G., Berger F., Perazza D., Faure J.D., Herzog M. (2004). The immunophilin-interacting protein AtFIP37 from *Arabidopsis* is essential for plant development and is involved in trichome endoreduplication. *Plant Physiology* 134, 1283-1292.
- 41 Gold L.I., Sung J.J., Siebert J.W., Longaker M.T. (1997). Type I (RI) and type II (RII) receptors for transforming growth factor-beta isoforms are expressed subsequent to transforming growth factor-beta ligands during excisional wound repair. *American Journal of Pathology* 150, 209-222.
- 42 Aghdasi B., Ye K., Resnick A., Huang A., Ha H.C., Guo X., Dawson T. M., Dawson V. L., Snyder S. H. (2001). FKBP12, the 12-kDa FK506-binding protein, is a physiologic regulator of the cell cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 98, 2425-2430.
- 43 Alavilli H., Lee H., Park M., Yun D.J., Lee B. H. (2018). Enhanced multiple stress tolerance in *Arabidopsis* by overexpression of the polar moss peptidyl prolyl isomerase FKBP12 gene. *Plant Cell Reports* 37, 453-465.
- 44 Osmulski P. A., Gaczynska M. (2013). Rapamycin allosterically inhibits the proteasome. *Molecular Pharmacology* 84, 104-113.
- 45 Anderson, G.H., Veit, B. and Hanson, M.R. (2005). The *Arabidopsis* AtRaptor genes are essential for post-embryonic plant growth. *BMC Biol.* 3, 12.
- 46 Diaz-Troya, S., Florencio, F.J. and Crespo, J.L. (2008). Target of rapamycin and LST8 proteins associate with membranes from the endoplasmic reticulum in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eukaryot. Cell* 7, 212-222.
- 47 Kravchenko A., Citerne S., Jéhanno I., Bersimbaev R.I., Veit B., Meyer C. and Leprince A.-S. (2015). Mutations in the *Arabidopsis* Lst8 and Raptor genes encoding partners of the TOR complex, or inhibition of TOR activity decrease abscisic acid (ABA) synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 467, 992-997.
- 48 Moreau M., Azzopardi M., Clement G., Dobrenel T., Marchive C., Renne C., Martin-Magniette M.-L., Taconnat L., Renou J.-P., Robaglia C. et al. (2012). Mutations in the *Arabidopsis* homolog of LST8/GbetaL, a partner of the target of Rapamycin kinase, impair plant growth, flowering, and metabolic adaptation to long days. *Plant Cell* 24, 463-481.
- 49 Salem M.A., Li Y., Wiszniewski A. and Gialvalisco P. (2017). Regulatory associated protein of TOR (RAPTOR) alters the hormonal and metabolic composition of *Arabidopsis* seeds, controlling seed morphology, viability and germination potential. *Plant J.* 92, 525-545.
- 50 Tatebe H. and Shiozaki K. (2017). Evolutionary conservation of the components in the TOR signaling pathways. *Biomolecules* 7, 77.
- 51 Yip C.K., Murata K., Walz T., Sabatini D.M. and Kang S.A. (2010). Structure of the human mTOR complex I and its implications for rapamycin inhibition. *Mol. Cell* 38, 768-774.
- 52 Aylett C.H.S., Sauer E., Imseng S., Boehringer D., Hall M.N., Ban N. and Maier T. (2016). Architecture of human mTOR complex I. *Science* 351, 48-52.
- 53 Yang H., Rudge D.G., Koos J.D., Vaidialingam B., Yang H.J. and Pavletich N.P. (2013). mTOR kinase structure, mechanism and regulation. *Nature* 497, 217-223.
- 54 Ben-Sahra I. and Manning B.D. (2017). mTORC1 signaling and the metabolic control of cell growth. *Curr. Opin. Cell Biol.* 45, 72-82.
- 55 Dobrenel T., Caldana C., Hanson J., Robaglia C., Vincenz M., Veit B. and Meyer C. (2016a). TOR signaling and nutrient sensing. *Annu. Rev. Plant Biol.* 67, 261-285.
- 56 González, A. and Hall, M. N. (2017). Nutrient sensing and TOR signaling in yeast and mammals. *EMBO J.* 36, 397-408.
- 57 Calvo S.E., Pagliarini D.J. and Mootha V.K. (2009). Upstream open reading frames cause widespread reduction of protein expression and are polymorphic among humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 7507-7512.
- 58 Rahmani F., Hummel M., Schuurmans J., Wiese-Klinkenberg A., Smeeckens S. and Hanson J. (2009). Sucrose control of translation mediated by an upstream open reading frame-encoded peptide. *Plant Physiol.* 150, 1356-1367.
- 59 Johnstone T.G., Bazzini A.A. and Giraldez A.J. (2016). Upstream ORFs are prevalent translational repressors in vertebrates. *EMBO J.* 35, 706-723.

- 60 Schepetilnikov M., Dimitrova M., Mancera-Martínez E., Geldreich A., Keller M. and Ryabova L.A. (2013). TOR and S6K1 promote translation reinitiation of uORF-containing mRNAs via phosphorylation of eIF3h. *EMBO J.* 32, 1087-1102.
- 61 Schepetilnikov M., Kobayashi K., Geldreich A., Caranta C., Robaglia C., Keller M. and Ryabova L.A. (2011). Viral factor TAV recruits TOR/S6K1 signalling to activate reinitiation after long ORF translation. *EMBO J.* 30, 1343-1356.
- 62 Thiébeauld O., Schepetilnikov M., Park H.-S., Geldreich A., Kobayashi K., Keller M., Hohn T. and Ryabova L. A. (2009). A new plant protein interacts with eIF3 and 60S to enhance virus-activated translation re-initiation. *EMBO J.* 28, 3171-3184.
- 63 Lee D.-H., Park S.J., Ahn C.S. and Pai H.-S. (2017). MRF family genes are involved in translation control, especially under energy-deficient conditions, and their expression and functions are modulated by the TOR signaling pathway. *Plant Cell* 29, 2895-2920.
- 64 Ahn C.S., Han J.-A., Lee H.-S., Lee S. and Pai H.-S. (2011). The PP2A regulatory subunit Tap46, a component of the TOR signaling pathway, modulates growth and metabolism in plants. *Plant Cell* 23, 185-209.
- 65 Ahn C.S., Ahn H.-K. and Pai H.-S. (2015). Overexpression of the PP2A regulatory subunit Tap46 leads to enhanced plant growth through stimulation of the TOR signalling pathway. *J. Exp. Bot.* 66, 827-840.
- 66 Saxton R.A. and Sabatini D.M. (2017). mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell* 168, 960-976.
- 67 Li L. and Sheen J. (2016). Dynamic and diverse sugar signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 33, 116-125.
- 68 Kim S.G., Hoffman G. R., Pouligiannis G., Buel G.R., Jang Y.J., Lee K.W., Kim B.-Y., Erikson R.L., Cantley L.C., Choo A.Y. et al. (2013). Metabolic stress controls mTORC1 lysosomal localization and dimerization by regulating the TTT-RUVBL1/2 complex. *Mol. Cell* 49, 172-185.
- 69 David-Morrison G., Xu Z., Rui Y.-N., Charng W.-L., Jaiswal M., Yamamoto S., Xiong B., Zhang K., Sandoval H., Duraine L. et al. (2016). WAC regulates mTOR activity by acting as an adaptor for the TTT and Pontin/Reptin complexes. *Dev. Cell* 36, 139-151.
- 70 Schepetilnikov M., Makarian J., Srour O., Geldreich A., Yang Z., Chicher J., Hammann P. and Ryabova L.A. (2017). GT-Pase ROP2 binds and promotes activation of target of rapamycin, TOR, in response to auxin. *EMBO J.* 36, 886-903.
- 71 Baena-González E., Rolland F., Thevelein J. M. and Sheen J. (2007). A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signalling. *Nature* 448, 938-942.
- 72 Broeckx T., Hulsmans S. and Rolland F. (2016). The plant energy sensor: evolutionary conservation and divergence of SnRK1 structure, regulation, and function. *J. Exp. Bot.* 67, 6215-6252.
- 73 Herzig S. and Shaw R.J. (2018). AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 19, 121-135.
- 74 Wurzinger B., Nukarinen E., Nä gele T., Weckwerth W. and Teige M. (2018). The SnRK1 kinase as central mediator of energy signalling between different organelles. *Plant Physiol.* 176, 1085-1094.
- 75 Gwinn D. M., Shackelford D. B., Egan D. F., Mihaylova M. M., Mery A., Vasquez D. S., Turk B.E. and Shaw ,R.J. (2008). AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol. Cell* 30, 214-226.
- 76 Nukarinen E., Nä gele T., Pedrotti L., Wurzinger B., Mair A., Landgraf R., Bö rnke F., Hanson J., Teige M., Baena-Gonzalez E. et al. (2016). Quantitative phosphoproteomics reveals the role of the AMPK plant ortholog SnRK1 as a metabolic master regulator under energy deprivation. *Sci. Rep.* 6, 31697.
- 77 Russell R. C., Yuan H.-X. and Guan K.-L. (2014). Autophagy regulation by nutrient signaling. *Cell Res.* 24, 42-57.
- 78 Puente C., Hendrickson R. C. and Jiang X. (2016). Nutrient-regulated hosphorylation of ATG13 inhibits starvation-induced autophagy. *J. Biol. Chem.* 291, 6026-6035.
- 79 Settembre C., Zoncu, R., Medina D.L., Vetrini F., Erdin S., Erdin S.U., Huynh T., Ferron M., Karsenty G., Vellard M.C. et al. (2012). A lysosome-tonucleus signalling mechanism senses and regulates the lysosome via mTOR and TFEB. *EMBO J.* 31, 1095-1108.
- 80 Liu Y. and Bassham D.C. (2010). TOR is a negative regulator of autophagy in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE* 5, e11883.
- 81 Pu Y., Luo X. and Bassham D.C. (2017). TOR-dependent and -independent pathways regulate autophagy in *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci.* 8, 1204.
- 82 Suttangkakul A., Li F., Chung T. and Vierstra R.D. (2011). The ATG1/ATG13 protein kinase complex is both a regulator and a target of autophagic recycling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23, 3761-3779.
- 83 Marshall R.S. and Vierstra R.D. (2018). Autophagy: the master of bulk and selective recycling. *Annu. Rev. Plant Biol.* 69, 173-208.
- 84 Munemasa S., Hauser F., Park J., Waadt R., Brandt B., and Schroeder J.I. (2015). Mechanisms of abscisic acid-mediated control of stomatal aperture. *Curr. Opin. Plant Biol.* 28, 154–162.
- 85 Zhao Y., Chan Z., Gao J., Xing L., Cao M., Yu C., Hu Y., You J., Shi H., Zhu Y., et al. (2016). ABA receptor PYL9 promotes drought resistance and leaf senescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113, 1949–1954.
- 86 Wang P., Xue L., Batelli G., Lee S., Hou Y.J., Van Oosten M.J., Zhang H., Tao W.A., and Zhu J.K. (2013). Quantitative phosphoproteomics identifies SnRK2 protein kinase substrates and reveals the effectors of abscisic acid action. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 11205–11210.
- 87 Wang P., Zhao Y., Li Zh., Chuan-Chih Hsu, Liu X., Fu L., Yueh-Ju Hou, Du Y., Xie Sh., Zhang Ch., Gao J., Cao M., Huang X., Zhu Y, Tang K., Wang X., Tao W. A., Xiong Y., and Jian-Kang Zhu. (2018). Reciprocal Regulation of the TOR Kinase and ABA Receptor Balances Plant Growth and Stress Response, *Molecular Cell* 69, 1–13, January 4.

1-бөлім
БОТАНИКА

Section 1
BOTANY

Раздел 1
БОТАНИКА

Котухов Ю.А.¹, Данилова А.Н.², Кубентаев С.А.³, Ануфриева О.А.⁴

¹кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: a-n-danilova@yandex.ru

²кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: a-n-danilova@yandex.ru

³старший научный сотрудник, e-mail: altai_bs@mail.ru

⁴старший научный сотрудник, e-mail: altai_bs@mail.ru

Алтайский ботанический сад, Казахстан, г. Риддер

**КОНСПЕКТ ВИДОВ РОДА CALAMAGROSTIS ADANS.
(СЕМ. POACEAE BARNHART) КАЗАХСТАНСКОГО АЛТАЯ,
САУРО-МАНРАКА И ЗАЙСАНСКОЙ ВПАДИНЫ**

Конспект рода *Calamagrostis* Adans. составлен авторами на основании полевых работ, проводившихся в течение 1970–2018 гг., а также использованы сборы других коллекторов, хранящиеся в гербарных фондах Республиканских государственных предприятий на праве хозяйственного ведения «Алтайский ботанический сад» (г. Риддер) и «Институт ботаники и фитоинтродукции» (г. Алматы).

Цель исследований: уточнение видового состава и распространения видов рода *Calamagrostis* Adans. (Сем. Poaceae Barnhart) на территории Казахстанского Алтая, Приалтайских хребтов и Зайсанской впадины.

На исследованных территориях установлено произрастание 17 видов рода *Calamagrostis* Adans. из подтрибы полевицевых (*Agrostidinae* Griseb.) и 3 секций (*Deyeuxia* (Clar.) Dum., *Calamagrostis* Dum., *Pseudophragmites* Tzvel.). Изучение гербарных образцов и литературных данных позволило пополнить видовой состав рода *Calamagrostis* Adans. Казахстана 5 видами: *Calamagrostis macilenta* (Griseb.) Litv., *Calamagrostis uralensis* Litv., *Calamagrostis langsdorffii* (Link) Trin., *Calamagrostis phragmitoides* Hartm., *Calamagrostis glomerata* Boiss. Et Buhse. В систематическом отношении наибольшим числом видов представлена секция *Deyeuxia* (Clar.) Dum. – 7 видов (42,2%); секции *Calamagrostis* Dum. и *Pseudophragmites* Tzvel. по 5 видов (58,8%). По характеру жизненных форм преобладают длиннокорневищные – 13 (76,5%), доля рыхлорневищных – 4 (23,5%) видов. В экологическом плане преобладают мезофиты – 8 (47,0%), доля мезогигрофитов – 5 (29,4%), мезоксерофитов – 2 (11,8%) и мезопетрофиты – 2 (11,8%). Насыщенность видами в исследуемом регионе: Центральный Алтай – 10 видов (58,8% от общего числа видов); Южный Алтай – 13 (76,5%); Западный Алтай – 9 (52,9%); Калбинский Алтай – 10 (58,8%); Зайсанская впадина – 4 (23,5%); Сауро-Манрак – 5 (29,4%). Эндемы в данном регионе не установлены.

Ключевые слова: конспект, род *Calamagrostis*, Казахстанский Алтай, Сауро-Манрак, Зайсанская впадина, распространение, встречаемость.

Kotuchov Yu.A.¹, Danilova A.N.², Anufrieva O.A.³

¹candidate of biological sciences, leading researcher, e-mail: a-n-danilova@yandex.ru

²candidate of biological sciences, leading researcher, e-mail: a-n-danilova@yandex.ru

³senior researcher, e-mail: altai_bs@mail.ru

⁴senior researcher, e-mail: altai_bs@mail.ru

Altai Botanical Garden, Kazakhstan, Ridder

**Summary of species of the genus *Calamagrostis* Adans. (Sem. Poaceae Barnhart)
of Kazakhstan Altai, Sauro-Manrak and Zaisan Depression**

An abstract of the genus *Calamagrostis* Adans. compiled by the authors on the basis of field work carried out during 1970–2018, as well as used fees of other collectors stored in the herbarium funds of Republican state-owned enterprises on the right of economic management “Altai Botanical Garden” (Ridder) and the Institute of Botany and Phyto-Production (Almaty city).

The purpose of research: clarification of the species composition and distribution of species of the genus *Calamagrostis* Adans. (Sem. Poaceae Barnhart) in the territory of the Kazakhstan Altai, the Altai ranges and the Zaisan depression.

In the studied territories, 17 species of the genus *Calamagrostis* Adans were established. from subtribes of field species (*Agrostidinae* Griseb.) and 3 sections (*Deyeuxia* (Clar.) Dum., *Calamagrostis* Dum., *Pseudophragmites* Tzvel.). The study of herbarium specimens and literature data made it possible to supplement the species composition of the genus *Calamagrostis* Adans. Kazakhstan 5 species: *Calamagrostis macilenta* (Griseb.) Litv., *Calamagrostis uralensis* Litv., *Calamagrostis langsдорffii* (Link) Trin., *Calamagrostis phragmitoides* Hartm., *Calamagrostis glomerata* Boiss. et Buhse. In a systematic sense, the largest number of species is represented by the section *Deyeuxia* (Clar.) Dum. – 7 types (42.2%); *Calamagrostis* Dum. and *Pseudophragmites* Tzvel. 5 types (58.8%). The nature of life forms is dominated by long rhizomes – 13 (76.5%), the proportion of rooted rhizomes – 4 (23.5%) species. Ecologically, mesophytes prevail – 8 (47.0%), the proportion of mesohygrophytes – 5 (29.4%), mesoxerophytes – 2 (11.8%) and mesopetrophytes – 2 (11.8%). Species saturation in the studied region: Central Altai – 10 species (58.8% of the total number of species); Southern Altai – 13 (76.5%); Western Altai – 9 (52.9%); Kalba Altai – 10 (58.8%); Zaisan Depression – 4 (23.5%); Sauro-Manrak – 5 (29.4%). Endems are not established in this region.

Key words: abstract, genus *Calamagrostis*, Kazakhstan Altai, Sauro-Manrak, Zaisan Depression, spread, incidence

Котухов Ю.А.¹, Данилова А.Н.², Кубентаев С.А.³, Ануфриева О.А.⁴

¹биология ғылымдарының кандидаты, жетекші ғылыми қызметкері, e-mail: a-n-danilova@yandex.ru

²биология ғылымдарының кандидаты, жетекші ғылыми қызметкері, e-mail: a-n-danilova@yandex.ru

³аға ғылыми қызметкері, e-mail: altai_bs@mail.ru

⁴аға ғылыми қызметкері, e-mail: altai_bs@mail.ru

Алтай ботаникалық бағы, Қазақстан, Риддер қ.

Қазақстандық Алтай, Сауыр Манырақ және Зайсан ойпатының *Calamagrostis* Adans. тұқымдасы түрлерінің конспектісі (Poaceae Barnhart тұқымдасы)

Calamagrostis Adans. тұқымдасының конспектісі авторлармен 1970-2018 жж. бойы жүргізілген дала жұмыстары кезінде құрастырылды, және де «Алтай ботаникалық бағы» шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорынның және Ботаника және фитоинтродукция институтының (Алматы қ.) гербарий қорларында сақталған өзге коллекторлардың жинақтары қолданылды.

Зерттеу мақсаты: Қазақстандық Алтай, Алтай маңы жоталары және Зайсан ойпаты аумағында *Calamagrostis* Adans. тұқымдасы түрлерінің таралуы мен түрлік құрамын нақтылау.

Зерттелген аймақтарда *Calamagrostis* Adans. тұқымдасының 17 түрінің өсетіні анықталды кіші тұқымдасы (*Agrostidinae* Griseb.) және 3 секция (*Deyeuxia* (Clar.) Dum., *Calamagrostis* Dum., *Pseudophragmites* Tzvel.). Гербарий үлгілерін және әдеби деректерді зерттеу Қазақстанда *Calamagrostis* Adans. тұқымдасының түр құрамын 5 түрмен толықтыруға көмектесті: *Calamagrostis macilenta* (Griseb.) Litv., *Calamagrostis uralensis* Litv., *Calamagrostis langsдорffii* (Link.) Trin., *Calamagrostis phragmitoides* Hartm., *Calamagrostis glomerata* Boiss. et Buhse. Систематикалық тұрғыда ең көп түр *Deyeuxia* секциясында көрсетілген – 7 түр (42,2 %); *Calamagrostis* Dum. және *Pseudophragmites* Tzvel. Секцияларында 5 түрден (58,8 %) көрсетілген. Тіршілік пішіні сипаты бойынша ұзынтамырлылар басым – 13 (76,5 %), бостамырлылар үлесі – 4 (23,5 %) түр. Экологиялық тұрғыда мезофиттер басым – 8 (47,0 %), мезогигрофиттер үлесі – 5 (29,4 %), мезоксерофиттер – 2 (11,8 %) және мезопетрофиттер – 2 (11,8 %). Зерттелген аймақтағы түрлермен қаңығуы: Орталық Алтай – 10 түр (58,8 % түрлердің орташа санынан); Оңтүстік Алтай – 13 (76,5 %); Батыс Алтай – 9 (52,9 %); Қалбы Алтай – 10 (58,8 %); Зайсан ойпаты – 4 (23,5 %); Сауыр Манырақ – 5 (29,4 %). Бұл аймақта эндемдер анықталған жоқ.

Түйін сөздер: конспект, *Calamagrostis* Adans. тұқымдасы, Қазақстандық Алтай, Сауыр Манырақ, Зайсан ойпаты, таралуы, кездесуі.

Введение

Род *Calamagrostis* Adans. (Вейник) является крупным и полиморфным родом семейства злаков, виды которого широко распространены во

всех растительных зонах и поясах Голарктики, выполняя фитоценотическое и хозяйственное значения. Вейники широко используются для закрепления песков, разного рода насыпей, отвалов, склонов от размывания тальми водами.

Кроме того, некоторые виды могут служить сырьем для производства бумаги и в декоративном садоводстве. Вследствие жесткости листьев и грубости стеблей почти все виды рода считаются плохими или посредственными кормовыми растениями.

Согласно данным А.П. Гамаюновой (1956:181), С.А. Абдулиной (1998:128) флора Казахстана насчитывает 19 видов вейников. Благодаря своему положению, флора исследуемого региона, в частности рода *Calamagrostis*, формировалась под влиянием с одной стороны бореального, с другой – древне-средиземноморского флористического подцарства (Тахтаджан, 1978:44; Камелин, 1990:135).

Род *Calamagrostis* Adans. относится к наиболее сложному таксону в подтрибе *Agrostidinae* Griseb. Это связано прежде всего с тем, что входящие в него виды в большинстве распространены в зоне основных гибридогенных процессов, что затрудняет выделение диагностических признаков.

Цель настоящего исследования – уточнение видового состава и распространения видов рода *Calamagrostis* Adans. (Сем. Poaceae Barnhart) на территории Казахстанского Алтая, Приалтайских хребтов и Зайсанской впадины. Для достижения поставленной цели авторами проанализированы и в некоторых случаях использованы литературные сведения, особенно по видовому составу, распространению видов в пределах исследуемого региона (Артемов, 2001:142; Байтулин и др., 1991:24; Гамаюнова, 1956:181; Голоскоков, 1984:33; Иващенко и др., 2013:99; Котухов, 2005:11; Крылов, 1928:210; Ревушкин, 1988:35; Грубов, 1982:36; Рожевиц, 1934:189; Сергиевская, 1961:3094; Абдулина, 1998:128; Цвелев, 1976:297; Цвелев, 1968:78; Эбель, 2012:490; Ковалевская, 1968:98). Также проработаны работы зарубежных исследователей по изучению видов рода *Calamagrostis* (Baker A.J.M., Brooks R.R., 1989:81; Crackles F.E., 1994:51; Closer V., Closer, 2000:71; Hogg E.H., Kramarova E., Klems M., Klejdus B., Vesela D., 1999:129; Rebele F., Lehmann C., 2001:325; Paszko B., Chen W.-L., Liu B., 2016:256;)

Материалы и методики исследования

Конспект рода *Calamagrostis* Adans. составлен на основании многолетних исследований авторов, проводившихся в 1970-2018 гг. Маршрутами были охвачены территории Казахстанского Алтая, Приалтайских хребтов и Зайсанской впа-

дины. Используя в обследованиях маршрутно-рекогносцировочный метод (Быков, 1957:67), собрано 670 гербарных листов.

Кроме того, учтены сборы других коллекторов, хранящиеся в гербарных фондах Республиканских государственных предприятий на праве хозяйственного ведения «Алтайский ботанический сад» (г. Риддер) и «Институт ботаники и фитоинтродукции» (г. Алматы), а также сведения из цитируемой литературы.

Виды рода расположены по системе Н.Н. Цвелева (1976:297); названия видов даны согласно последним монографическим сводкам и публикациям (Флора Сибири, 1990: 92; Абдулина, 1998:128; Эбель, 2012:490).

Номенклатурная цитата ограничена первичным описанием и описаниями, касающимися обследованного региона.

Частота встречаемости вида оценивалась по трем градациям: обычно (встречается повсеместно), изредка (встречается спорадично), редко (встречается в единичных местах нахождения).

Обследуемый район (в пределах Восточно-Казахстанской и частично бывшей Семипалатинской области) площадью около 200 тыс. км² расположен в бассейне р. Иртыш, между 47-51° северной широты и 72-87° восточной долготы. На юго-западе регион ограничен хр. Тарбагатай, на северо-западе – хр. Западная Листвяга, северо-востоке – долиной р. Катунь, на юго-востоке – государственной границей с КНР (Котухов, Данилова, Ануфриева, 2018). В соответствии с классификацией, принятой во Флоре Казахстана (Флора Казахстана, 1956: 201) исследуемая территория включает три флористических региона: 12. Зайс. (Зайсанская впадина); 22. Алтай; 23. – Тарбагатай (хр. Саур, Сайкан, Манрак).

Географическое положение региона, его геологическое строение, сложность и разнообразие рельефа, а также почвенно-климатические, гидрологические условия обуславливают разделение его на 5 физико-географических районов: Южный Алтай (хр. Нарымский, Сарымсақты, Южноалтайский Тарбагатай, Курчумский, Азуту, Южный Алтай, Кабинские и Бухтарминские горы); Западный Алтай (хр. Ивановский, Ульбинский, Убинский, Коксинский, Линейский, Холзун, Западная Листвяга); Калбинский Алтай (Восточная горно-лесная Калба, Западная горно-степная Калба); Сауро-Манрак (хр. Саур, Манрак, Сайкан, Кишкенетау); Зайсанская впадина (Северное Призайсанье, Южное Призайсанье). В основном мы принимаем такое деление в трактовке А.А. Соколова (1974:5).

Результаты исследований и их обсуждение

В результате проводимых исследований установлено произрастание на территории Казахстанского Алтая, Приалтайских хребтов и Зайсанской впадины 17 видов рода *Calamagrostis* Adans. из подтрибы полевицевых (Agrostidinae Griseb.) и 3 секций (*Deyeuxia* (Clar.) Dum., *Calamagrostis* Dum., *Pseudophragmites* Tzvel.). Изучение гербарных образцов, литературных данных и частных коллекций позволило пополнить видовой состав рода *Calamagrostis* Adans. Казахстана 5 видами: *Calamagrostis macilenta* (Griseb.) Litv., *Calamagrostis uralensis* Litv., *Calamagrostis langsдорфii* (Link) Trin., *Calamagrostis phragmitoides* Hartm., *Calamagrostis glomerata* Boiss. et Buhse.

Насыщенность видами в исследуемом регионе: Центральный Алтай – 10 видов (58,8% от общего числа видов); Южный Алтай – 13 (76,5%); Западный Алтай – 9 (52,9%); Калбинский Алтай – 10 (58,8%); Зайсанская впадина – 4 (23,5%); Сауро-Манрак – 5 (29,4%). Эндемов для данного региона не установлено.

Количество видов, встречаемых в единичных местах нахождения, – 7 (41% от общего числа видов): *Calamagrostis krylovii* Reverd., *Calamagrostis macilenta* (Griseb.) Litv., *Calamagrostis sajanensis* Malysch., *Calamagrostis canescens* (Web.) Roth, *Calamagrostis uralensis* Litv., *Calamagrostis glomerata* Boiss. et Buhse, *Calamagrostis turkestanica* Hack.

В систематическом отношении наибольшим числом видов представлена секция *Deyeuxia* (Clar.) Dum. – (42,2%); секции *Calamagrostis* Dum. и *Pseudophragmites* Tzvel. – по 5 видов (58,8%). По характеру жизненных форм преобладают длиннокорневищные виды – 13 (76,5%), доля рыхлостебельных – 4 (23,5%). В экологическом плане преобладают мезофиты – 8 (47,0%), мезогигрофитов – 5 (29,4%), мезоксерофитов – 2 (11,8%) и мезопетрофитов – 2 (11,8%).

В настоящий конспект включено 17 видов рода *Calamagrostis* Adans., выявленных в исследуемом регионе.

Род Вейник – *Calamagrostis* Adans. 1763, Fam. Pl. 2:31; Рожев. 1934, Фл. СССР, 2:129, р. max.р.

Секция 1. *Deyeuxia* (Clar.) Dum. 1823, Observ. Gram. Belg. :126. – *Deyeuxia* Clar. 1812, in Beauv. Ess. Agrost.:43. – *Stilpnopleum* Nevski, 1937, Тр. Бот. инст. АН СССР, сер. 1,3:143.

Calamagrostis arundinaceae (L.) Roth 1789, Tent. Fl. Germ. 2,1:89; Крылов 1928, Фл. Зап. Сиб. 2:212; Рожевиц 1934, во Фл. СССР 2:222;

Гамаюнова 1956, Фл. Казах. 1:182; Иванова 1990, Фл. Сиб. 2:95; Абдулина 1999, Сп. сосуд. раст. Казах.: 122; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции:490. – *Calamagrostis arundinaceae* subsp. *arundinaceae* (Roth) Tzvel., 1976, Злаки СССР :303. – Вейник тростниковый.

Смешанные леса, кустарниковые луга, вырубки, реже субальпийские луга, до верхнего пояса гор. Часто. Евро-сибирский, мезофит.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (окр. с. Берель, дол. р. Берель, прибрежные ивняки, 25 VIII 1970, Котухов Ю.; окр. с. Берель, дол. р. Берель, смешанный лес, 25 VIII 1970, Котухов Ю.; г. Кайнар, окр. с. Берель, 1900 м над ур. м., разреженный кедрч, 12 VIII 1976, Котухов Ю.; г. Кайнар, 1700 м над ур. м., разреженный елово-березовый лес, 12 VIII 1976, Котухов Ю.).

Южный Алтай: хр. Южный Алтай (в районе с. Чиндагатуй, 2100 м над ур. м., лиственный лес, 17 VIII 1972, Котухов Ю.; окр. с. Чиндагатуй, 2000 м над ур. м., северный склон, разреженные лиственничники, остепненные луговины, 18 VIII 1972, Котухов Ю.; Бобровская впадина, окр. с. Бобровка, дол. р. Каракаба, курумы, разреженный ельник, 9 IX 1976, Котухов Ю.; дол. р. Каракаба, окр. с. Бобровка, еловый лес, 10 IX 1976, Котухов Ю.; верх. р. Бухтарма, 2300 м над ур. м., заболоченная тундра, 26 VII 1979, Котухов Ю.; верх. р. Бухтарма, 2100 м над ур. м., верхняя граница лиственного леса, зарастающие курумы, 29 VII 1979, Котухов Ю.); хр. Южноалтайский Тарбагатай (дол.р. Бухтарма, в районе с. Берель, разреженный еловый лес, 27 VIII 1970, Котухов Ю.; Каракабинская впадина, дол. р. Каракаба, умеренно увлажненный кустарник, кустарниково-разнотравные луговины, 17 VIII 1986, Котухов Ю.); хр. Сарымсақты (окр. с. Катон-Карагай, южный склон г. Ушкунгей, лиственный лес, 6 VIII 1976, Котухов Ю.; в районе с. Катон-Карагай, сев. склон г. Ушкунгей, 1800 м над ур. м., в зоне лиственного леса, 12 VIII 1976, Котухов Ю.); хр. Азутау (верх. р. Теректы, 2100 м над ур. м., окраина осыпи, 28 VII 1985, Котухов Ю.; верх. р. Теректы, 2100 м над ур. м., зарастающий курумник, 27 VII 1985, Котухов Ю.).

Западный Алтай: хр. Листвяга (верх. р. Калмачиха, ерниковая тундра, 2300 м над ур. м. 21 VIII 1972, Котухов Ю.); хр. Коксинский (дол. р. Каменушка, разреженный лиственный лес, 15 VII 1976, Котухов Ю.); хр. Ивановский (район Белоубинских озер, 1600 м над ур. м., кедрч, зарастающие курумы, 18 VII 1970, Котухов Ю.; У-образное ущелье, 1800 м над ур. м., разрежен-

ный лиственничный лес, осыпь. 27 VIII 1976, Котухов Ю.; сев.-зап. предгорье, дол. р. Быструха, березово-ивовые сообщества, 10 VIII 1988, Котухов Ю.); хр. Убинский (окр. с. Поперечное, ур. Стрежная Яма, разреженный пихтач, 31 VII 1981, Котухов Ю.); хр. Линейский (сев.-вост. склон, разреженный кедрч, устье р. Линейчика (Западно-Алтайский заповедник), 25 VIII 1994, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: хр. Калбинский (горы Коктау, дол.р. Сибинка, ур. Талды, опушки березово-ивовых колок, 3 VIII 2018, Котухов Ю., Кубентаев С.); г. Медведка (ур. Колбалы, опушки березово-ивовых насаждений, 23 XI 2018, Котухов Ю., Кубентаев С.).

Calamagrostis obtusata Trin. 1824, Gram. Unifl. :225; Крылов 1928, Фл. Зап. Сиб. 2:215; Рожевиц 1934, во Фл. СССР 2:220; Гамаюнова 1965, Фл. Казах. 1:187; Цвелев 1976, Злаки СССР :306; Иванова 1990, Фл. Сиб. 2:100; Абдулина 1999, Сп. сосуд.раст. Казах. :122; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции :491. – Вейник тупочешуйный.

Тенистые хвойные леса, лесные поляны, долины, мелколиственные леса. Часто. Североазиатский, мезофит.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (окр. с. Берель, дол. р. Бухтарма, ельник, затененные поляны, 17 VIII 1968, Котухов Ю.).

Южный Алтай: хр. Южноалтайский Тарбагатай (г. Бетеу, березово-еловый лес, 15 VIII 1976, Котухов Ю.); хр. Южный Алтай (Каракабинская впадина, смешанный лес, 1700-2100 м над ур. м., 20 VIII 1986, Иващенко А.); хр. Сарымсакты (Кушенмбай, хвойный лес, 1780 м над ур. м., 22 VII 1986, Иващенко А.).

Западный Алтай: хр. Убинский (дол. р. Белая Уба, еловый лес, 29 VIII 1935, Ермаков П.; исток р. Шаравка, редколесье, 29 VIII 1947, Поляков П.; г. Синюха, 1600 м над ур. м., пихтово-кедровое редколесье, 29 VIII 1947, Поляков П.; ур. Чашино, сев.-зап. склон, пихтач, по полянам, 13 VIII 1968, Котухов Ю.; Синюхин белок, дол. р. Малая Журавлиха, в районе пос. Крольчатник, пихтач, 10 VII 1976, Котухов Ю.); хр. Ивановский (сев.-зап. склон, г. Крестовая, пихтач, 6 IX 1946, Штейн К.; окр. г. Риддер, дол. р. Громатуха, 24 VIII 1947, Поляков П.; сев.-зап. склон, хвойный лес, 17 VIII 1961, Скопина И.; сев.-зап. склон, пихтач, 17 VIII 1961, Скопина И.; сев.-зап. склон, окр. с. Поперечное, дол. р. Белая Уба, 10 VIII 1969, Котухов Ю.; белок Проходной, сев.-зап. склон, 1100 м над ур. м., кедрч, 21 VIII 1969, Котухов Ю.; белок Проходной, сев.-зап.

склон, 1600 м над ур. м., изреженный кедрово-лиственничный лес, 26 VIII 1969, Котухов Ю.; сев.-зап. подножье, дол. р. Быструха, ивняк, 10 VIII 1988, Котухов Ю.).

Calamagrostis krylovii Reverd. 1961, Сист. зам. Герб. Томск.ун-та 82:4; Сергиевская 1961, Фл. Зап. Сиб. 12,1:3095; Власова 2005, Кон. Фл. Сиб. 2:292. – *Calamagrostis pavlovii* auct non. (Schrad.) Host. : Крылов 1928, Фл. Зап. Сиб. 2:214; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции :490. – *Calamagrostis pavlonii* auct non Roshev. [1934, Фл. СССР, 2:221]; Ковалевская 1968, Опр. Раст. Сред. Азии 1:104; Гамаюнова 1965, Фл. Казах. 1:188; Абдулина 1999, Сп. сосуд. раст. Казах. :122; Цвелев 1976, Злаки СССР :306. – Вейник Крылова.

Смешанные березово-осиновые леса, лесные поляны, реке, сухие долины рек, горные луга, до среднего горного пояса. Очень редко. Горно-сибирский мезофит.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (окр. с. Берель, разреженный еловый лес, 27 VIII 1970, Котухов Ю.);

Южный Алтай: хр. Сарымсакты (верх. р. Сарымсак, близ с. Медведка, луговые поляны среди смешанного леса, 21 VII 1960, Ролдугин И.; ур. Кок-Терек, в районе с. Чингистай, березняк, 18 VII 1984, Котухов Ю.); хр. Южноалтайский Тарбагатай (Каракабинская впадина, 2000 м над ур. м., 25 VII 1988, Котухов Ю.).

Calamagrostis macilenta (Griseb.) Litv. 1921, Бот. мат. (Ленинград), 2:119; Крылов 1928, Фл. Зап. Сиб. 2:216; Цвелев 1968, Раст. Цент. Азии 4:94; Рожевиц 1934, Фл. СССР 2:205; Иванова, 1990, Фл. Сиб. 2:99; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции :491. – *Calamagrostis variavar. Macilenta* Griseb. 1852, in Ledeb., Fl. Ross. 4:427. – Вейник тонкостебельный.

Лужайки, каменистые склоны низкогорий, речные галечники, в нижнем и среднем горных поясах. Изредка. Центрально-азиатский, мезопетрофит.

Южный Алтай: хр. Нарымский (в районе с. Свинчатка, щебнистый склон, 15 VIII 1998, Котухов Ю.; окр. с. Славянка, скалистый сев.-вост. склон, 28 VIII 1999, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: горы Коктау (ур. Чурмей, сев.-вост. щебнистый склон, 20 VII 2018, Котухов Ю.); ур. Талды, юго-вост. склон, остепненный луг, 30 VII 2018, Котухов Ю.

Calamagrostis sajanensis Malysch. 1961, Бот. мат. Герб. Бот. инст. АН СССР 21:452; Цвелев 1976, Злаки СССР :309; Котухов 1975, Бот. мат. Герб. инст. бот. 9:4. – Вейник саянский.

Приречные лужайки, пески и галечники, каменистые склоны, в среднем горном поясе. Редко. Саяно-монгольский, мезофит.

Центральный Алтай: сев.-зап. оконечность плато Укок (1700 м над ур. м., дол. р. Бухтарма, прибрежные лужайки, 24 VIII 1974, Котухов Ю.); Чиндагатуйские горы (в районе оз. Бухтарминское, щебнистые лужайки, 1650 м над ур. м., 25 VIII 1984, Котухов Ю.; дол. р. Мукор, близ пос. Чиндагатуй, прибрежные кустарниковые сообщества, 25 VIII 1984, Котухов Ю.).

По-видимому, *Calamagrostis sajanensis* Malysch. имеет гибридогенное происхождение: *Calamagrostis macilenta* × *Calamagrostis epigeios* subsp. *glomerata* (Цвелев, 1976).

Calamagrostis neglecta (Ehrh.) Gaertner., Mey. et Scherb. 1799, Fl. Wett. 1:94; Крылов 1928, Фл. Зап. Сиб. 2:219; Рожевиц 1934, во Фл. СССР 2:215; Гамаюнова 1956, Фл. Казах. 1:187; Цвелев 1968, Раст. Цент. Азии 4:35; Ковальская 1968, Опр. раст. Сред. Азии 1:104; Цвелев 1976, Злаки СССР :310; Иванова 1990, Фл. Сиб. 2:100; Абдулина 1999, Сп. сосуд. раст. Казах. :128; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции :491. – Вейник незамечаемый.

Окраины болот, сырые прибрежные пески и галечники, заболоченные долины рек, чрезмерно сырые луга, до среднего пояса гор. Обычно. Евразийский, мезогигрофит.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (окр. с. Берель, дол. р. Белая Берель, наносные илистые почвы, 24 VIII 1970, Котухов Ю.).

Южный Алтай: хр. Сарымсакты (дол. р. Бухтарма, в районе с. Чингистай, сырые луга, 24 VIII 1970, Котухов Ю.); хр. Курчумский (дол. р. Курчум, окр. с. Кыстау-Курчум, остепненные луга, 26 VII 1977, Котухов Ю.); хр. Азутау (дол. р. Урунхайка, заболоченный луг, 29 VIII 1984, Котухов Ю.; окр. с. Успенка, Успенская впадина, болото, 29 VII 1985, Котухов Ю.); хр. Южно-алтайский Тарбагатай (Каракабинская впадина, дол. р. Каракаба, окраина болота, 17 VIII 1986, Котухов Ю.); хр. Южный Алтай (около с. Чиндагатуй, 2100 м над ур. м., лиственный лес, 17 VIII 1972, Котухов Ю.)

Западный Алтай: хр. Ивановский (сев.-зап. склон, дол. р. Белая Уба, при впадении кл. Светлый, опушки заболоченных березняков, 18 VIII 1993, Котухов Ю.).

Сауро-Манрак: хр. Манрак (дол. р. Шелекты, сырые прибрежные луга, 30 VIII 1975, Котухов Ю.).

Calamagrostis lapponica (Wahlenb.) C. Hartm. 1820, Handl.Scand. Fl. :46; Крылов 1928, Фл. Зап.

Сиб. 2:217; Рожевиц 1934, Фл. СССР 2:219; Цвелев 1968, Раст. Цент. Азии 4:84; Иванова 1990, Фл. Сиб. 2:99; Абдулина 1999, Сп. сос. раст. Казах. :128; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции :491. – *Arundo lapponica* Wahl. 1812, Fl. Lapp. :27. – Вейник лапландский.

Тундры, чрезмерно увлажненные лужайки в верхнем поясе гор. Часто. Палеарктический, мезофит.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (в районе с. Чиндагатуй, тундра, реже заходит в лиственный лес, 1 IX 1970, Котухов Ю.; близ с. Чиндагатуй, 2400 м над ур. м., ерниковая тундра, 1 IX 1971, Котухов Ю.; верх. р. Калмачиха, ерниковая тундра, 2300 м над ур. м., 21 VIII 1972, Котухов Ю.; окр. с. Чиндагатуй, разреженный лиственный лес, 1800 м над ур. м., 23 VIII 1972, Котухов Ю.).

Южный Алтай: хр. Южный Алтай (верх. р. Бухтарма, 2300 м над ур. м., заболоченная тундра, 26 VII 1979, Котухов Ю.; сев.-зап. склон, со стороны Каракабинской впадины, ерниковая тундра, 19 VIII 1986, Котухов Ю.); хр. Южно-алтайский Тарбагатай (Каракабинская впадина (вост. окраина), 1800 м над ур. м., зарастающие морены, 20 VII 1988, Котухов Ю.); хр. Сарымсакты (пер. Бурхат, 2200 м над ур. м., ерниковая тундра, 1 VIII 1995, Котухов Ю.; пер. Бурхат, 2200 м над ур. м., разреженный лиственный лес, 4 VIII 1995, Котухов Ю.).

Западный Алтай: хр. Листвяга (2200 м над ур. м., ерниковая тундра, 26 VIII 1972, Котухов Ю.).

Секция 2. *Calamagrostis* Dum. – *Calamagrostis* sect. *Calamagris* Dum. 1823, l. c. :126, s. str. – С. sect. *Epigeios* Koch, 1837, Syn. Fl. Germ. et Helv. :785, p. p.

Calamagrostis canescens (Web.) Roth 1789, Tent. Fl. Germ. 2,1:93; Иванова 1990, Фл. Сиб. 2:96. – *Calamagrostis lanceolata* Roth, 1788, Tent. Fl. Germ. 1:34; Крылов 1928, Фл. Зап. Сиб. 2:223; Гамаюнова 1956, Фл. Казах. 1:186; Цвелев 1976, Злаки СССР :313; Абдулина 1999, Сп. сосуд.раст. Казах. :128; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции :490. – Вейник седеющий.

Заболоченные тополево-ивовые леса, чрезмерно увлажненные прибрежные луга. Очень редко. Евразийский, мезогигрофит.

Зайсанская котловина: Северное Призайсание (дол. р. Калжир, между с.с. Николаевка – Бурган, 12 VIII 1967, Котухов Ю.).

Calamagrostis uralensis Litv. 1921, in Not. syst. Herb. Horti Bot. Petrop. 2:214; Рожевиц 1934, Фл. СССР 2:213; Сергиевская 1961, Фл. Зап. Сиб. ч.

1,12:3094; Цвелев 1976, Злаки СССР :312. – Вейник уральский.

Лужайки, каменистые склоны, разреженные леса, до верхнего горного пояса. Изредка. Среднеевропейский мезофит.

Южный Алтай: хр. Сарымсакты (сев.-зап. склон, в районе с. Чингистай, 1700 м над ур. м., ур. Коктерек, березовые колки, 18 VII 1984, Котухов Ю.).

Гибридогенный вид, возникший в плейстоцене в результате гибридизации *Calamagrostis lapponica* x *Calamagrostis purpurea* s.l. (Цвелев, 1976).

Calamagrostis purpurea (Trin.) Trin. 1824, Gram.Unifl. :219; Цвелев 1968, Раст. Центр. Азии :4;37; Ковалевская 1968, Опр. раст. Сред. Азии 1:104; Иванова 1990, Фл. Сиб. 2:102; Абдулина 1999, Сп. сосуд. раст. Казах. :128; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции :491. – *Calamagrostis langsdorffii* auct. non. (Link.) Trin. : Крылов 1922, Фл. Зап. Сиб. 2:219. – *Calamagrostis poplowskiae* Roshev. 1934, во Фл. СССР 2:211. – Вейник пурпурный.

Долины рек, опушки, закустаренные склоны, лесные колки. Изредка. Голарктический, мезофит.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (верх. р. Калмачиха, 2300 м над ур. м., заболоченный ерник, 21 VIII 1972, Котухов Ю.); окр. с. Чиндагатуй, 1800 м над ур. м., разреженный лиственный лес, 23 VIII 1972, Котухов Ю.; ур. Рахмановские ключи, 1700 м над ур. м., пихтово-еловый лес, 20 IX 1974, Котухов Ю.).

Южный Алтай: хр. Южный Алтай (верх. р. Бухтарма, 2300 м над ур. м., разреженный кедровый лес, 29 VII 1979, Котухов Ю.); хр. Азутау (дол. р. Урунхайка, заболоченная лужайка, 29 VIII 1984, Котухов Ю.); хр. Сарымсакты (в районе с. Чингистай, дол. р. Бухтарма, сырые луга, 13 VII 1987, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: Сибинская впадина (закустаренный склон, 14 VIII 1971, Котухов Ю.).

Calamagrostis tislansdorffii (Link) Trin. 1824, Gram.Unifl. :225; Крылов 1928, Фл. Зап. Сиб. 2:219; Гамаюнова 1956, Фл. Казах. 1:186; Иванова 1990, Фл. Сиб. 2:98; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции :491. – Вейник Лангсдорфа.

Сырые луга, долины рек, лесные опушки, кустарниковые заросли. Изредка. Голарктический, мезогигрофит.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (парковый кедровый лес, окраины курумов, 3 IX 1970, Котухов Ю.); окр. с. Чиндагатуй, ли-

ственничный лес, окраина осыпи, 8 IX 1970, Котухов Ю.; дол. р. Берель, близ с. Берель, пойменный березово-еловый лес, 10 VIII 1976, Котухов Ю.).

Южный Алтай: хр. Нарымский (в районе с. Новоберезовка, ур. Теректы, сев. склон, 1700 м над ур. м., кедрово-лиственный лес, 27 VII 1976, Котухов Ю.); ур. Теректы, сев. склон, 1900 м над ур. м., в зоне лиственного леса, увлажненные лужайки, 18 VII 1976, Котухов Ю.; окр. с. Новоберезовка, ур. Теректы, 1200 м над ур. м., дол. кл. Кедровый, 30 VII 1976, Котухов Ю.); Бухтарминские горы (юго-вост. подножье, в районе с. Солдатово, болото, поросшее *Salix caprea* L., 2 VIII 1995, Котухов Ю.); хр. Курчумский (оз. Маркаколь, дол. р. Тихушка, заливные луга, 1500 м над ур. м., 17 VIII 1986, Иващенко А.); хр. Южный Алтай (дол. р. Каракаба, лес, 13 VIII 1967, Степанова Е.); хр. Южноалтайский Тарбагатай (Каракабинская впадина, дол. р. Каракаба, прибрежный галечник, ивняки, 26 VII 1986, Котухов Ю.).

Западный Алтай: хр. Ивановский (г. Матренин Соколов, юго-зап. склон, чрезмерно увлажненные луговины, 13 VII 1935, Ермаков П.; сев.-зап. г. Риддер, дол. кл. Калмыцкий, пихтовые сообщества, 28 VII 1947, Поляков П.; сев.-зап. подножье, окр. с. Поперечное, дол. р. Белая Уба, елово-березовый лес, 25 VII 1970, Котухов Ю.); хр. Убинский (окр. с. Березовка, дол. р. Малая Уба, 2 IX 1942, Домбровский В.; г. Синюха, юго-вост. склон, пихтовый лес, 29 VII 1947, Поляков П.; дол. р. Малая Журавлиха, пос. Крольчатник, пихтач, сырые луговины, 10 VII 1976, Котухов Ю.; г. Листвяжная, сырые луга, 7 VIII 2002, Котухов Ю.); хр. Ульбинский (дол. р. Горная Ульбинка, опушка пихтового леса, среди высокотравья, 17 VII 1958, Гамаюнова А.).

Калбинский Алтай: хр. Калбинский (горы Коктау, опушки тополевых насаждений, сырые луговины, 10 VII 1983, Аралбаев Н.).

Calamagrostis phragmitoides Hartm. 1832, Handb. Fl. ed. 3:20; Иванова 1990, Фл. Сиб. 2:101. – *Calamagrostis elata* Blytt, 1847, Norsk. Fl. :143; Крылов 1928, Фл. Зап. Сиб. 2:222; Рожевиц 1934, во Фл. СССР 2:210. – *Calamagrostis purpurea* subsp. *phragmitoides* (Hartm.) Tzvel. 1965, 1:36. – Вейник тростниковидный.

Сырые луга, окраины болот, чрезмерно увлажненные долины речек и ключей. Часто. Евразийский, мезогигрофит.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (дол. р. Белая Берель, прибрежная заболоченная лужайка, 25 IX 1974, Котухов Ю.).

Южный Алтай: хр. Курчумский (дол. р. Курчум, окр. с. Курчум, сырые лужайки, 26 VI 1972, Котухов Ю.).

Западный Алтай: Риддерская впадина (г. Матренин Соколок, юго-вост. склон, окраина болота, 13 VI 1935, Ермаков П.); хр. Ивановский (дол. р. Марчиха, окр. с. Ерофеевка, сырые луга, 20 VII 1986, Котухов Ю.); хр. Линейский (окр. с. Поперечное, дол. р. Белая Уба, 1300 м над ур. м., прибрежный галечник, 19 VII 1976, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: хр. Калбинский (оз. Сибинские, окраины болот, высокотравные луга, 1 VIII 1970, Котухов Ю.).

Секция 3. *Pseudophragmites* Tzvel. 1965, l.c. :38. – *Calamagrostis* sect. *Epigeios* Koch, 1837, l.c. 785, excl. typo; Рожев. 1934, цит. сог. :194.

Calamagrostis epigeios (L.) Roth 1788, Tent. Fl. Germ. 2,1:34; Крылов 1928, Фл. Зап. Сиб. 2:224; Гамаюнова 1956, Фл. Казах. 1:182; Рожевиц 1934, во Фл. СССР 2:194; Цвелев 1968, Раст. Центр. Азии :1968; Ковалевская 1968, Опр. раст. Сред. Азии 1:99; Иванова 1990, Фл. Сиб. 2:97; Абдулина 1999, Сп. сосуд. раст. Казах. :128; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции :490. – *Arundo epigeios* L. 1753, Sp. Pl. :81. – Вейник наземный.

Луга, леса, долины рек, опушки, пойменные и степные луга. Часто на всей территории региона. Евразийский, мезоксерофит.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (окр. с. Берель, дол. р. Белая Берель, приречный галечник, 25 VIII 1970, Котухов Ю.; окр. с. Арчаты, перевал Кок-Тобе, остепненные луговины, 9 IX 1970, Котухов Ю.).

Южный Алтай: хр. Сарымсақты (окр. с. Чингистай, сев.-зап. склон, дол. р. Коктерек, остепненные луга, реже кустарниковые сообщества, 3 VIII 1968, Котухов Ю.; окр. с. Березовка, парковый лиственный лес, 31 VII 1970, Котухов Ю.; близ с. Катон-Карагай, 1600 м над ур. м., каменистый юго-вост. склон, 10 VIII 1976, Котухов Ю.; дол. р. Маймыр, окр. с. Солдатово, 860 м над ур. м., приречный галечник, 8 VIII 1977, Котухов Ю.; сев.-зап. подножье, дол. р. Топкаин, галечник, 18 VII 1984, Котухов Ю.); хр. Нарымский (дол. р. Нарым, близ с. Большенарымское, луговые степи, 26 VI 1960, Ролдугин И.; юго-зап. с. Катон-Карагай, кустарниковые насаждения, 11 IX 1970, Котухов Ю.; ур. Теректы, юго-восточнее с. Новоберезовка, кедрово-кустарниковые сообщества, 30 VII 1976, Котухов Ю.; ур. Тесек, остепненные луга, 20 VII 1984, Котухов Ю.; окр. с. Чердак, за-

ливной луг, осинник, заросли кустарника, 15 V 1986, Иващенко А.; окр. с. Чердак, каменистая степь, 15 VII 1986, Бидуллаева М.); хр. Южный Алтай (ур. Прониha, берег р. Бухтарма, 1300-1400 м над ур. м., опушка леса, 27 VII 1987, Исаев Е.); хр. Южноалтайский Тарбагатай (около с. Арчаты, березово-еловый лес, 20 VIII 1986, Иващенко А.; окр. с. Арчаты, левобережье р. Бухтарма, 1250 м над ур. м., береговой галечник, березово-еловый лес, 23 VII 1987, Иващенко А.); хр. Курчумский (юго-вост. предгорье, с. Приозерное, размытые глинистые обнажения, 24 VI 1976, Котухов Ю.; около с. Акчий, сырые глинистые обнажения, 20 VII 1984, Котухов Ю.; дол. р. Калжир, 700-750 м над ур. м., 1 VI 1986, Иващенко А.; оз. Маркаколь, дол. р. Тихушка, разнотравный луг, 17 VIII 1986, Иващенко А.; оз. Маркаколь, окр. с. Еловка, юго-вост. сухой склон, кустарник, 18 VIII 1986, Иващенко А.); хр. Азутау (ур. Байпак-Булак, сухие остепненные луга, 31 VII 1983, Котухов Ю.).

Западный Алтай: хр. Убинский (дол. р. Журавлиха, остепненный луг, 11 VIII 1935, Ермаков П.; южный каменистый склон, р. Журавлиха, 27 VIII 1947, Поляков П.; окр. г. Риддер, южный склон, 31 VIII 1947, Поляков П.; дол. р. Малая Журавлиха, в районе пос. Крольчатник, пихтач, сырые луговины, 10 VII 1976, Котухов Ю.; дол. р. Журавлиха, окр. пос. Крольчатник, прибрежный галечник, 10 VIII 1977, Котухов Ю.); хр. Ивановский (Риддерский бор, опушка, 18 VII 1933, Евсеенко В.; юго-зап. остепненный склон г. Матренин Соколок, 13 VIII 1935, Ермаков П.; окр. г. Риддер, дол. р. Громатуха, 24 VII 1947, Поляков П.; сев.-зап. предгорье, г. Крестовая, остепненные луговины, 24 VIII 1961, Скопина И.; сев.-зап. подножье, дол. р. Белая Уба, елово-березовый лес, 25 VIII 1970, Котухов Ю.; сев.-зап. предгорье, дол. р. Быструха, приречный галечник, 13 VIII 1970, Котухов Ю.); хр. Ульбинский (окр. с. Октябрьское, сев.-вост. склон г. Лохматуха, кустарники, 26 VI 1968, Котухов Ю.; окр. с. Горная Ульбинка, кустарниковые насаждения, 1 VII 1970, Котухов Ю.; окр. Ульбинского водохранилища, сев.-зап. склон, г. Золотая Шишка, 24 IX 1942, Домбровский В.; окр. с. Северное, дол. р. Ульба, приречный галечник, 25 VII 1976, Котухов Ю. окр. с. Октябрьское, прибрежная зона «Алтайская бухта», 7 VIII 1977, Котухов Ю.); хр. Линейский (дол. р. Белая Уба, 1300 м над ур. м., прибрежный галечник, 19 VII 1976, Котухов Ю.; хр. Листвяга (дол. р. Бухтарма, пойменный березово-еловый лес, 10 VIII 1978, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: хр. Калбинский (Сибирская впадина, окраина болота, разнотравные луга, 17 VIII 1970, Котухов Ю.; окр. с. Скалистое, степь, опушка зарослей кустарника, 13 VIII 1971, Котухов Ю.; окр. оз. Сибирские, зап. скалистый склон, поросший кустарником, 14 VIII 1971, Котухов Ю.; в районе Казнаковской паромной переправы, выровненные пески, 20 VIII 1971, Котухов Ю.; окр. с. Ленинка, остепненная кустарниковая степь, 28 VIII 1970, Котухов Ю.; пойма р. Шульбинка, в районе с. Пролетарка, прибрежный галечник, 9 VII 1983, Аралбаев Н.; окр. с. Стеглянка, пойма р. Иртыш, 10 VII 1983, Котухов Ю.; окр. с. Белокаменка, дол. р. Иртыш, тополевая роща, 11 VII 1983, Аралбаев Н.; окр. с. Карповка, дол. р. Чар, прибрежный галечник, 12 VII 1983, Аралбаев Н.).

Зайсанская впадина: Южное Призайсанье (Казнаковские пески, окр. оз. Шыбындыкуль, понижения между барханами, 17 VIII 1971, Котухов Ю.); Северное Призайсанье (г. Ашутас, сев.-зап. склон, кустарник, 22 VI 1976, Котухов Ю.; окр. с. Ордынка, дол. р. Калжир, закустаренный галечник, 22 VI 1976, Котухов Ю.); Восточное Призайсанье (в районе г. Киинкериш, опустыненная степь, 24 VI 1976, Котухов Ю.; г. Карабирюк, сев.-зап. подножье, остепненные луговины, 28 VII 1984, Котухов Ю.); пески Айгыркум (в районе с. Даирово, 21 VII 1984, Котухов Ю.), Прииртышские пески (в районе с. Буран, 21 VI 1971, Котухов Ю.).

Сауро-Манрак: хр. Манрак (ур. Тайжуген, промоины, кустарник, 1 VIII 1984, Котухов Ю.).

Calamagrostis glomerata Boiss. et Buhse 1860, Nouv. Mem. Soc. Nat. Moscou 12:229; Голоскоков 1984, Фл. Джунг. Алат. :33. – *Calamagrostis epigeios subsp. glomerata* (Boiss. et Buhse) Tzvel. 1965, 1:41. – Вейник скученноколосковый.

Остепненные луга, степи, кустарники, разреженные леса, приречные галечники. Изредка. Палеарктический, мезоксерофит.

Калбинский Алтай: хр. Калбинский (горы Коктау; окр. с. Тоганас, опустыненная степь, 21 VIII 2018, Котухов Ю.); Западная Калба (окр. с. Ауезов, щербнистая степь, 20 VII 2013, Котухов Ю.).

Сауро-Манрак: хр. Манрак (ур. Кемпир-Булак, кустарниковая степь, 16 VII 1986, Котухов Ю.).

Calamagrostis macrolepis Litv. 1921 в Бот. мат., (Ленинград) 2:125; Цвелев 1968, Раст. Центр. Азии :4:30; Ковалевская 1968, Опр. раст. Сред. Азии 1:100; Голоскоков 1984, Фл. Джунг. Алат. :33; Иванова 1990, Фл. Сиб. 1:99; Абду-

лина 1999, Сп. сосуд. раст. Казах. :128. – *Calamagrostis epigeios subsp. macrolepis* (Litv.) Tzvel., 1974, 1: 154. – Вейник крупночешуйный.

Приречные пески, галечники, до среднего горного пояса. Изредка. Палеарктический, мезогигрофит.

Южный Алтай: хр. Азутау (ур. Байпак-Булак, сырые луга, 31 VII 1983, Котухов Ю.); хр. Курчумский (в районе с. Ак-Чий, сырые глинистые участки, 20 VII 1984, Котухов Ю.).

Западный Алтай: хр. Убинский (дол. р. Журавлиха, заросли ив, 18 VIII 1961, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: хр. Калбинский (Чарский район, окр. с. Карповка, дол. р. Чар, галечник, 12 VII 1983, Аралбаев Н.).

Зайсанская впадина: Западное Призайсанье (опустыненная степь в районе г. Ашутас, 22 VI 1976, Котухов Ю.; опустыненная степь в районе г. Киин-Кериш, 24 VI 1976, Котухов Ю.; в районе с. Кара-Чилик, выровненные пески, 3 VIII 1983, Аралбаев Н.); Южное Призайсанье (Казнаковские пески, в районе Казнаковской переправы, по берегам стариц, 20 VIII 1971, Котухов Ю.); Черноиртышские пески, близ с. Буран, 21 VI 1976, Котухов Ю.; окр. с. Белая Школа, пески, 17 VII 1983, Аралбаев.

Сауро-Манрак: хр. Манрак (ур. Тайжуген, промоина, среди кустарника, 2 VIII 1984, Котухов Ю.).

Calamagrostis pseudophragmites (Hall. fil.) Koel. 1802, Descr. Gram. :106; Крылов 1928, Фл. Зап. Сиб. 2:226; Рожевиц 1934, Фл. СССР 2:196; Гамаюнова 1956, Фл. Казах. 1:184; Цвелев 1968, Раст. Центр. Азии 4:33; Ковалевская 1968, Опр. раст. Сред. Азии 1:100; Абдулина 1999, Сп. сосуд. раст. Казах. :128; Эбель 2012, Кон. фл. сев.-зап. ч. Алт.-Саян. провинции :491. – Вейник ложнотростниковый.

Каменистые склоны, берега рек, остепненные луга, прибрежные галечники, каменистые кустарниковые склоны, реже окраины осыпей в нижнем и среднем горных поясах. Часто. Палеарктический, мезогигрофит.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (окр. с. Жамбул, дол. р. Бухтарма, прибрежные пески, 23 VII 1969, Котухов Ю.; окр. с. Берель, дол. р. Белая Берель, по галечникам, 25 VIII 1970, Котухов Ю.; окр. с. Берель, дол. р. Бухтарма, прибрежные пески, 27 VIII 1970, Котухов Ю.; окр. с. Берель, дол. р. Белая Берель, прибрежный галечник, 25 IX 1974, Котухов Ю.).

Южный Алтай: хр. Курчумский (окр. с. Жамбул, дол. р. Бухтарма, прибрежные пески, 23 VII 1969, Котухов Ю.; окр. с. Курчум, сырые луго-

вины, 26 VI 1972, Котухов Ю.; дол. р. Курчум, галечниковые лужайки, 25 VI 1976, Котухов Ю.); хр. Южноалтайский Тарбагатай (в районе с. Берель, елово-березовый лес, 15 VIII 1976, Котухов Ю.; Каракабинская впадина (вост. окраина), 2000 м над ур. м., зарастающие морены, 26 VII 1988, Котухов Ю.); хр. Азутау (в районе с. Черняевка, дол. р. Калжир, опушка тополевого леса, среди кустарника, 23 VI 1976, Котухов Ю.; район с. Николаевка, дол. р. Бастеректы, 13 VI 1978, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: хр. Калбинский (юго-вост. предгорье, в районе с. Ново-Песчанка, прибрежная зона Бухтарминского водохранилища, 20 VII 1983, Котухов Ю.)

Зайсанская впадина: Западное Призайсанье (окр. г. Зайсан, дол. р. Уйдене, по галечникам, 1 VI 1973, Котухов Ю.; дол. р. Кендерлык, юго-вост. с. Кендерлык, приречный галечник, 14 VI 1976, Котухов Ю.; сев.-зап. с. Карачилик, засоленные сырые лужайки, 21 VI 1976, Котухов Ю.; пески Айгыркум, в районе с. Даирово, понижения, сырые лужайки, 21 VI 1976, Котухов Ю.); Северное Призайсанье (окр. с. Черняевка, степь, берега арыков, 23 VI 1976, Котухов Ю.; в районе с. Черняевка, опустынная предгорная степь, у арыков; 23 VI 1976, Котухов Ю.);

хр. Ю.; в районе с. Новопесчанка, прибрежная зона водохранилища, выровненные пески, 20 VII 1983, Котухов Ю.).

Сауро-Манрак: хр. Саур (в районе зимовки Караунгыр, берег ключа, 9 VIII 1986, Котухов Ю.).

Calamagrostis turkestanica Hack. 1906, Тр. Петерб. бот. сада, 26:59; Рожевиц 1934.:202; Цвелев 1968, Раст. Центр. Азии 4:92. – Вейник туркестанский.

Лужайки, речные галечники, каменистые склоны. Изредка. Среднеазиатский, мезофит.

Калбинский Алтай: горы Коктау (ур. Талды, каменистые остепненные лужайки, 27 VIII 2018, Котухов Ю.); Сибирская впадина, каменистый склон, верхний пояс гор, 27 VIII 2018, Котухов Ю.); дол. р. Байчи, 780 м над ур. м., щебнистый склон, 27 VIII 2018, Котухов Ю.).

Эта статья является продолжением цикла публикаций по семейству Злаки (Poaceae Barnhart) Казахстанского Алтая, Приалтайских хребтов и Зайсанской впадины (Котухов, 2013:3, Котухов, Ануфриева, 2016:43, Котухов и др., 2018:4) и выполнена в рамках грантового проекта № АР05133050 «Изучение флоры гор Коктау как потенциального объекта сохранения биологического разнообразия Калбинского нагорья».

Литература

- 1 Абдулина С.А. Список сосудистых растений Казахстана. – 1998. – 187 с. ISBN 9965-01-182-3.
- 2 Артемов И.А. Высшие сосудистые растения // Флора и растительность Катунского заповедника. – 2001. – С. 142-205.
- 3 Байтулин И.О., Котухов Ю.А., Сеницына В.Г., Иващенко А.А. Флора хребта Азутау // Флора Восточного Казахстана. – 1991. – С. 24-194.
- 4 Baker A.J.M., Brooks R.R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements a review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery. 1989. №1. P. 81-126.
- 5 Быков Б.А. Геоботаника. – Алма-Ата: Изд-во АН Каз. ССР, 1957. – 381 с.
- 6 Гамаюнова А.П. Род *Calamagrostis* Adans. // Флора Казахстана. – 1956. – Т.1. – С. 181-188.
- 7 Голоскоков В.П. Флора Джунгарского Алатау. – Алма-Ата: Наука, 1984. – 200 с.
- 8 Грубов В.И. Определитель сосудистых растений Монголии. – Наука, 1982. – 441 с.
- 9 Elvebakken A., Nilsen L. *Calamagrostis purpurascens* at wijdefjorden, svalbard – the only European localities of the species // *Blyttia*. 2016. Т. 74. № 4. С. 259-266.
- 10 Иващенко А.А., Котухов Ю.А., Утеков К. И. Флора лесного пояса Чиндагатайского горного массива // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. – 2013. Вып. 19. – С. 99-113.
- 11 Камелин Р.В. Флора Сыратау. – Наука, 1990. – 146 с. ISBN 5-02-026548-9.
- 12 Ковалевская С.С. Определитель растений Средней Азии. – Ташкент: Изд-во «Фан», 1968. – Т.1. – С. 98-104.
- 13 Котухов Ю.А., Ануфриева О.А. Житняк тарбагатайский (*Agropyron tarbagataicum* N. Plotnicov) – редкий вид флоры Казахстанского Алтая // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. – Барнаул, 2016. – С. 43-58.
- 14 Котухов Ю.А. Конспект ковылей (*Stipa* L.) и ковыльчиков (*Ptilagrostis* Griseb.) Восточного Казахстана (Казахстанский Алтай, Зайсанская котловина и Приалтайские хребты) // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. – Кемерово, 2013. – С. 3-14.
- 15 Котухов Ю.А. Список сосудистых растений Казахстанского Алтая // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. – 2005. Вып. 11. – С. 11-83.
- 16 Котухов Ю.А., Данилова А.Н., Ануфриева О.А. Конспект видов рода *Poa* L. (сем. Poaceae Barnhart) Казахстанского Алтая, Сауро-Манрака и Зайсанской котловины // Вестник. Серия биологическая. – 2018–№2 (75). – С. 4-18.

- 17 Kramarova E., Klems M., Klejdus B., Vesela D. Response of *Calamagrostis arundinacea* and *C. epigeios* to short- and long-term water stress // *Biologia Plantarum*, 1999. Т. 42. № 1. С. 129-131.
- 18 Крылов П.Н. Флора Западной Сибири. Томск: Изд-ние Томского отделения Русского Ботанического Общества. – 1928. – Т. 1-3. – С. 210-226.
- 19 Hogg E.H., Lieffers V.J. The impact of *Calamagrostis canadensis* on soil thermal regimes after logging in northern Alberta // *Canadian Journal of Forest Research*. – 1991. №21.-P. 382-394.
- 20 Paszko B., Chen W.-L., Liu B. *Calamagrostis altaica*, a neglected species of the Chinese flora with notes on *C. Korotkyi* (Poaceae, agrostoidinae) // *Phytotaxa*. 2016. Т. 286. № 4. С. 256-266.
- 21 Ревушкин А.С. Высокогорная флора Алтая. – Томск: Изд-во Том.ун-та, 1988. – 320 с.
- 22 Rebele F., Lehmann C. Biological flora of Central Europe: *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth // *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 2001. Т. 196. № 5. С. 325-344.
- 23 Рожевиц А.Ю. Род *Calamagrostis* Adans. // *Флора СССР*. – Т. 2. – С. 189-231.
- 24 Сергиевская Л.П. Флора Западной Сибири. 1961. – Т. XII (Часть 1). – С. 3094-3096.
- 25 Closer V., Closer J. Nitrogen and base cation uptake in seedlings of *Acer pseudoplatanus* and *Calamagrostis villosa* exposed to an acidified environment // *Plant and Soil*. – 2000. – Vol. 226. – P. 71-77.
- 26 Crackles F.E. *Calamagrostis stricta* (Timm) Koeler, *C. canescens* (Wigg.) Roth and their hybrid in S. Yorks., v.c. 61, northern England. // *Watsonia*. – 1994 – Vol. 20. – № 1. — P. 51-60.
- 27 Соколов А.А. о Рельефе Восточного Казахстана // *Почвы, удобрения и урожаи в условиях Восточного Казахстана*. – Алма-Ата, 1974. – Т. 3. – С. 5-57.
- 28 Тахтаджан А.Л. Флористические области Земли. – Л.: Наука, 1978. – 248 с.
- 29 Флора Казахстана. – Алма-Ата: Изд-во АН Каз. ССР, 1957. – 381.
- 30 Флора Сибири. – Новосибирск, 1990. – Т. 2. – С. 92-103.
- 31 Цвелев Н.Н. Злаки СССР. – Л.: Наука, 1976. – 738 с.
- 32 Цвелев Н.Н. Род *Calamagrostis* Adans // *Растения Центральной Азии*. – Л.: Наука., 1968. – Вып. 4. – С. 78-92.
- 33 Эбель А.Л. Конспект флоры Северо-западной части Алтае-Саянской провинции. – 2012. – 566 с.

References

- 1 Abdulina S.A. (1998) Spisok sosudistyxh rastenii Kazakhstana [List of vascular plants of Kazakhstan]. Steka.- 187 p. ISBN 9965-01-189-3
- 2 Artemov I.A. (2001) Vysshie sosudistye rasteniia [Flora and vegetation of the Katun reserve]. *Flora i rastitel'nost' Katunskogo zapovednika*, pp. 142-205, ISBN 5-9340-028-5
- 3 Baker A.J.M., Brooks R.R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*. 1989. №1. P. 81-126.
- 4 Baitulin I.O., Kotukhov Iu.A., Sinitsyna V.G., Ivashchenko A.A. (1991) Flora khr. Azutau [Flora mountain range Azutau] *Flora Vostochnogo Kazakhstana*, pp.24-194.
- 5 Bykov B.A. (1957) *Geobotanika* [Geobotany] Izd-vo AN KazSSR, 381 p.
- 6 Closer V., Closer J. Nitrogen and base cation uptake in seedlings of *Acer pseudoplatanus* and *Calamagrostis villosa* exposed to an acidified environment // *Plant and Soil*. – 2000. – Vol. 226. – P. 71-77.
- 7 Crackles F.E. *Calamagrostis stricta* (Timm) Koeler, *C. canescens* (Wigg.) Roth and their hybrid in S. Yorks., v.c. 61, northern England. // *Watsonia*. – 1994 – Vol. 20. – № 1. — P. 51-60.
- 8 Ebel A.L. (2012) Konspekt flory severo-zapadnoi chasti Altae-Saianskoi provintsii [Abstract of flora of a northwest part of the province Altai-Sayansk] *KREOO «Irbis»*, 566 p.
- 9 Elvebakken A., Nilsen L. *Calamagrostis purpurascens* at wijdefjorden, svalbard – the only European localities of the species // *Blyttia*. 2016. Т. 74. № 4. С. 259-266
- 10 *Flora Kazakhstana* (1956) [Flora of Kazakhstan] Isda-vo AN SSR, v.1, 381p.
- 11 *Flora Sibiri* (1990) [Flora of Siberia]. Nauka, v. 2., pp. 92-103.
- 12 Gamaunova A.P. (1956) Rod *Calamagrostis* Adans. [Genus *Calamagrostis* Adans.]. *Flora Kazakhstana*, v 1, pp.181-188.
- 13 Goloskokov V.P. (1984) *Flora Dzhungarskogo Alatau* [Flora of the Dzungarian Ala Tau]. Nauka,- 200 p.
- 14 Grubov V.I. (1982) *Opredelitel' sosudistyxh rastenii Mongolii* [Determinant of vascular plants of Mongolia]. Nauka, 441p.
- 15 Hogg E.H., Lieffers V.J. The impact of *Calamagrostis canadensis* on soil thermal regimes after logging in northern Alberta // *Canadian Journal of Forest Research*. – 1991. №21.-P. 382-394.
- 16 Ivashchenko A.A., Kotukhov Iu.A., Utekov K.I. (2013) *Flora lesnogo poiasa Chindogatuiskogo gornogo massiva* [Flora of a forest belt of the Chindogatuisky massif] *Botanicheskie issledovaniia Sibiri i Kazakhstana*, v. 19, pp. 99-113.
- 17 Kamelin R.V. (1990) *Flora Syratau*. [Flora of the Syratau]. Nauka, 146 p, ISBN 5-02-026548-9
- 18 Kotukhov Iu. A., Danilov A.N., Anufriyeva O.A. (2018) Konspekt vidov roda *Poa* L. (sem. Poaceae Barnhart) Kasakstanskogo Altaia, Sauro-Manraka i Saissaskoi kotloviny [Abstract of types of the sort *Poa* L. (this. Poaceae Barnhart) the Kazakhstan Altai, Sauro-Manrak and Zaysan hollow] *Vestnik*, v. 2 (75). – pp. 4-18.
- 19 Kotukhov Iu. A. (2005) Spisok sosudistyxh rastenii Kazakhstanskogo Altaia [List of vascular plants of the Kazakhstan] *Botanicheskie issledovaniia Sibiri i Kazakhstana*, v. 11, pp.11-83.
- 20 Kotukhov Iu. A. (2013) Konspekt kovylei (*Stipa* L.) i kovyl'ochkov (*Ptilagrostis* Griseb.) Vostochnogo Kazakhstana (Kazakhstanskii Altai, Saissanskaia kotlovina i Prialtaiskie hrebty) [Abstract of a feather grass (*Stipa* L.) and kovylechok (*Ptilagrostis*

Griseb.) East Kazakhstan (The Kazakhstan Altai, Zaysan hollow and Prialtaysky ridges] *Botanicheskie issledovaniia Sibiri i Kazakhstana*, v. 11, pp.3-14.

21 Kotukhov Yu. A., Anufriyeva O.A. (2016) *Shitniak tarbagataiskii (Agropyron tarbagataicum N. Plotnicov) – redkii vid flory Kazachstanskogo Altaia [Zhitnyak Tarbagatai (Agropyron tarbagataicum N. Plotnicov) – a rare species of flora of the Kazakhstan Altai] Botanicheskie issledovaniia Sibiri i Kazakhstana*, v. 11, pp.43-58.

22 Kovalevskaya S.S.(1968) *Opredelitel' rastenii Srednei Asii [Determinant of plants of Central Asia]. Fanns*, v.1, pp. 98-104.

23 Kramarova E., Klems M., Klejdus B., Vesela D. Response of *Calamagrostis arundinacea* and *C. epigeios* to short- and long-term water stress // *Biologia Plantarum*. 1999. T. 42. № 1. C. 129-131.

24 Paszko B., Chen W.-L., Liu B. *Calamagrostis altaica*, a neglected species of the Chinese flora with notes on *C. korotkyi* (Poaceae, Agrostidinae) // *Phytotaxa*. 2016. T. 286. № 4. C. 256-266.

25 Rebele F., Lehmann C. Biological flora of Central Europe: *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth // *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 2001. T. 196. № 5. C. 325-344

26 Revushkin A.S. (1988) *Vysokogornaia flora Altaia [Mountain flora of Altai] Izd-vo Tomskogo univ-ta*, 320 p.

27 Rozhevits A.Yu. (1934) *Rod Calamagrostis Adans. [Genus Calamagrostis Adans.] Flora SSSR*, v.2, pp. 180-234.

28 Sergievskaya L.P. (1961) *Flora Zapadnoi Sibiri. [Flora of Western Siberia.] V. XII, pp. 3094-3096.*

29 Sokolov A.A. (1974) *O rel'efe Vostochnogo Kazakhstana [About a relief of East Kazakhstan] Pochvy, udobreniia i urozhai v usloviakh Vostochnogo Kazakhstana*, pp. 5-57.

30 Takhtadzhian A.L. (1978) *Floristicheskie oblasti Zemli [Floristic areas of Earth]. Nauka*, 248p.

31 Tselev N.N.(1976) *Zlaki SSSR.[Cereals of the USSR]. Nauka*, 738 p.

32 Tselev N.N. (1968) *Rod Calamagrostis Adans. [Genus Calamagrostis Adans] Rasteniia Tsentral'noi Azii. Nauka*, v 4, pp.130-146.

Касимбекова М.Д., Калиева А.Н.

Қазақ ұлттық қыздар педагогикалық университеті,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: k.m.dauletbekovna@gmail.com

ЖИДЕЛЕР ТҰҚЫМДАСЫ (*ELAEAGNACEAE*) ЖЕМІСІНДЕГІ НАТРИЙ МЕН КАЛИЙ МӨЛШЕРІН АТОМДЫ-АБСОРБЦИЯЛЫҚ СПЕКТРОМЕТРИЯ ӘДІСІМЕН АНЫҚТАУ

Мақалада жиделер тұқымдасына (*Elaeagnaceae*) жататын дәрілік өсімдіктердің жемісіндегі натрий мен калий мөлшерін атомды-абсорбциялық спектрометрия әдісімен анықтау жолы қарастырылған. Калий мен натрий тірі организмдердің бойындағы алмастырылмайтын макроэлементтер қатарына жатады, олар метобализмге қатысып, аса маңызды функцияларды атқаратыны бізге мәлім, сондықтан жиделер тұқымдасына жататын дәрілік өсімдіктердің бойында осы элементтердің бар жоғы анықталған болатын. Зерттеу объектісі ретінде жиделер тұқымдасының үш популяциясы жиналып алынды: Алматы облысы Қарасай ауданынан, Кеген ауданынан жиналып алынған дәрілік өсімдіктің түрлері, Итшомырт шырғанаққа (*Hippophaë rhamnoides*), Үшкіржеміс жидеге (*Elaeagnus oxycarpa*) ботаникалық сипаттама берілді. Тәжірибе барысында жиделер тұқымдасы құрамындағы зерттелетін элемент белгілі стандартты ерітіндімен салыстыра отырып калибрлік график көмегімен орындалды. Әдетте, тәжірибеге алдын ала үш салыстырмалы ерітінді және бақылау ерітіндісі дайындалады, алайды жұмыс барысында алты ерітінді дайындалды. Стандартты калий мен натрий ерітінділері (100 мкг/мл) ГСО 7474-98 бойынша, иондалған сүмен араластыру арқылы жасалынды. Алынған нәтижелер бойынша, жиделер тұқымдасының түрлерінің жемісінің құрамында аталған макроэлементтердің жоғарғы концентрациясы анықталды. Дүние жүзілік денсаулық сақтау ұйымы өсімдіктерден алынған дәрі-дәрмектерге өте үлкен мән береді. Сол себепті қазіргі таңда дәрілік өсімдіктердің шипалық қасиеттерін зерттеудің мағызы зор. Бұл жұмыста жиделер тұқымдасына (*Elaeagnaceae*) жататын түрлердің жемістерінің бағалы дәрілік шикізат ретінде дәстүрлі және халықтық медицинада түрлі мақсатта пайдалану жолдары мен өсімдіктерді жинау ережелері көрсетілді.

Түйін сөздер: *Elaeagnaceae*, *Hippophae rhamnoides*, *Elaeagnus oxycarpa*, дәрілік өсімдіктер.

Kassimbekova M.D., Kaliyeva A.N.

Kazakh National Women's Teacher Training University,
Kazakhstan, Almaty, e-mail: k.m.dauletbekovna@gmail.com

Determination of Sodium and Potassium in the fruit of family *Elaeagnaceae* by Atomic Absorption Spectrometry

On this article describes method determination of sodium and potassium in fruit of medicinal plants family *Elaeagnaceae* by atomic absorption spectrometry. According to their content in living organisms, potassium and sodium are indispensable macronutrient, they are actively involved in metabolism, therefore these elements were identified from the species medicinal plants of the family *Elaeagnaceae*. As the objects of the study we collected three populations of the family *Elaeagnaceae*, they are *Hippophae rhamnoides* and *Elaeagnus oxycarpa*, they were collected in the Almaty region, Karasai district and Khen-gen district. During the experiment was performed the calibration schedule by comparing the elements of study in the fruit of family *Elaeagnaceae* with a standard solution. Usually prepared three comparative solutions and experimental solution, but during the reaserch work were prepared six solutions. Standard solutions of potassium and sodium (100 $\mu\text{g} / \text{ml}$) were prepared by mixing with ionized water accordëng to GSO 7474-98. In accordance with the results, a high concentration was determined from the fruits of the species *Elaeagnaceae* family. The World Health Organization pays great attention to drugs derived

from medicinal plants. Therefore, nowadays it is important to study the healing properties of medicinal plants. From the fruits of the species belonging to the family Elaeagnaceae, as a valuable medicinal raw material for traditional and national medicine was demonstrated methods of use for various purposes and rules for collection.

Key words: Elaeagnaceae, Hippophae rhamnoides, Elaeagnus oxycarpa, medicinal plants.

Касимбекова М.Д., Калиева А.Н.

Казахский национальный женский педагогический университета,
Казахстан, г. Алматы, e-mail: k.m.dauletbekovna@gmail.com

Определения натрия и калия в ягодах семейство лоховых (*Elaeagnaceae*) методом атомно-абсорбционной спектрометрии

В статье представлен метод определения натрия и калия в ягодах лекарственных растений семейства лоховых (*Elaeagnaceae*) методом атомно-абсорбционной спектрометрии. Калий и натрий по содержанию в живых организмах относятся к незаменимым макроэлементам, они активно участвуют в метаболизме, по этому были определены эти элементы в ягодах лекарственных растений семейства лоховых. В качестве объекта исследования были собраны три популяции семейства лоховых, это облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides*) и лох узколистный (*Elaeagnus oxycarpa*) собранные в Алматинской области, Карасайского района и Кенгенского района, также были описаны ботанические характеристики растений. В ходе эксперимента было выполнено калибровочный график путем сравнения исследуемого элемента в ягодах семейства лоховых с стандартным раствором. Обычно готовятся три сравнительных раствора и экспериментальный раствор заранее, но во время исследования было приготовлено шесть растворов. Стандартные растворы калия и натрия (100 мкг / мл) готовили путем смешивания с ионизированной водой в соответствии с ГСО 7474-98. В соответствии с результатами была определена высокая концентрация из ягод видов семейства лоховых. Всемирная организация здравоохранения уделяет большое внимание лекарствам полученных из лекарственных растений. Поэтому в настоящее время важно изучать целебные свойства лекарственных растений. В данной работе из ягод видов, принадлежащих к семейству лоховых (*Elaeagnaceae*) как ценного лекарственного сырья, традиционной и народной медицины были продемонстрированы методы использования в различных целях и правила сбора.

Ключевые слова: *Elaeagnaceae*, *Hippophae rhamnoides*, *Elaeagnus oxycarpa*, лекарственные растения.

Кіріспе

Қазіргі таңда ғылым мен техниканың қарқынды дамуы нәтижесінде фармакологияда көптеген ауруларды емдеу мақсатында жасанды препараттар пайдаланылуда. Дегенмен соңғы жылдары дәрілік өсімдіктерден алынған табиғи препараттар дәстүрлі және халық медицинасында кеңінен пайдалануда [1].

Дүние жүзілік денсаулық сақтау ұйымы өсімдіктерден алынған дәрі-дәрмектерге өте үлкен мән береді. Кейбір Азия мемлекеттерінде, мысалы Қытай, Жапония, Индияда қазіргі заманғы медициналық дәрі-дәрмектермен қатар халық емшілерінің емдерін де қолданып келеді [2]. Соңғы жылдары дамыған елдерде табиғи жолмен алынған дәрілерді кеңінен пайдалана бастады. Мысалы, Жапонияда фармацевтикалық жолмен алынған препараттарды сатып алу 2,6 есе, табиғи жолмен алынған препараттарды сатып алу 5 есе артты [3]. Америка Құрама Штатында дәрігерлер рецепт жазғанда қолданатын дәрінің

25%-ын өсімдік препараттармен толықтырады [4].

Қазақстан дәріханаларында сатылатын қымбат дәрілердің 70-90%-ы шет елдерден әкелінеді. Сондықтан дәрілік өсімдік қорына бай елімізде өсімдік шикізатын алуды ұйымдастыру және кеңірек пайдалану аса тиімді болып саналады [5]. Қазақстанда отандық фармацевтикалық өнеркәсіптің өркендеуі кезеңінде «Республиканың медицина мекемелерін және халқын отандық дәрі-дәрмектік препараттармен қамтамасыз ету үшін фитопрепараттар әзірлеу және өнеркәсіпке енгізу» мақсатындағы бағдарлама барысында дәрілік өсімдіктерді ресурстық, фитохимиялық тұрғыдан зерттеу өте өзекті мәселе болып табылады. Табиғи дәрілік өсімдік қорларын жан-жақты зерттеу, тиімді пайдалану жолдарының ғылыми негізін әзірлеу және оны іске асыру ботаникалық қортанудың негізгі міндеттері және мақсаты болып саналады [6].

Жиделер тұқымдасының (*Elaeagnaceae*) дүние жүзінде 3 туысы және 50-дей түрі кездеседі

[7]. Қазақстан жерінде 2 туысы: шырғанақ және жиде – бұталы немесе ағаш тәрізді болып өсетін, қос жарнақты өсімдік. Шырғанақтың тек бір ғана түрі итшомырт шырғанақ (*Hippophae rhamnoides*), жиденің екі түрі: түрікмен жидесі (*E. turcomanica*) мен үшкіржеміс жидесі (*E. oxycarpa*) кездеседі.

Шырғанақтың жемісі өте бағалы дәрілік шикізат, оның құрамында биологиялық белсенді заттардың көптеген қосылыстары бар. Шырғанақ онкологиялық ауруларды емдеуде, фармацияда, косметологияда кеңінен пайдаланылады, оның биохимиялық құрамы, жемісінің жылдам пісуі, жоғары өнімділігі, экологиялық бейімділігі медицина саласындағы маңыздылығын жыл өткен сайын арттыра түсуде [8]. Дәрілік шикізат ретінде жемісінің құндылығымен, оның құрамындағы биологиялық белсенді заттардың әртүрлілігімен ерекшеленеді [9].

Құрамындағы каротиноидтар (А дәрумені 95%), аскорбин қышқылы (200-1330 мг%), Е дәрумені (330 мг%), В₁ (тиамин 0,016-0,039 мг %), В₂ (рибофлавин 0,030-0,50 мг%), фолий қышқылы (0,06-0,79мг%) мен майлар (4,5-5 %) оның ішіне 77% май қышқылдары кіреді. Қаныққан май қышқылдарынан – миристин (0,3%), пальмитин (26,2%), стеарин (3,2%) бар. Қанықпаған май қышқылдарынан – пальмитин (45,6%), олейн (9,4%), ленолен (10,8%) болады. Флаванойдтар: рутин, кверцетин, кверцетин-7-0-рамнозид, 3-0-метил кверцетин эфирі, изорамнетин-3-0-орутинозид, изорамнетин-3-β-Д-глюкозид, изорамнетин, кемпферол бар. Илік заттар холин (0,03%), бетаин (0,7%); стериндер, фосфолипидтер, пектинді заттар; глюкоза (1,32%), фруктоза (0,71%), сахароза (0,07%); макроэлементтерден (темір, магний, марганец, бор, алюминий, кремний, титан және т.б.) кездеседі [10]. Жемісінен алынған май ашық қызғылт сары түсті ал, сүйекшесінен алынған май сары түсті. Шырғанақ майы ауруды бәсеңдетеді, қабынуларды басады және асқазан ішек жолдары жарасын жазуда, тері ауруларында, гинекологияда жиі қолданылады [11]. Шырғанақтың 100 гр жемісін тұтынған жағдайда, ол ағзаға жарты күнге қажетті С және Р дәруменін сонымен қатар, токоферол қажеттілігін қамтамасыз етеді [12]. Жергілікті халық шырғанақ жемісін қайнатпа, сусын, мармелад т.б. жасауда пайдаланады. Алайда шырғанақты жинау ережелері әрдайым орындалмайды. Жемісті жинау барысында, бұтақтарымен қоса сындырып алу жиі кездеседі, бұл жағдай өсімдікті зақымдайды. Сондықтанда шырғанақты жабайы өсімдік

ретінде емес ауылшаруашылық өсімдігі ретінде өндірістік плантациялар және селекциялау жөнінде қарқынды жұмыстар жасалуы қажет. Ғалымдардың зерттеулері бойынша шырғанақтың химиялық құрамына оның географиялық орны мен жергілікті климат әсер ететіндігі дәлелдеген [13],[14].

Жиде ағашы еліміздің барлық өңірінде өседі, гүлінің жұпар иісі жүз метрге дейін сезіліп тұрады. Гүлінен аралар бал жиналды, жиде балы адам денсаулығына өте пайдалы. Жиде жеміс-жидек тұқымдастарының ішіндегі ең соңында гүлдейтін ағаш. Еліміздің оңтүстік өңірлерінде мамыр мен маусымда, ал солтүстік өңірлерде маусым мен шілде айларында гүлдейді. Жидегі сүйекті, тәтті, құрғақ болады. Дүние жүзінде жиденің 40-қа жуық түрі бар. Жиде – көптеген дертке шипа, гүлінің құрамында эфир майы, жапырағында аскорбин қышқылы болады. Сабағы мен бұтағының құрамында илік және бояу заттары бар. Жидегінде қант, органикалық қышқылдар, ақуыз, көмірсулар, фруктоза, аздап илік заттар мен дәрумендер әсіресе Е дәрумені көп болады. Жидені іштің ауырғанын басу, иммунитетті көтеру, ас қорыту органдарының жұмысын жақсарту үшін пайдаланады. Сонымен қатар, жүрек-қан тамырлары ауруларын жидек жемісімен емдейді. Жиде құрғақшылыққа төзімді, оны құм тоқтатуға, жыра, арық, өзен бойын, қаланы көгалдандыруға пайдаланады. Гүлінен хош иісті май, иіссулар алынады [15].

Минералдызаттарадамақажеттіөтемаңызды компонент болып табылатындығы бізге мәлім. Адам ағзасында аз мөлшерде болғанымен, минералды заттар маңызды функцияларды атқарады. Себебі, адам организміінде гормондармен, витаминдермен және ақуыздармен тығыз байланыста. Олар көптеген физиологиялық процесстерде биологиялық катализатор ретінде бойдың өсуіне, мидың дамуына, сүйектің қалыптасуына, қан айналымына және тыныс алу жолдарына әсер етеді. Микроэлементтердің жетіспеушілігі немесе артық болуы қатерлі ауруларға әкеледі [16].

Калий мен натрий тірі организмдегі маңызды макроэлементтер қатарына жатады. Олар метобализмге қатысады, сонымен қатар натрий клетка сыртындағы сұйықтықтың негізгі катионы міндетін атқарады. Ал калий клеткаішілік сұйықтықтың негізгі катионы болып табылады. Калий мен натрий концентрациясының өзгерісі, физиологиялық процесстердің бұзылуына әкеледі [17]. Өсімдік жемісі құрамындағы натрий

мен калий иондарын анықтауда ферментативті, химиялық, хроматографиялық, электрохимиялық және спектроскопиялық әдістер қолданылады [18],[19].

Соңғы жылдары көптеген ауруларды емдеуде және профилактикалық мақсатта пайдалануда дәрілік өсімдіктерден жасалынған препараттарға көп көңіл бөлінуде. Әртүрлі бағытта қолдануға арналған фито препараттарды өндіру үшін, өсімдік шикізаттарына соның ішінде жиделер тұқымдасына сұраныс күннен күнге артуда. Осы орайда, зерттеу тақырыбы бойынша ізденіс жұмыстары жеткілікті болғанымен де, Жиделер тұқымдасына (*Elaeagnaceae*) ғылыми зерттеулер жүргізу өзекті болып табылады.

Зерттеу жұмысының мақсаты Жиделер тұқымдасына (*Elaeagnaceae*) жататын итшомырт шырғанақ (*E. rhamnoides*), түрікмен жидесі (*E. turcomanica*) мен үшкіржеміс жидесіне (*E. oxycarpa*) морфологиялық сипаттама жасау және жемістерінің құрамындағы натрий және калий мөлшерін анықтай отырып, салыстырмалы талдау жасау.

1-кесте – Микротолқын бағдарламасы

Бағдарлама қадамы	Қуат, Вт	Макс.қуатты орнату уақыты, мин	Қысым, psi	Температура, °C	Макс.қуатта ұстау уақыты, мин
1	400	20	160	210	5

Атомды-абсорбциялық спектрометрия Solar M (Thermo Electron Corporation, USA) атомды будың көмегімен электромагнитті сәуленің сынама элементтерін жұтылуын өлшеу арқылы шырғанақ пен жиденің құрамындағы натрий мен калий концентрациясы анықталды. Бугер-Ламберт-Бер заңына байланысты жұтылған сәуленің көлемі, элемент концентрациясына пропорциональды.

Тәжірибеде құрамындағы зерттелетін элемент белгілі стандартты ерітіндімен салыстырыла отырып калибрлік график көмегімен анықталды. Әдетте, тәжірибеге алдын ала 3 салыстырмалы ерітінді және бақылау ерітіндісі дайындалады, алайда жұмыс барысында 6 ерітінді дайындалды. Стандартты калий мен натрий ерітінділері (100 мкг/мл) ГСО 7474-98 бойынша, иондалған сумен араластыру арқылы жасалынды. Бұл ерітінділер концентрациясының диапазоны бізге қажетті концентрацияға лайықтап дайындалады.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу жұмысының объектісі ретінде итшомырт шырғанақ (*E.rhamnoides*) өсімдігінің жемісі теңіз деңгейінен 850-940 м биіктікте орналасқан Алматы облысы Қарасай ауданы Ақсай өзенінің бойынан және теңіз деңгейінен 1818 м биіктіктегі Алматы облысы, Кеген ауданы Саты ауылының Шелек өзені бойынан жиналып алынды. Үшкіржеміс жиде (*E.oxycarpa*) жемісі, теңіз деңгейінен 850-940 м биіктікте орналасқан Алматы облысы, Қарасай ауданы, Райымбек ауылынан алынды. Өсімдіктердің қазіргі таңдағы нақты атауы The Plant List version 1.1 [20] сайтынан тексерілді.

Зерттеу барысында шырғанақ пен жиде құрамындағы Na мен K жалынды атомизациялы атомды-абсорбциялық спектрометр әдісімен анықталды [21, 22].

Сынамалар микротолқынды сынама дайындағыш MARS-5 (CEM Corp.) жүйесінде дайындалды. Микротолқын бағдарламасы 1-кестеде берілді.

Атомды-абсорбциялық спектрометрді қосып, қажетті толқын ұзындығын туралап келтіреміз, талаптары 2-кестеде келтірілген.

2-кесте – Атомды-абсорбциялық спектрометрия талаптары

Спектрометр параметрлері	
Толқын ұзындығы (нм)	K (766,490); Na (589,592;818,326)
Плазма көрсеткіші	Радиальды
Өлшеу уақыты	15 с
Генератор қуаты	1150 Вт

Атомды бу генераторына бақылау ерітіндісін құйып, тіркегіш құралды ең жоғарғы өткізгіштікке туралау қажет. Нақты нәтижеге жету үшін ерітінділерді бірдей мөлшерде құйып, қайталау қажет.

Зерттеу нәтижелері мен оларды талдау

Итшомырт шырғанақ (*H.rhamnoides*) биіктігі 2-6 м., діңінің жуандығы 25-35 см., қоңыр қабықты кішігірім ағашқа жатады. Тамыр жүйесі жер бетіне жақын жайылып өседі. Бұтақтарының ұш жағы тікенекті, тікенектерінің ұзындығы 2-7 см. Жапырақтарының пішіні таспа, қандауыр тәрізді, кезектесе орналасады, үсті жасыл, астыңғы беті жылтыр, күміс түстес. Гүлдері ұсақ, ақшыл сары түсті, дара жынысты, қос үйлі.

Аталық гүлдері масақ гүлшоғырына топталса, аналық гүлдері бұтақтарының қолтығында жетіледі. Тұқымынан вегетативті көбейеді. Сәуір-мамыр айларында гүлдеп, тамыз-қыркүйекте жеміс береді. Жемісі сары түсті, шырғанды, өзіне тән иісі мен қышқылтым дәмі бар сопақ сүйекше, сырты жылтыр. Жемісі күзде, жапырағы көктемде жиналады. Шырғанақ отырғызылғаннан кейін 3-4 жылда жеміс береді, 25-30 жылдай өсіп өніп, содан кейін қурап қалады. Бір ағаштан 25-30 кг дейін жеміс жинауға болады [23-24].



1-сурет – Итшомырт шырғанақ (*E. rhamnoides*)

Үшкіржеміс жидесі (*E.oxycarpa*). Биіктігі 10 метрге дейін жететін бұталы ағаш. Жапырақтарының үстіңгі беті сұрғылт көк, астыңғы жағы ақшыл, діңі және бұтақтары жылтыр, қызыл-қоңыр түсті. Жапырақтары сопақша келген, ұзындығы 3-8 см, ені 0,4-1,8 см. Гүлі ұсақ, жұпар, хош иісті, қызғылт сары. Жидегі сүйекті, тәтті, құрғақ болады [25].

Зерттеу жұмысының барысында жалынды атомизациялы атомды-абсорбциялық спектрометрия әдісімен жиделер тұқымдасының жемісінің құрамындағы калий мөлшерінің концентрациясы анықталды. Қарасай ауданы Райымбек ауылынан алынған үшкіржеміс жиде (*Elaeagnus oxycarpa*) құрамындағы калийдің концентрациясы 0,125 мкг/мл тең болды.



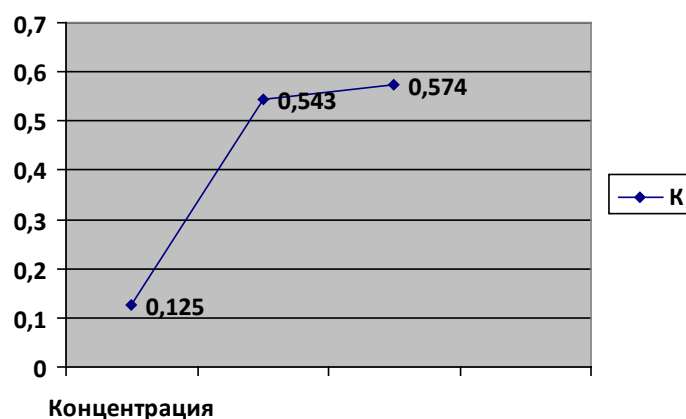
2-сурет – Үшкіржеміс жиде (*Elaeagnus oxycarpa*)

3-кесте – Атомды-абсорбциялық спектрометрия әдісімен анықталған өсімдік жемісіндегі калий мөлшері

Сынама	Концентрация (мкг/мл)	Орташа ауытқу коэф. %	Орташа мәні
Стандарт 1	0,200	2,40	0,0242
Стандарт 2	0,300	1,68	0,0410
Стандарт 3	0,400	1,83	0,0602
Стандарт 4	0,500	0,85	0,0958
Стандарт 5	0,600	0,87	0,1242
Стандарт 6	0,700	1,89	0,1485
<i>E.oxycarpa</i> Қарасай ауд.	0,125	1,64	0,0146
<i>E.rhamnoides</i> Қарасай ауд.	0,543	1,75	0,0994
<i>E.rhamnoides</i> Кеген ауд.	0,574	0,60	0,1097

Алматы облысы Қарасай ауданы Аксай өзенінің бойынан жиналған итшомырт шырғанақ (*Hippophae rhamnoides*) өсімдігі жемісінің құрамындағы калий концентрациясы 0,543 мкг/мл ал, Алматы облысы Кеген ауданы Саты ауылынан алынған жемісте 0,574 мкг/мл көрсеткіштерін көрсетті (3-кесте).

Жоғарыда берілген 3-ші суреттен көріп отырғанымыздай өсімдік жемістерінің құрамындағы калий концентрациясының ең жоғарғы көрсеткішін Алматы облысы Кеген ауданы Саты ауылынан алынған итшомырт шырғанақ (*Hippophae rhamnoides*) өсімдігі көрсетті.



3-сурет – Жиделер тұқымдасы (*Elaeagnaceae*) жемісінің құрамындағы калий мөлшерінің сызбасы

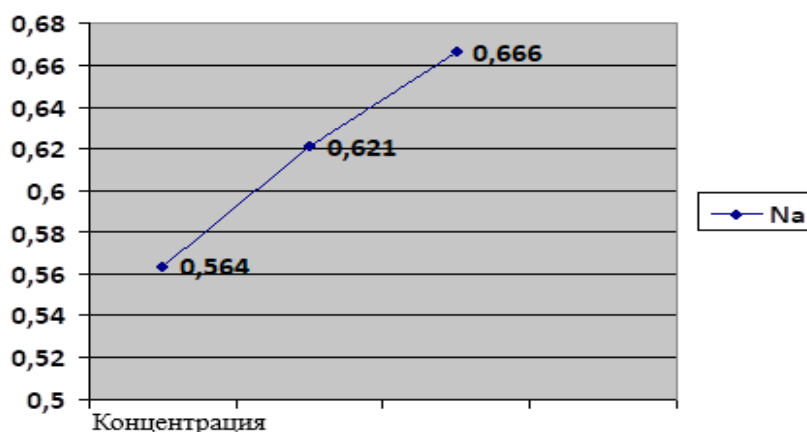
4-кесте – Атомды-абсорбциялық спектрометрия әдісімен анықталған өсімдік жемісіндегі натрий мөлшері

Сынама	Концентрация (мкг/мл)	Орташа ауытқу коэф. %	Орташа мәні
Стандарт 1	0,200	3,43	0,0242
Стандарт 2	0,300	2,23	0,0410
Стандарт 3	0,400	3,22	0,0602
Стандарт 4	0,500	0,75	0,0958
Стандарт 5	0,600	0,26	0,1242
Стандарт 6	0,700	1,46	0,1485
<i>E. oxycarpa</i> Қарасай ауд.	0,666	0,80	0,1465
<i>H. rhamnoides</i> Қарасай ауд.	0,564	1,76	2,8946
<i>H. rhamnoides</i> Кеген ауд.	0,621	0,49	1,2128

Жалынды атомизациялы атомды-абсорбциялық спектрометрия әдісімен жиделер тұқымдасының жемісінің құрамындағы натрий мөлшерінің концентрациясы анықталды. Жоғарыдағы 4-кестеде көрсетілген Қарасай ауданы Райымбек ауылынан алынған үшкіржеміс жиде (*Elaeagnus oxycarpa*) құрамындағы калийдің концентрациясы 0,666 мкг/мл тең болды. Ал, Алматы облысы Қарасай ауданы Ақсай өзенінің бойынан жиналған итшомырт шырғанақ

(*Hippophae rhamnoides*) өсімдігі жемісінің құрамындағы натрий концентрациясы 0,564 мкг/мл ал, Алматы облысы Кеген ауданы Саты ауылынан алынған жемісте 0,621 мкг/мл көрсетті (4-кесте).

4-ші суретте көрсетілгендей Қарасай ауданы Райымбек ауылынан алынған үшкіржеміс жиде (*Elaeagnus oxycarpa*) өсімдігі жемісінің құрамындағы натрий концентрациясының ең жоғарғы көрсеткішімен ерекшеленді.



4-сурет – Жиделер тұқымдасы (*Elaeagnaceae*) жемісінің құрамындағы натрий мөлшері

Қорытынды

Зерттеу жұмысының нәтижесі бойынша Алматы облысында кездесетін Жиделер тұқымдасына (*Elaeagnaceae*) жататын итшомырт шырғанақ (*H. rhamnoides*), пен үшкіржеміс жидесіне (*E. oxycarpa*) морфологиялық сипаттама берілді. Жалынды атомизациялы атомды-абсорбциялық спектрометрия әдісімен анықталған жемістерінің құрамындағы калий мөлшерінің нәтижелері бойынша Алматы облысы, Саты ауылынан алынған итшомырт шырғанақ (*H.rhamnoides*) өсімдігінің жемісі 0,574 мкг/мл болып ең жоғарғы көрсеткішті көрсетті. Ал, Алматы облысы, Қарасай ауданы Райымбек ауылынан алынған үшкіржеміс жидесі (*E.oxycarpa*) 0,125 мкг/мл – төменгі көрсеткішті көрсетті. Бұл көрсеткіштер калий мөлшерінің итшомырт шырғанақта (*H.rhamnoides*) жоғары болатындығының дәлелі. Сонымен қатар, үшкіржеміс жидесі (*E.oxycarpa*) жемістерінің

құрамындағы анықталған натрий мөлшері 0,666 мкг/мл тең болып, басқа түрлермен салыстырғанда жоғары нәтиже көрсетті. Адам ағзасына қажетті бір тәуліктік калий мөлшері 2 гр, ал натрий 4 гр екен. Осы мәліметтерге сүйене шырғанақ пен жиде адам ағзасына өте пайдалы макроэлементтерді құрайтыны дәлелденді.

Мүдделер қақтығысы

Барлық авторлар мақаланың мазмұнымен таныс және мүдделі қақтығыс туғызбады.

Алғыс сөз

Сәрсен Аманжолов атындағы шығыс Қазақстан мемлекеттік университетінің, ұжымдық қолданыстағы ұлттық ғылыми зертханасының, физика-химиялық зерттеулер бөлімінің меңгерушісі PhD Рахадиллов Бауыржан Қорабаевқа және Ақатан Қыдырмолаға алғысымызды білдіреміз.

Әдебиеттер

- 1 Мухитдинов Н.М., Мамурова А.Т. Дәрілік өсімдіктер. // Алматы- 2013. 3-7 б.
- 2 Kaliyeva A.N., Dyuskaliyeva G.U., Newsome A., Zhexembiyev R.K., Medeuova G.D.(2015) Biological features of medicinal plants of Agrimonia L. in South Eastern Kazakhstan: /Modern Applied Science. Published by Canadian Center of Science and Education. 9(5):6370
- 3 Gutzeit D1, Baleanu G, Winterhalter P, Jerz G. (2008). Vitamin C content in sea buckthorn berries (*Hippophaë rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) and related products: a kinetic study on storage stability and the determination of processing effects. J Food Sci. Nov;73(9):C615-20.
- 4 Paweł G, Elga S, Aleksander S, Dalija S. (2014) Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves as valuable source of lipophilic antioxidants: the effect of harvest time, sex, drying and extraction methods. Ind Crop Prod;60:1-e7.
- 5 The State of Pharmacopoeia Commission of P.R. China, 1977. Pharmacopoeia of the People's Republic of China.-1997, Beijing.

- 6 Абай А.А., Әбіл П.А., Қожамжарова Л.С. Жамбыл облысының кейбір дәрілік өсімдік қорларының қазіргі жағдайы мен медицинадағы маңызы. // Тараз- 2017.
- 7 Ф.М. Юнусова, А.Ш. Рамазанов, К.М. Юнусов. Определения содержания биологически активных веществ в плодах облепихи дагестанских популяций химия растительного сырья. -2009. №1. С. 109–111.
- 8 М. Рысұлы, Т.Н. Парманқұлова, А.С. Садвакас, М.Б. Хамзаева, А.К. Курманқожаева, Д.Т. Әзімхан. Жергілікті өсімдіктің ісік ауруында қолдану мүмкіндіктері. // Тараз- 2015.
- 9 Aleksandra Zielińska, Izabela Nowak. Abundance of active ingredients in sea-buckthorn oil. // Lipids Health Dis. – 2017: 16: 95.
- 10 Alam Z, Sana U. Sea buckthorn seed oil protects against the oxidative stress produced by thermally oxidized lipids. // Food Chem;-2015.186:6e12.
- 11 Б.Ө. Жақып. Қазақстан табиғаты. // Қазақ энциклопедиясы.-2013.Т.5, 245-247 б.
- 12 Beata Olas. The beneficial health aspects of sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A.Nelson) oil. // Department of General Biochemistry, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz,-2017. Pomorska 141/3, 90-236 Lodz, Poland.
- 13 Исаев Олег. Особенности выращивания облепихи для получения танинсодержащего сырья.// Автореферат.-1999.
- 14 N. P. Bekker and A. I. Glushenkova. Components of Certain Species of the Elaeagnaceae Family. // Chemistry of Natural Compounds.-2001, Volume 37, Issue 2, pp 97–116.
- 15 Ainagul Ospanova, Ainagul Kaliyeva, Lyailya Anuarova, Aliya Bazargaliyeva, Gulzira Yernazarova, Aliya Ramazanov, Imankul Sekenova. // Mildew of oleaster (*Elaeagnus oxycarpa* Schlecht.) registered in large industrial cities (Pavlodar, Aksu, Ekibastuz) of the Pavlodar region. Volume 25, Issue 3, – 2018, P. 446-451.
- 16 O. N. Tolkachev E. A. Abizov E. V. Abizova S. D. Mal'tsev. Phytochemical study of the bark of some plants of the Elaeagnaceae family as a natural source of β -carboline indole alkaloids. // Pharmaceutical Chemistry Journal. -2008, Volume 42, Issue 11, pp 630–632.
- 17 Koohi-Hosseinabadi O, Ranjbar Z, Sepehrmanesh M, AndisheTadmir A, Poorbaghi SL5, Bahranifard H, Tanideh N, Koohi-Hosseinabadi M, Iraj A. Biochemical, hematological, and pathological related healing effects of *Elaeagnus angustifolia* hydroalcoholic extract in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in male golden hamster. // Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran,-2017.
- 18 Ulf Swenson Igor V. Bartish. Taxonomic synopsis of Hippophae (*Elaeagnaceae*). // Nordic Journal of Botany.-2018.
- 19 Hongfang Wang, Han Liu, Mingbo Yang, Lei Bao and Jianping Ge. Phylogeographic study of Chinese seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis* Rousi) reveals two distinct haplotype groups and multiple microrefugia on the Qinghai-Tibet Plateau. // Ecology and Evolution.-2014. Pp.4370-4379
- 20 Igor Bartish. An Ancient Medicinal Plant at the Crossroads of Modern Horticulture and Genetics: Genetic Resources and Biotechnology of Sea Buckthorn (*Hippophae* L., *Elaeagnaceae*). // The Czech Academy of Sciences.- 2016
- 21 А.Г. Хайрулина, С.В. Темерев. Определение натрия и калия в природных водах методом фотометрии пламени. // Известия Алтайского государственного университета.-2012.
- 22 Н.В. Мазняка, А.П. Верхотурова, В.Н. Лосева*, Т.Н. Замай. Определение натрия и калия в биологических объектах методами атомно-абсорбционной и атомно-эмиссионной спектроскопии. // Journal of Siberian Federal University. Chemistry.-2012
- 23 Stocking C.J., Slater J.M., Unwin R., Walter S., Folklerd E. An automated technique for the simultaneous determination of cations in nanoliter volumes. //Kidney International. – 1999. V. 56. P. 338- 343.
- 24 <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Elaeagnaceae/>
- 25 Васильев В.П. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа, учеб. для студ. вузов, обучающихся по химико-техн. спец. // В.П. Васильев. изд 5-е., стереотип. –2005. С. 383.

References

- 1 Abay A.A., Abil P.A., Kozhamzharova L.S. (2017) The current state of some medicinal plant stocks in Zhambyl region and its significance in medicine. Taraz.
- 2 A.G. Khairulina, S.V. Temerev. (2012) Determination of sodium and potassium in natural waters by flame photometry. // News of Altai State University.
- 3 Ainagul Ospanova, Ainagul Kaliyeva, Lyailya Anuarova, Aliya Bazargaliyeva, Gulzira Yernazarova, Aliya Ramazanov, Imankul Sekenova. (2018) Mildew of oleaster (*Elaeagnus oxycarpa* Schlecht.) registered in large industrial cities (Pavlodar, Aksu, Ekibastuz) of the Pavlodar region. Volume 25, Issue. pp. 446-451.
- 4 Alam Z, Sana U. (2015). Sea buckthorn seed oil protects against the oxidative stress produced by thermally oxidized lipids. Food Chem; 186:6e12.
- 5 Aleksandra Zielińska, Izabela Nowak (2017). Abundance of active ingredients in sea-buckthorn oil. Lipids Health Dis. 2017: 16: 95.
- 6 Beata Olas. The beneficial health aspects of sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A.Nelson) oil. (2017) Department of General Biochemistry, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz. Pomorska 141/3, 90-236 Lodz, Poland.
- 7 В. Жақып. (2013) Kazakhstan Nature's 5 volumes. Kazakh Encyclopedia. Almaty.
- 8 F.M. Yunusova, A.Sh. Ramazanov, K.M. Yunusov. (2009) Determination content of biologically active substances in the fruits of sea-buckthorn Dagestan populations, chemistry of plant materials. №1. pp. 109–111.

- 9 Gutzeit D1, Baleanu G, Winterhalter P, Jerz G. (2008). Vitamin C content in sea buckthorn berries (*Hippophaë rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) and related products: a kinetic study on storage stability and the determination of processing effects. *J Food Sci. Nov*;73(9):C615-20.
- 10 Hongfang Wang, Han Liu, Mingbo Yang, Lei Bao and Jianping Ge. Phylogeographic study of Chinese seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis* Rousi) reveals two distinct haplotype groups and multiple microrefugia on the Qinghai-Tibet Plateau. (2014) *Ecology and Evolution*. pp.4370-4379
- 11 <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Elaeagnaceae/>
- 12 Igor Bartish. (2016) *An Ancient Medicinal Plant of the Modern Horticulture and Genetics: Genetic Resources and Biotechnology of the Sea of Buckthorn (Hippophae L., Elaeagnaceae)*. The Czech Academy of Sciences.
- 13 Kaliyeva A.N., Dyuskaliyeva G.U., Newsome A., Zhexembiyev R.K., Medeuova G.D. (2015) Biological features of medicinal plants of *Agrimonia* L. in South Eastern Kazakhstan: /*Modern Applied Science*. Published by Canadian Center of Science and Education. 9(5):6370
- 14 Koohi-Hosseinabadi O, Ranjbar Z, Sepehrimanesh M, AndisheTadbir A, Poorbaghi SL5, BahraniFard H, Tanideh N, Koohi-Hosseinabadi M, Iraj A. (2017) Biochemical, hematological, and pathological related healing effects of *Elaeagnus angustifolia* hydroalcoholic extract in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in male golden hamster. Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
- 15 M. Rysuli, T.N. Parmankulova, A.S. Sadvakas, M.B. Hamzaeva, A.K. Kurmankozhaeva, D.T. Azimhan. (2015) Opportunity to use local plant cancer. Taraz.
- 16 N.M. Mukhitdinov, A.T. Mamurov. (2013) *Medicinal plants*. Almaty. pp. 3-7
- 17 N.V. Maznyak, A.P. Verkhoturova, V.N. Losev *, T.N. Zamai. (2012) Determination of sodium and potassium in biological objects by atomic absorption and atomic emission spectroscopy. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*.
- 18 N.P. Bekker and A. I. Glushenkova. (2012) Components of Certain Species of the Elaeagnaceae Family. *Chemistry of Natural Compounds*. Volume 37, Issue 2, pp 97–116
- 19 O.N. Tolkachev E. A. Abizov E. V. Abizova S. D. Mal'tsev. (2008) Phytochemical study of the bark of some plants of the Elaeagnaceae family as a natural source of β -carboline indole alkaloids. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. Volume 42, Issue 11, pp 630–632.
- 20 Paweł G, Elga S, Aleksander S, Dalija S. (2014) Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves as valuable source of lipophilic antioxidants: the effect of harvest time, sex, drying and extraction methods. *Ind Crop Prod*;60:1-e7.
- 21 Shishkina E.E. (1978) Biochemical composition of sea buckthorn fruits.
- 22 Stocking C.J., Slater J.M., Unwin R., Walter S., Folked E. (1999) An automated technique for the simultaneous determination of cations in nanoliter volumes. // *Kidney International*. V. 56. pp. 338- 343.
- 23 The State of Pharmacopoeia Commission of P.R. China, (1977) *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*. Beijing.
- 24 Ulf Swenson Igor V. Bartish. (2018) Taxonomic synopsis of *Hippophae* (Elaeagnaceae). *Nordic Journal of Botany*.
- 25 Vasiliev, V.P. *Analytical chemistry*. (2005) *Physico-chemical methods of analysis, studies. for stud. universities, students in chemical technology*. Specialist.V.P. Vasiliev. 5th ed., stereotype.pp. 383.

**Сербаева А.Д., Мухитдинов Н.М., Аметов А.А.,
Абидкулова К.Т., Ыдырыс А.**

әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail:

СИРЕК ЖӘНЕ ЭНДЕМ *ERYSIMUM CROCEUM* M.POP ӨСІМДІГІ ПОПУЛЯЦИЯЛАРЫН ЭКОЛОГО-ФИТОЦЕНОТИКАЛЫҚ БАҒАЛАУ

Бұл мақалада эндем, сирек кездесетін *Erysimum croceum* M.Pop (*E. croceum*) өсімдігінің Іле Алатауының Үлкен Алматы мен Кіші Алматы шатқалының оңтүстік және солтүстік экспозицияларынан және Есік шатқалынан табылған төрт популяциясы зерттеліп, олардың қазіргі кездегі жағдайына экология – фитоценодикалық тұрғыдан баға берілген. *E. croceum* өсімдігінің популяцияларының ең жоғарғы тығыздығы №3 популяцияда ($8,25 \pm 1,2$ дана/м²), ең төменгі №1 популяцияда ($7,3 \pm 0,6$ дана/м²) екендігі анықталды. Топырағына жүргізілген зерттеулер бойынша оның ылғалдылығы орташа (5-14) және топырақ құрамындағы рН мәні 4,03-5,85 болған жерлерде жақсы өсетіндігін көрсетті.

E. croceum өсімдігінің популяцияларын зерттеудің нәтижесінде, олар өзінің шеңберіндегі оптимумда орналасқан және бұл түрдің жойылуына тікелей төніп тұрған қауіптің жоқтығы айқындалған. Дегенмен, *E. croceum* өсімдігі эндем түр болғандықтан, келесі шараларды жүргізу ұсынылған: 1) Іле Алатау Ұлттық табиғи паркі Іле Алатауындағы *E. croceum* өсімдігінің барлық төрт популяцияларының жағдайына бақылау және мониторинг жұмыстарын жүргізіп отыру қажет екендігі; 2) Алматы қаласындағы Ботаника және фитоинтродукция институтына өсімдігін сирек, эндем, дәрілік түр ретінде коллекцияларына енгізу.

Түйін сөздер: популяция, ценопопуляция, өсімдіктердің тіршілік формалары, экологиялық типтері, флористикалық элементтер.

Serbayeva A.D., Mukhitdinov N.M., Ametov A.A., Abidkulova K.T., Ydyrys A.

Al-Farabi Kazakh National University,
Kazakhstan, Almaty, e-mail:

Ecological and phytocoenotical assessment of populations of rare and endemic species *Erysimum croceum* M.Pop

The article presents the results of ecological and phytocenotic characteristics of the rare, endemic plant *E. croceum* M.Pop (*E. croceum*) in the Ili Alatau.

The article presents the results of ecological and phytocenotic characteristics and assessment of the present state of four populations of *E. croceum* M.Pop (*E. croceum*) endemic and rare plants located on the right and left banks of the Small Almaty Gorge, in the Great Almaty Gorge and in the Issyk Gorge. The highest density of *E. croceum* species was noted in the population №3 – $8,25 \pm 1,2$ pcs./m², the smallest in the population №1 – $7,3 \pm 0,6$ pcs./m². The results of the study showed that *E. croceum* grows well where soil moisture is an average of 5 to 14, the level of soil pH is from 4,03 to 5,85.

As a result of the study of the cenopopulations of *E. croceum*, it was revealed that they are located within their optimum, there is no special threat of extinction for this species. Nevertheless, that *E. croceum* is an endemic species, we recommend the following measures: 1) Ili-Alatau National Nature Park should be monitored and monitored continuously for all four *E. croceum* populations in the Ili Alatau; 2) The Institute of Botany and Phytointroduction should be introduced into its collections in the Botanical Garden of Almaty *E. croceum* as an endemic, rare and medicinal species.

Key words: population, cenopopulation, life forms of plants, ecological types, floristic elements.

Сербаева А.Д., Мухитдинов Н.М., Аметов А.А., Абидулова К.Т., Ыдырыс А.

Казахский национальный университет имени аль-Фараби,
Казахстан, г. Алматы, e-mail:

Эколого-фитоценотическая оценка популяций редкого и эндемичного вида *Erysimum croceum* М.Рор

В статье дается эколого-фитоценотическая характеристика и оценка современному состоянию четырех популяций эндемичного и редкого растения *E. croceum* М.Рор (*E. croceum*), расположенных на южной и северной экспозициях Малого Алматинского ущелья, в Большом Алматинском ущелье и в Иссykkском ущелье. Наибольшая плотность растений *E. croceum* отмечается в популяции №3 – $8,25 \pm 1,2$ шт./м², наименьшая в популяции №1 – $7,3 \pm 0,6$ шт./м². Результаты изучения почвы показали, что *E. croceum* хорошо растет там, где влажность почвы составляет в среднем от 5 до 14, уровень рН почвы от 4,03 до 5,85.

В результате исследования популяций *E. croceum* выявлено, что они располагаются в пределах своего оптимума, особой угрозы исчезновения для этого вида здесь нет. Тем не менее, что *E. croceum* является эндемичным видом, поэтому мы рекомендуем проводить следующие меры: 1) Иле-Алатаускому национальному природному парку необходимо держать под контролем и постоянно проводить мониторинг по состоянию всех четырех популяций *E. croceum* в Заилийском Алатау; 2) Институту ботаники и фитоинтродукции необходимо ввести в свои коллекции в ботаническом саду г. Алматы *E. croceum* как эндемичный, редкий и лекарственный вид.

Ключевые слова: популяция, ценопопуляция, жизненные формы растений, экологические типы, флористические элементы.

Кіріспе

Қазіргі таңда биоалуантүрлілікті сақтау мәселесі, әсіресе сирек кездесетін, эндем және жойылып кету қаупі төніп тұрған өсімдіктердің түрлеріне байланысты аса маңызды болып келеді. Кез-келген түрдің жойылуы табиғат үшін зиян және орны толмайтын қайталанбайтын шығындар болып табылады (Борисова, 2015: 64). Сондықтан, сирек кездесетін өсімдік түрлерінің жойылып кетуіне жол бермеу және сирек кездесетін өсімдік түрлері мен өсімдіктер жабынын қаз қалпында сақтау аса маңызды болып табылады (Злобин, 2013: 430).

Сирек кездесетін және жойылып кету қаупі төніп тұрған өсімдік түрлерін қорғау үшін популяциялық деңгейінде жүргізілетін зерттеулер ерекше орын алады (Злобин, 2009: 263). Популяция – бұл өсімдік түрлерінің табиғаттағы шынайы көрінісі, оның күрделі құрамы мен спецификалық функционалды құрылымы болып табылады. Сол себепті де сирек кездесетін өсімдік түрлерінің популяциясының жағдайын зерттеп, комплексті бағалау аса маңызды (Жокорева, 2010: 40).

Кез келген кері факторлардың әсерінен сирек кездесетін түрлердің жоғалуы ғаламдық мәселе болып табылады, биологиялық түрдің жойылуы бұл орны толмайтын өкініш. Сондықтан өзіндік қасиеттері бар түрлерді жоғалтпауымыз қажет (Metzker, 2010: 31).

Қазақстан территориясы 3 геоботаникалық облысқа бөлінеді. Іле Алатауы соның үшінші облысының (Тянь-Шань аймағының) А – провинциясына (солтүстік Тянь-Шань) жатады. Сол үшін Тянь-Шань аймағы толығымен шөл зонасында орналасқан (Дикарева, 2017: 132). Солтүстік Тянь-Шань геоботаникалық провинциясына Жоңғар (Жетісу) Алатауы, Іле Алатауы және Күнгей Алатауы жатады.

Тауларда жауын-шашын мөлшерінің таралуы біркелкі емес. Мысалы, Іле Алатауының тау алды аудандарымен шектесетін жартылай шөл бөлігінде 350 мм, ал тау алды бөлігінде – 450-600 мм, Іле Алатауы беткейінің солтүстік тармақтарында 800-1300 мм (Гвоздецкий, 197: 291). Биіктігіне байланысты температура да 100 м де қаңтарда 0,5°C-қа ал шілде айында 0,7°C-қа төмендейді. Қаңтар айының орташа температурасы – 17°C-тан – 20°C ал шілде айында +20°C-23°C арасында болатындығы анықталған (Вилесов, 2009: 392). Оң және теріс температуралардың таралуы экспозицияға, беткейдің биіктігіне және т.б. көрсеткіштерге байланысты шамалы болса да өзгеріп отырады (Root, 2003: 57). Климаттың өзгеруі өсімдіктер жабынының құрылымы мен қызметінің өзгерісіне, биологиялық түрлердің параметрлерінің өзгерісіне, тіпті олардың барлығының құрып-жоғалуына себепші болады (Thomas, 2004: 145; Thuiller, 2005: 8245).

Ақбасқурай (*Erysimum*) туысына 235 түр кіреді. Оның ішінде 16 түрі Қазақстанда кездеседі. Олардың ішінде *E. croceum* өсімдігінің Қазақстан флорасы үшін алатын орны ерекше (Абдулина, 1999: 187; Polatschek, 2008: 147). Ол Қазақстанның Қызыл кітабына тіркелген (Қазақстанның Қызыл кітабы, 2014: 106). Дегенмен, осы күнге дейін бұл өсімдік популяцияларына арнайы комплексті зерттеу жүргізілмегендіктен, *E. croceum* өсімдігінің кездесетін жерін табу, геоботаникалық және флоралық зерттеулердің заманауи әдістерін қолдана отырып, оның популяцияларын зерттеу және қазіргі жағдайына баға беру аса маңызды.

Іле Алатауындағы сирек кездесетін түр *E. croceum* өсімдігінің биологиясын зерттеудің осы түрдің қазіргі кездегі жағдайын бағалау және оны сақтаудың тиімді жолдарын қарастыру тұрғысынан практикалық маңызы бар (Abidkulova, 2017: 131). Қызыл кітапқа ендірілген өсімдіктерді қорғау олардың неге байланысты жойылып сақталуымен анықталады. Мекен жайының деградацияға ұшырауы көп жағдайда сирек кездесетін түрлердің жағдайының нашарлауын және олардың толық өлуіне алып келуі мүмкін (Lorite, 2015: 103; Abdelaziz, 2011: 1049). Осыған байланысты сирек кездесетін өсімдіктерді қорғау және олардың ареалын қалпына келтіру үшін сирек және жоғалып бара жатқан өсімдіктердің нақты бір мекен жайларға бейімделуін білу өте маңызды (Pirro, 2005: 405; Al-Shehbaz, 2012: 931).

E. croceum сирек кездесетін, эндем, дәрілік және сәндік өсімдік. Ол Іле Алатауында, Кетпен тауда, Күнгей және Қырғыз Алатауында таудың ортаңғы биіктік белдеуінде бұталардың арасында, шалғындарда, ормандарда, ұсақ топырақты және тастақ жерлерде жеке дарадан немесе арасы сиреген топ болып өседі. Сондықтан да оның популяцияларын кешенді түрде жан-жақты зерттеу қазіргі таңда кезек күттірмейтін мәселенің бірі болып отыр. Өсімдіктердің сирек түрлерінің стратегиясын анықтау – оны қорғау үшін қосымша инструмент. Сонымен бірге сирек түрлердің көп таралған өсімдіктермен салыстырғанда тұрақтылығының ерекше механизмдері бар және оларды анықтау бірлестіктердің ұйымдасу заңдылықтарын іздеудің негізі болып табылады (Grime, 2006: 417; Гиляров, 2010: 386).

Жоғарыда айтылғандарға байланысты біздің бұл мақалада алға қойған мақсатымыз – Іле Алатауындағы *E. croceum* табиғи популяцияларының құрылымы мен қазіргі кездегі жағ-

дайына эколого-фитоценодикалық тұрғыдан сипаттама беру болып табылады.

Бұл мақсатқа жету үшін келесі міндеттер қойылды:

- 1) *E. croceum* өсімдігінің эколого – фитоценодикалық ұштастығын анықтау;
- 2) Зерттелген популяцияларының сандық көрсеткішін, тығыздығын, жастық күйін анықтау;

Зерттеу материалдары мен әдістері

Өсімдік популяцияларын зерттеу маршруттық-рекогносцировкалық әдісі бойынша GPS-навигация приборын (GPSMAP 60CSx, Garmin, USA) пайдалана отырып жүргізілді. Геоботаникалық сипаттама жалпы қолданылып жүрген әдіспен жүргізілді (Корчагин, 1959: 41; 1964: 8). Өсімдіктің ценодикалық популяциясын зерттеу және оған сипаттама беру әдістермен (Работнов, 1950: 7; Голубев, Молчанов, 1978: 12) секілді белгілі ғалымдар ұсынған дәстүрлі әдістермен жүргізілді. Өсімдіктердің жастық күйлерін анықтау, сипаттау А.А. Уранов (1975: 28) жобасы бойынша жүргізілді. Жалпы популяцияның жастық құрылымын анықтау Т.А. Работнов (1960: 70) және А.А. Урановтың (1975:7) әдістері бойынша жүргізілді. Топырақты қабаттарға бөлу мен топырақ ылғалдылығын анықтау жалпы қолданылып жүрген әдістер бойынша жүргізілді (Практика по почвоведению 1986: 96). Координаттары GPS навигатор GARMIN 60CSx көмегімен анықталды. Топырақ рН мәні CONSORT – С 931 құралының көмегімен анықталды.

E. croceum М.Рор сирек кездесетін эндем түр. Статусы II категория (Қазақстанның Қызыл кітабы, 2014: 90), халық медицинасында пайдаланылады (Грудзинская, Гемеджиева, 2012: 139). Ол Іле Алатауының орманды белдеулеріндегі топырағы қара, ұсақ киыршықты сусымалы тасты беткейлерде кездеседі. Екіжылдық өсімдік, биіктігі 5-100 см-ге дейін жетеді, сәндік және дәрілік маңызы бар. Табиғатта түрдің саны азаюда.

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Іле Алатауында *E. croceum* М.Рор өсімдігінің төрт популяциясы табылып, алға қойылған мақсат пен міндеттерге сәйкес оларға комплексті зерттеу жүргізілді. Құрамында *E. croceum* өсімдігі кездесетін өсімдік қауымдастықтарына экология – фитоценодикалық зерттеу жүргі-

зілді, нәтижесінде олардың экология – фитоценодикалық ұштастығы анықталды.

Бірінші популяция – Кіші Алматы шатқалының сол жақ тармағының біріндегі биік шоқылардың жиектерінен табылды. Ол учаске Кіші Алматы тіктігі 65-70⁰ беткейінде орналасқан. GPS бойынша координаты: N 43°06.316' E 077°04.184', теңіз деңгейінен 2 597 м биіктікте табылды. Популяция ауданы 1,5 га шамасында.

Бірінші популяция аумағы флорасының таксономиялық құрамы 32 тұқымдас пен 89 туысқа жататын 115 түрден құралған. *Polypodiophyta* бөлімінен *Polypodiopsida* класына жататын бір түр, *Pinophyta* бөлімінен *Pinopsida* класына жататын – 3 түр (*Picea schrenkiana*, *Janiperus pseudosabina*, *J. sibirica*), *Magnoliophyta* бөлімінен *Magnoliopsida* класына жататын – 82 түр, *Liliopsida* класына жататын – 17 түр анықталды. Жетекші басым тұқымдастарына *Poaceae* және *Asteraceae*. Олардың әрқайсысында 12 түрден (20,9%) кездеседі. Екінші орында – *Ranunculaceae*, *Rosaceae* және *Fabaceae*, олардың әрқайсысында 9 түрден бар (23,5%). Үшінші орында – *Polygonaceae*, *Brassicaceae*, *Lamiaceae*, *Scrophulariaceae* және *Caryophyllaceae*, олардың әрқайсысында 7 түрден бар (30,43%). Осы жетекші 10 тұқымдасқа 86 түр жатады. Ол осы жердің флорасының 74,8% деген сөз. Одан кейін *Papaveraceae* тұқымдасын – 4 түр (4,4%), *Alliaceae* тұқымдасын – 3 түр (2,6%) құрайды. Қалған тұқымдастардың әрқайсысында бірекі түрлерден бар. Екі түр *Erysimum croceum* және *Hieracium kumbelicum* Іле Алатауының эндемиктері болып табылады.

Тіршілік формасының типі бойынша ең көп кездесетіні гемикриптофиттер – 82 түр (71,3%). Екінші орында терофиттер – 10 түр (8,7%). Үшінші орынды нано- және микрофанерофиттер алады – 8 түр (7,0%). Макрофанерофиттерден (ірі ағаштар) жалғыз ғана түр – *Picea schrenkiana* кездеседі. Лианалардың да бір ғана түрі – *Atragea sibirica* кездесті. Экологиялық типтерден мезофиттер басым. Олар флорадағы өсімдіктер қауымдастығының 90-95% құрайды. Сонымен қатар, петрофильді өсімдіктер де бар. Оларға: *Saxifraga sibirica*, *Sedum hybridum* және т.б. жатады. Ксерофиттер мүлдем кездеспейді.

Өсімдіктер жамылғысы жуа-шөмішгүлді-әртүрлі шөпті қауымдастығынан (*ass. Hedysarum flavum*, *Alchemilla sibirica*, *Silene wallichiana*, *Cerastium tianschanicum*, *Aquilegia atrovinosa* – *Allium atrosanguinum*, *A. turkestanicum*, *A. schoenoprasoides*) тұрады. Топырағы – ірі тастармен таулық қара, рН мөлшері – 4,45, орташа

ылғалдылығы 14-15. Жалпы өсімдіктер жабыны 95-100% құрайды. Өсімдіктер жабыны үш ярусты құрылыммен сипатталады.

I ярус – *Allium turkestanicum*, *Aquilegia atrovinosa*, *Hedysarum flavum*, биіктігі 70-90 см;

II ярус – *Cerastium tianschanicum*, *Poa stepposa*, *Potentilla evestita*, *Myosotis palustris*, биіктігі 30-60 см;

III – *Polygala hybrida*, *Sedum hybridum*, *Alchemilla sibirica*, биіктігі 15-25 см.

E. croceum өсімдігінің бірінші популяциясы аумағында өсімдіктер қауымдастықтарындағы пайдалы өсімдіктер Н.В. Павлов классификациясы бойынша 13 топқа бөлінді: 1. Эрозияға қарсы өсімдіктер – 90%; 2. Малазықтық өсімдіктер – 80-85%; 3. Сәндік – 18 түр (15,6%); 4. Балды – 13 түр (11,3%); 5. Арамшөптер – 10 түр (8,7%); 6. Улы – 9 түр (7,8%); 7. Дәрілік – 8 түр (7,0%); 8. Тағамдық – 7 түр (6,1%); 9. Илік затты – 7 түр (6,1%). Ары қарай техникалық өсімдіктер (3), витаминді өсімдіктер (2), эфир-майлы өсімдіктер (1). Кейбір түрлер комплексті мәнге ие. Мысалы, *Poligonum songaricum* дәрілік, тағамдық, балды, илік затты өсімдік, *Rubus idaeus* тағамдық, дәрілік, витаминді, балды өсімдік, ал *Picea schrenkiana* техникалық, сәндік, илік затты және эрозияға қарсы өсімдік.

Екінші популяция. *E. croceum* өсімдігінің екінші популяциясы Үлкен Алматы шатқалында, шыршалы орман белдеуінде, орманның биік жартасты шоқыларының солтүстік экспозициясында, Күмбельсу өзенінің сол жағалауында, тіктігі 80-85⁰ экспозициясында орналасқан (теңіз деңгейінен биіктігі 2 236 м). Топырағы – таулық қара, рН мөлшері – 5,85, орташа ылғалдылығы 15-16. GPS бойынша координаты: N 43°04.790', E 076°59.512'. Популяция ауданы 2 га шамасында.

Екінші популяция аумағындағы флораның таксономиялық құрамы бай және алуантүрлі. Барлығы 34 тұқымдасқа, 85 туысқа жататын 103 түрден тұрады. Мүктердің көптеген түрлері (*Bryophyta*), әсіресе *Bryopsida* класы басым кездеседі. *Polypodiophyta* бөлімінен *Polypodiopsida* класына жататын екі түр, *Pinophyta* немесе *Gymnospermatophyta* бөлімінен *Pinopsida* класына жататын бір түр кездесті. *Magnoliophyta* бөліміне жататын қалған 99 түрдің ішінде 86 түрі *Magnoliopsida* класына, 13-і *Liliopsida* класына жатады. Көп кездесетін жетекші тұқымдастарға *Asteraceae* (18 түр, 17,5%) және *Poaceae* (9 түр, 8,7%) жатады. Олар осы популяция кездесетін өсімдіктер бірлестігі флоралық құрамының 26,2% құрайды. Үшінші орында – *Ranunculaceae* мен *Rosaceae* тұқымдастары өкілдері

болды, олардың әрқайсысында 7 түрден (бәрі бірге 13,6%) кездеседі. Төртінші орынды – *Fabaceae*, *Caryophyllaceae* және *Brassicaceae* тұқымдастары құрайды, олардың әрқайсысында 6 түрден бар (бәрі бірге 17,5%). Осы жетекші 7 тұқымдасқа 59 түр (57,3%) жатады. Қалған тұқымдастарда 1-ден, 2-ден түрлер бар, бірақ олар осы бірлестіктің флористік құрамның 42,7 құрайды.

Тіршілік формасынан гемикриптофиттер басым болып келеді (62 түр, 60,2%). Екінші орында – терофиттер (12 түр, 11,6%). Нано-микрофанерофиттердің 9 түрі (8,7%) кездеседі. Макрофанерофиттерден 2 түрді – *Picea schrenkiana* және *Sorbus tianschanica* кездестіруге болады. Лианалардың бір ғана түрі – *Atragene sibirica* кездеседі. Экологиялық типтерден басымы мезофиттер. Ол флоралық құрамның 90-95% құрайды. Петрофильді түрлер де кездеседі (*Sedum hybridum*). Ксерофиттер мен гидрофиттер мүлдем кездеспейді.

Осы популяцияда кездесетін өсімдіктер бірлестіктері өздері орналасқан аумақта флоралық құрамына байланысты екі популяция ішілік өсімдіктер қауымдастығына бөлінеді.

Бірінші өсімдіктер қауымдастығының жабыны әртүрлі шөпті – бұталы қауымдастығынан (*ass. Rosa alberti*, *Spiraea hypericifolia*, *Lonicera microphylla*, *Lonicera hispida* – *Milium effusum*, *Poa nemoralis*, *Silene wallichiana*, *Ligularia macrophylla*, *Lathyrus gmelinii*, *Vicia cracca*) тұрады. Өсімдіктердің жалпы проекциялық жабыны 95-100% құрайды. Өсімдіктер жабыны бес ярусты құрылыммен сипатталады.

I ярус *Lonicera hispida*, *Rosa alberti*, *Milium effusum*, *Angelica decurrens*, *Aconitum leucostomum*, биіктігі 110-140 см;

II ярус *Rubus idaeus*, *Carduus schischkinii*, *Aegopodium podagraria*, *Senecio nemorensis*, биіктігі 80-100 см;

III ярус *Chamaenerium angustifolium*, *Aegopodium alpestre*, *Polemonium caucasicum*, биіктігі 65-75 см;

IV ярус *Geranium collinum*, *Poa nemoralis*, *Lathyrus gmelinii*, *Thalictrum collinum*, биіктігі 45-60 см;

V ярус *Alchemilla sibirica*, *Cerastium pauciflorum*, *Primula kaufmanniana*, *Papaver tianschanica*, биіктігі 20-40 см.

Екінші өсімдіктер қауымдастығының жабыны *Picea schrenkiana* әртүрлі шөпті – бұталы қауымдастығынан (*ass. Poa nemoralis*, *Poa pretense*, *Dactylis glomerata* – *Cerastium tianschanicum*, *Silene pseudotenius*, *Solidago virgaurea*,

Lamium album, *Geranium collinum*, *Chamaenerion angustifolium*) тұрады. Өсімдіктердің жалпы проекциялық жабыны 95-100% құрайды. Өсімдіктер жабыны бес ярусты құрылыммен сипатталады.

I ярус *Picea schrenkiana*, биіктігі 50 см;

II ярус *Sorbus tianschanica*, биіктігі 3-5 см;

III ярус *Rosa alberti*, *Lonicera hispida*, *Spiraea hypericifolia*, 100-140 см;

IV ярус *Milium effusum*, *Dactylis glomerata*, *Aquilegia atrovinosa*, *Lathyrus gmelinii*, биіктігі 70-90 см;

V ярус *Solidago virgaurea*, *Erigeron seravschanicus*, *Geranium collinum*, *Hedysarum flavum*, биіктігі 35-65 см.

E. croceum өсімдігінің екінші популяциясы кездесетін өсімдіктер қауымдастықтарындағы пайдалы өсімдіктер Н.В. Павлов классификациясы бойынша 13 топқа бөлінді: 1. Эрозияға қарсы өсімдіктер; 2. Малазықтық өсімдіктер; 3. Дәрілік және балды өсімдіктер – әрқайсысы 13 түрден (25,2%); 4. Арамшөптер және улы өсімдіктер – әрқайсысы 12 түрден (22,3%); 5. Тағамдық – 9 түр (8,7%); 6. Сәндік – 7 түр (6,8%); 7. Витаминді өсімдіктер – 5 түр (4,7%); 8. Эфир-майлы өсімдіктер – 4 түр (3,8%); 9. Илік затты – 3 түр (2,9%), техникалық өсімдіктер – 2 түр (1,9%). Кейбір түрлер комплексті мәнге ие. Мысалы, *Picea schrenkiana* эрозияға қарсы, техникалық, сәндік, илік затты өсімдік; *Sorbus tianschanica* тағамдық, илік затты, витаминді, сәндік өсімдік; *Rubus caesius* – тағамдық, витаминді, дәрілік және балды өсімдік; *Arctium tomentosum* – дәрілік, тағамдық, балды, майлы өсімдік; *Taraxacum officinale* – дәрілік, арамшөп, тағамдық және балды өсімдік.

E. croceum өсімдігінің үшінші популяциясы – Іле Алатауы Есік шатқалының шырша-лы белдеуінде, Есік көлінен төменірек теңіз деңгейінен 1724 метр биіктіктен табылды. Популяция ауданы 1,8 га шамасында. Ол учаске Іле-Алатау ұлттық паркінің аумағында орналасқан. Учаске Есік көлінің автокөлік жолы бойында орналасқан. Бұл Іле Алатауының үздіксіз қабаттарынан тұратын тік жарлы солтүстік беткейі, оның үстіңгі жағындағы тіктігі шамамен 85-90° құрайды. Бұл беткейдің өсімдіктер жамылғысы өте аз. Тек қана жартастардың жарықшақтары бар жерлерде, ұсақ топырақ жиналатын және жаңбыр суы сіңетін жерлерде ғана өсімдіктерді кездестіруге болады. Та-сты жарықшақтардағы өсімдіктердің негізін *Minuartia verna* (L.)Hiern., *Paraquilegia* Drumm. et Hutch., *Aquilegia atrovinosa* M.Pop., *Sedum*

ewersii Ledeb., *Sedum hybridum* L., *Saxifraga sibirica* L., *Papaver croceum* Ledeb., *Papaver tianschanicum* M. Pop., *Polypodium vulgare* L., *Geranium collinum* Steph. және т.б. құрайды.

Беткейдің ортаңғы бөлігінің тіктігі шамамен 40-45°, ал жолға жақынырақ төменгі бөлігінің тіктігі 30-35° аспайды. Мұнда кішкентай және орташа өлшемді сусымалы тастар, сондай-ақ ұсақ топырақпен араласқан қиыршық тастар жинақталған. Жыл сайын жылжымалы тастар мен қиыршақтар тас бетін жаңбыр мен қардың ерітіндісімен келетін судың шаңды-тұнбалы үйінділерімен жабылып қалады. Осындай үйінді бос топырақ өсімдіктерді көгалдандыру үшін пайдалы болып табылады. Бұл жерде толықтай қалыптасқан өсімдіктер жамылғысы жоқ, алайда *E. croceum* үшін шөгінді топырақ қолайлы орын болып табылады.

Құрамында үшінші популяция дарактары бар өсімдіктер бірлестіктерінің флоралық құрамына байланысты екі популяция ішілік өсімдіктер қауымдастығына бөлуге болады.

Бірінші өсімдіктер қауымдастығының жабыны Іле Алатауының Солтүстік макросклонының оңтүстік-батыс беткейінде орналасқан (теңіз деңгейінен биіктігі 1724 м). Бұл учаскенің өсімдіктер жабыны әртүрлі шөпті – шыралжын жусанды – бозды-бетегелі қауымдастықтарынан тұрады. Өсімдіктердің проекциялық жабыны 30-35%. GPS координаты: N 43°15.684', E 077°29.470'. Бұл бірлестікте *Artemisia dracunculus* L. доминант болып табылады. Әртүрлі шөптерден *Hypericum perforatum* L., *Patrinia intermedia* (Hornem.) Roem. et Schult., *Dactylis glomerata*., *Poa nemoralis*., *Erysimum croceum* M. Pop және т.б. кездеседі. Қалған түрлер жеке түр ретінде беткейлерде өседі. Тау етегіндегі автокөлік жолының бойында, жеткілікті ылғалданған жерлерде өсімдіктер қалың, флоралық құрамы бай және өсімдіктердің тіршілік жағдайы беткейлерге қарағанда әлдеқайда жақсы. Ол жерде *Dactylis glomerata*, *Plantago lanceolata*, *Poa nemoralis*, *Origanum vulgare*, *Oxyodon potentilla*, *Bromus lanceolatus* және т.б. кездеседі. Өсімдіктер жабыны үш ярусты құрылыммен сипатталады.

I ярус *Artemisia dracunculus*, *Dactylis glomerata*, *Galium aparine*, биіктігі 75-85 см;

II ярус *Hieracium vulgare*, *Poa nemoralis*, биіктігі 40-50 см;

III ярус *Sedum ewersii*., *Impatiens parviflora*, *Orobancha aegyptiaca*, 15-25 см.

Екінші өсімдіктер қауымдастығының жабыны Іле Алатауы, Есік шатқалының солтүстік макросклонының батыс беткейінде, теңіз

деңгейінен 1780 м биіктіктен табылды. GPS координаты: N 43°15.705', E 077°29.526'. орналасқан. Беткейдің тіктігі 40-45°. Беткейдің экспозициясы өсімдіктердің тамырларымен жақсы бекітілген.

Бұл учаскенің өсімдіктер жабыны тасшүйгіндәнді-әртүрлі шөптер қауымдастығынан тұрады. Проекциялық жабыны 80-85%. Топырағы – ірі және ұсақ тастар сынықтарынан және таулық қара топырақтардан тұрады, тастылығы 85-90%, тастары сусымалы, рН мөлшері – 4,87, орташа ылғалдылығы 6-7. Беткейлерде ағаштан *Populus tremula* және бұталардан: *Rosa alberti* және *Spiraea hypericifolia* кездеседі. Ағаштар мен бұталар өсімдіктер жабынының шамамен 15-20% алып жатыр. Бұл популяция шенберінде де доминант ретінде *Artemisia dracunculus* L. одан кейін екінші орында *Poa nemoralis* кездеседі. Өсімдіктер жабыны бес ярусты құрылыммен сипатталады.

I ярус *Populus tremula*, биіктігі 25 см;

II ярус *Rosa alberti*, *Spiraea hypericifolia*, *Lonicera tatarica*, *Lonicera microphylla*, *Lonicera hispida*, биіктігі 140-180 см;

III ярус *Rubus idaeus*, *Stachyopsis lamiflora*, *Galium aparine*, 80-90 см;

IV ярус *Patrinia intermedia*, *Valeriana turkestanica*, *Chondrilla canescens*, *Dactylis glomerata*, биіктігі 60-70 см;

V ярус *Origanum vulgare*, *Erysimum croceum*, *Geranium collinum*, *Hypericum perforatum*, биіктігі 40-50 см.

Флоралық құрамы тура бірінші популяциямен бірдей. Жалғыз айырмашылық бұл популяциядағы өсімдіктер қауымдастығынан *Hypericum perforatum* және *Lathyrus repens* өсімдіктері кездеспейді. Сонымен қатар, *Silene latifolia* және *Silene wallichiana* саны бірінші популяцияға қарағанда біршама жоғары. Тау етегіне жақынырақ бұталардың жекелеген түрлері: *Rosa alberti*, *Spiraea hypericifolia*, *Lonicera altmani*, *Rubus idaeus* кездеседі. Жалпы алғанда, осы аумақта өсімдіктердің шамамен 26 түрі бар.

Беткейдің жоғарғы бөлігінде *Spiraea hypericifolia*, *Lonicera hispida*, *Lonicera microphylla*, *Lonicera tatarica* секілді бұталар кездеседі. Ағаштардан *Malus sieversii*, *Crataegus songorica*, *Populus tremula* кездеседі. Тау етегіне жақын беткейдің төменгі бөлігін *Rosa alberti* бұталарынан тұратын тоғайлар алып жатыр. Әртүрлі шөптер қалың, олардың тіршілік жағдайы жақсы. Әртүрлі шөптердің негізін *Dactylis glomerata*, *Poa nemoralis*, *Poa pratensis*, *Polygonum coriarium*, *Aconitum leucostomum*,

Thalictrum collinum, *Geum urbanum*, *Vicia cracca*, *Lathyrus gmelinii*, *Chamaenerion angustifolium*, *Aegopodium alpestre*, *Geranium collinum*, *Stachyopsis lamiiflora* және т.б. құрайды. Бұл жерде *Erysimum croceum* мүлдем кездеспейді десек те болады. Оны тек өсімдіктері сирек учаскелерден көруге болады.

Өсімдіктер бірлестіктерінің флорасының систематикалық құрамы: жоғары споралы өсімдіктер *Polypodiophyta* бөлімінен тек екі түр кездеседі. Олар *Dryopteris filix-mas* және *Polypodium vulgare* L. *Pinophyta* бөлімінен тек *Picea schrenkiana* Fisch. et Mey кездеседі. *Angiospermatophyta* бөлімінен 71 түр кездеседі, оның ішінде *Magnoliopsida* класының өкілдері 59 түрді, ал *Liliopsida* класының өкілдері – 12 түрді құрайды.

Іле Алатауының солтүстік беткейі, Есік шатқалының шыршалы белдеуінен табылған *Erysimum croceum* популяциясы кездесетін өсімдіктер бірлестігінде жоғары сатыдағы өсімдіктердің үш бөліміне жататын 73 түр жиналып, анықталды. Жетекші тұқымдастар: *Asteraceae* – 11 түр (14,8%), *Poaceae* – 10 түр (12,2%), *Rosaceae* 10 түр (12,2%) және *Caryophyllaceae* – 8 түр (10,8%). Популяциядағы төрт жетекші тұқымдастар флораның 50% -ын құрайды. *Fabaceae* тұқымдасына – 5 түр (6,7%), *Brassicaceae* тұқымдасына да – 5 түр (6,7%), қалған тұқымдастар аз мөлшерде кездеседі.

Тіршілік формаларынан популяция аумағында бірінші орында гемикриптофиттер тұрады 47 түр (35,2%), екінші орында терофиттер 14 түр (10,5%), үшінші орында нано – және микрофанерофиттер 6 түр (4,5%). Макрофанерофиттерден екі түр (1,5%) анықталған. Олар *Populus tremula* және *Picea schrenkiana*. Экологиялық топтары бойынша үшінші популяция аумағында негізінен мезофиттер – 65 түр (86%) басым, олардан кейін мезоксерофиттер – 8 түр (10,6%) болды. Өсімдіктердің экологиялық типтерінің осылайша орналасуы таулы жердің флорасына сәйкес келеді.

E. croceum өсімдігінің үшінші популяциясы аумағында өсімдіктер қауымдастықтарындағы пайдалы өсімдіктер Н.В. Павлов классификациясы бойынша 11 топқа бөлінді: 1. Эрозияға қарсы өсімдіктер – 27 түр, оларға ағаштар, бұталар және тамыр жүйесі жақсы дамыған көпжылдық шөптесін өсімдіктер жатады. Мұнда тамырсабақты және атпатамырлы өсімдіктер ерекше орын алады. Олар таудың беткейлерін судан болатын эрозиясынан қорғайды; 2.

Малазықтық өсімдіктер – 20 түр; 3. Арамшөптер – 14 түр; 4. Дәрілік өсімдіктер – 13 түр; 5. Сәндік өсімдіктер – 10 түр; 6. Балды – 8 түр; 7. Бояғыш – 5 түр; 8. Илік затты, витаминді, улы өсімдіктер – әрқайсысынан 4 түрден; 9. Малазықтық – 3 түр; 10. Эфир-майлы өсімдіктерді – 2 түр; 11. Техникалық өсімдіктер – 1 түр. Пайдалы өсімдіктердің кейбір түрлері комплексті мәнге ие. Мысалы, *Rhamnus cathartica* L. әрі дәрілік, витаминді, бояғыш, дубильді, сәндік, эрозияға қарсы өсімдік, *Crataegus altaica* L. – тағамдық, дәрілік, бояғыш, сәндік, эрозияға қарсы өсімдік. *E. croceum* өсімдігінің популяциясының жағдайын бұл учаскеде қанағаттанарлық деуге болады. Мұнда *E. croceum* ашық жерлерде жақсы өседі, бірақ топырақ өте жұқа жерлерінде өсімдік сирек кездеседі.

Ботаникалық-географиялық (флоралық) талдау жасай отырып *E. croceum* популяциялары кездесетін өсімдіктер бірлестіктерінде біз палеоарктикалық элементтердің басым екендігін аңғарамыз 23 түр. Екінші орында голарктикалық элементтер тұрады – 5 түр, одан кейін қалған элементтер 1 түрден кездеседі. Іле Алатауы Есік шатқалының шыршалы белдеуіндегі *E. croceum* популяциясы шеңберінде біз 18 флоралық элементті (палеоарктикалық, голарктикалық, тұран-ирандық, алтай-тяньшаньдық, жоңғаршығыстаньяншаньдық, жоңғар-ирандық, жоңғар-тяньшаньдық т.б.) анықтадық. Бұл дегеніміз Іле Алатауының флорасы көптеген региондармен, әсіресе таулы жүйелермен байланыста деген сөз.

Эндем өсімдіктердің ішінен екі түр кездеседі: *E. croceum* М.Пор и *E. transilensis* М.Пор. Екі түрде теориялық тұрғыдан қызықты. Олардың популяцияларының жағдайына бақылау жасап тұру қажет.

Төртінші популяция – Кіші Алматы шатқалының оң жағалауында, беткейдің солтүстік-батыс экспозициясында, тіктігі 45-50⁰ беткейінде орналасқан (теңіз деңгейінен 2 413 м). GPS бойынша координаты: N 43°07.053' E 077°04.840'. Топырағы – таулық қара, тастылығы 70%, рН мөлшері – 4,03, орташа ылғалдылығы 5-6. Популяция ауданы 1 га шамасында.

Өсімдіктер жабыны әртүрлі шөпті-астықты қауымдастығынан (*ass. Alopecurus pratensis*, *Festuca supina*, *Poa stepposa*, *Dactylis glomerata* – *Hedysarum flavum*, *Alchemilla sibirica*, *Aquilegia atrovinosa*, *Cerastium tianschanicum*) тұрады. Жалпы өсімдіктер жер бетін 85-90% дейін жауып тұрады. Өсімдіктер жабыны үш ярусты құрылыммен сипатталады.

I-кесте – *Erysimum croceum* өсімдігі популяцияларының экология-фитоценодикалық сипаттамасы

Популяция нөмірі	Популяциялар		Онтогенетикалық күйі, саны, дана		Орналасқан жері, GPS координаттары, топырақ типі, теңіз деңгейінен биіктігі, беткейі, тіктігі	Фитоценоз типі	Топырағы			
	Ауданы, га	Дарактар саны, м ²	виргинилділік V	генеративтік G			Проқциялық жабыны, %	Түрлер саны	Орташа ылғалдылығы	pH мөлшері орташа 0-50 қабаттыңда
I	1,5	7,3±0,6	2,3±0,5	5±0,4	Іле Алатауының Кіші Алматы шатқалында, М. Алматинка өзенінің сол жағалауы, беткейдің оңтүстік-шығыс экспозициясында, тіктігі 65-70°, топырағы – ірі тастармен таулық қара. GPS бойынша координаты: N 43°06.316' E 077°04.184', теңіз деңгейінен 2 597 м	Жуа-шөмішшүлді-өртүрлі шөпті қауымдастығынан (<i>ass. Hedyсарum flavum, Alchemilla sibirica, Silene wallichiana, Cerastium tianschanicum. Aquilegia atrovinosa – Allium atosanguineum, A. turkestanicum, A. schoenoprasoides</i>)	95-100	115	14-15	4,45
II	2	-	бірліжарым	бірліжарым	Іле Алатауының Үлкен Алматы шатқалы, шыршалы орман белдеуі, Күмбелсу өзенінің сол жағалауы, беткейдің солтүстік экспозициясында, тіктігі 80-85°, топырағы – таулық қара. GPS бойынша координаты: N 43°04.790', E 076°59.512', теңіз деңгейінен 2 236 м	Өртүрлі шөпті – бұталы қауымдастығынан (<i>ass. Rosa alberti, Spiraea hypericifolia, Lonicera microphylla, Lonicera hispida – Milium effusum, Poa nemoralis, Silene wallichiana, Ligularia macrophylla, Lathyrus gmelinii, Vicia cracca</i>)	95-100	103	15-16	5,85
III	1,8	8,25±1,2	2,3±0,52	5±0,47	Іле Алатауы Есік шатқалының шыршалы белдеуінде, Есік көлінен төменрек теңіз деңгейінен 1724 метр биіктіктен табылды. Беткейдің тіктігі шамамен 85-90° құрайды. Топырағы – ірі және ұсақ тастар сынықтарынан және таулық қара топырақтардан тұрады, тастылығы 85-90%. GPS бойынша координаты: N 43°15.705', E 077°29.526'	Өртүрлі шөпті – шыралжын жусанды – бозды-бетегелі қауымдастығы (<i>Hypericum perforatum L., Patrinia intermedia (Hornem.) Roem. et Schult., Dactylis glomerata., Poa nemoralis., Erysimum croceum M. Por және т.б.</i>)	85-90	73	6-7	4,87
IV	1	-	бірліжарым	бірліжарым	Іле Алатауының Кіші Алматы шатқалында, М. Алматинка өзенінің оң жағалауы, беткейдің солтүстік-батыс экспозициясында, тіктігі 45-50°, топырағы – таулық қара, тастылығы 70%. GPS бойынша координаты: N 43°07.053' E 077°04.840', теңіз деңгейінен 2 413 м	Өртүрлі шөпті-астықты қауымдастығынан (<i>ass. Alopecurus pratensis, Festuca supina, Poa stepposa, Dactylis glomerata – Hedyсарum flavum, Alchemilla sibirica, Aquilegia atrovinosa, Cerastium tianschanicum</i>)	85-90	87	5-6	4,03

I ярус *Allium turcestanica*, *Aquilegia atrovinosa*, *Hedysarum flavum*, биіктігі 70-90 см;

II ярус *Cerastium tianschanicum*, *Poa stepposa*, *Potentilla evestita*, *Myosotis palustris*, биіктігі 30-60 см;

III ярус *Polygala hybrida*, *Sedum hybridum*, *Alchemilla sibirica*, 15-25 см.

E. croceum М.Рор өсімдігі популяцияларының экология-фитоценодикалық ерекшеліктері №1 кестеде келтірілген.

Кіші Алматы шатқалының сол жақ тармағының біріндегі биік шоқылардың жиектерінен табылған бірінші популяция теңіз деңгейінен 2 597 м биіктікте, топырағы – ірі тастармен таулық қара, рН мөлшері – 4,45, орташа ылғалдылығы 14-15. Үлкен Алматы шатқалында, шыршалы орман белдеуінде, Күмбельсу өзенінің сол жағалауынан табылған екінші популяция теңіз деңгейінен 2 236 м биіктікте, топырағы – таулық қара, рН мөлшері – 5,85, орташа ылғалдылығы 15-16. Есік шатқалының солтүстік макросклонының батыс беткейінде, теңіз деңгейінен 1780 м биіктіктен табылған үшінші популяцияны топырағы – ірі және ұсақ тастар сынықтарынан және таулық қара топырақ, рН мөлшері – 4,87, орташа ылғалдылығы 6-7. Ал, Кіші Алматы шатқалының оң жағалауында орналасқан теңіз деңгейінен 2 413 м биіктіктегі төртінші популяция топырағы – таулық қара, тастылығы 70%, рН мөлшері – 4,03, орташа ылғалдылығы 5-6.

Жоғарғы кестеде көрсетілген №1 және №2 популяциялар топырағының 0-50 қабатында ылғалдылығы қалған екі популяцияға қарағанда жоғары. Осының нәтижесінде алуантүрлі өсімдік жамылғысы қалыптасқан.

E. croceum өсімдігінің популяцияларының ең жоғарғы тығыздығы №3 популяцияда ($8,25 \pm 1,2$ дана/м²), ең төменгі №1 популяцияда ($7,3 \pm 0,6$ дана/м²) екендігі анықталды.

Қорытынды

Осылайша, геоботаникалық және флоралық зерттеулердің заманауи әдістерін қолдана отырып, Іле Алатауы жағдайында сирек кездесетін, эндем, дәрілік *E. croceum* өсімдігінің төрт популяциясы Үлкен Алматы шатқалынан, Кіші Алматы шатқалының оң және сол жағалауларынан және Есік шатқалынан табылды. Жүргізілген

зерттеу нәтижесінде *E. croceum* өсімдігі популяцияларының жағдайына баға берілді. Осы төрт популяцияда кездесетін өсімдіктер қауымдастықтарына геоботаникалық сипаттамалар беріліп, флорасына талдау жасалынды. Популяциялардың гүлдену және жеміс беретін особьтарымен аяқталатын *E. croceum* жастық күйлеріне сәйкес келетін жағдайларды кездестіруге болады. Бұл дегеніміз Іле Алатауындағы *E. croceum* популяциясына тікелей төніп тұрған қауіп-қатері жоқ, популяция қалыпты жағдайда деп айтуға болады. Олай дейтініміз, бұл түр қауіпсіз аймақта тау беткейінің шыршалы белдеуінде теңіз деңгейінен 1724-2 597 м биіктікте кездеседі. Екіншіден, Іле Алатауының Үлкен және Кіші Алматы шатқалдары Іле Алатауы Ұлттық паркінің аумағына кіреді. Сол себепті, бұл жер ерекше қорғалатын және тұрақты бақылаудағы территория. Бір ғана қауіп бар. Ол үшінші популяцияның Есік көліне жақын орналасуы. Ал, Есік көліне туристер жиі барады. Сондықтан біз *E. croceum* популяцияларының жағдайын үнемі қадағалауды және оны бақылауға алуды ұсынамыз.

E. croceum өсімдігінің төрт популяциясының жағдайын бірдей деп айтуға келмейді. Кіші Алматы шатқалында кездесетін бірінші популяция өзгеріске ұшырап отырады, себебі ол биік тау жотасында орналасқан.

Антропогендік факторлардың әсерінен 1, 3, 4 популяцияларды регрессивті типке жатқызуға болады. Себебі, бұл популяцияларда ювенильдік және имматурлық дарактар жоқ. Сондықтанда оларға жойылып кету қаупі төніп тұрғандықтан оларды қорғау шараларын жасау қажет.

E. croceum өсімдігі сирек және эндем түр болғандықтан, келешекте жоғалып кетпес үшін келесідей шараларды ұсынамыз: 1) Барлық төрт популяцияларының жағдайы бойынша Іле Алатауы Ұлттық паркі тұрақты бақылап мониторинг жұмысын жүргізу қажет; 2) Алматы қаласындағы Ботаника және фитоинтродукция институтына *E. croceum* өсімдігін сирек, эндем, дәрілік түр ретінде өздерінің коллекцияларына енгізу қажет. Жүргізілген зерттеу нәтижесінде алынған мәліметтер *E. croceum* өсімдігі популяцияларын қорғауға байланысты шараларды ғылыми негізде ұйымдастыруға мүмкіндік береді.

Әдебиеттер

- 1 Abidkulova K.T., Mukhitdinov N.M., Ivashchenko A.A., Ametov A., Serbayeva A.D. Morphological characteristics of a rare endemic species *Erysimum croceum* M. Pop. (Brassicaceae) from Trans-Ili Alatau, Kazakhstan // *Modern Phytomorph.* – 2017. – Vol. 11, – P. 131-138.
- 2 Abdelaziz, M., Lorite, J., Munoz-Pajares, A.J., Herrador, M.B., Perfectti, F., Gómez, J.M. Using complementary techniques to distinguish cryptic species: a new *Erysimum* (Brassicaceae) species from North Africa. *Am. J. Bot.* – 2011. – P. 1049–1060.
- 3 Al-Shehbaz L.A. A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae) // *Taxon* 61, – 2012. -P. 931–954.
- 4 Абдулина С.А. Список сосудистых растений Казахстана // Алматы. – 1999. – С. 187.
- 5 Борисова М.А., Маракаев О.А. Редкие виды растений: практика исследований в природе // Ярославль, – 2015. – С. 64.
- 6 Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методики // – М.: Изд-во МГУ, – 2004. – С. 312. ISBN: 5-211-06103-9
- 7 Вилесов Е.Н., Науменко А.А., Веселова Л.К., Аубекеров Б.Ж. Физическая география Казахстана // – Алматы, – 2009. – С. 362.
- 8 Дикарева Т.В. Эколого-ценотический анализ видов растений красной книги Казахстана. Экосистемы: Экология и динамика // – 2017. – С. 132-145.
- 9 Зауольнова Л.Б. Структура популяции семенных растений и проблема их мониторинга // – 1994. – С. 70.
- 10 Злобин Ю. А. Популяционная экология растений: современное состояние, точки роста. // Сумы: Унив. Книга. – 2009. – С. 263.
- 11 Злобин Ю.А., Скляр В.Г., Клименко А.А. Популяции редких видов растений: теоретические основы и методика изучения // Сумы: Унив. кн., – 2013. – С. 439.
- 12 Гиляров А.М. В поисках универсальных закономерностей организации сообществ: прогресс на пути нейтрализма // журнал общей биологии // – 2010. – Т. 71, № 5. –С. 386–401.
- 13 Гвоздецкий Н.А., Николаев В.А. Казахстан: очерк природы // Москва : Мысль, –1971. – С. 291.
- 14 Голубев В.Н., Молчанов Е.Ф. Методические указания к популяционно-количественному и эколого-биологическому изучению редких, исчезающих и эндемичных растений Крыма // – Ялта: Изд-во Никитского бот. сада, – 1978. – С. 41.
- 15 Грузинская Л.М., Гемеджиева Н.Г.Список лекарственных растений Казахстана (Справочное издание) // – Алматы, – 2012. – С. 139.
- 16 Grime J. Philip. Plant Strategies, Vegetation Processes, and Ecosystem Properties, 2nd Edition // ISBN: 978-0-470-85040-4. – 2006. – P. 417.
- 17 Кокорева И.И., Лысенко В.В., Отрадных И.Г., Съедина И.А. Эколого-морфологические особенности редкого вида *Erysimum croceum* M.Pop. // Изв. НАН РК. Сер. биол. и мед. – 2010. №1.– С. 40-45.
- 18 Красная книга Казахстана. Том 2. Часть 1. Растения // – Алматы: «ArtPrintXXI», – 2014. – С. 106.
- 19 Корчагин А.А., Лавренко Е.М. (ред.) Полевая геоботаника // Методическое руководство. – 1959. – С. 41.
- 20 Lorite J., Perfectti F., Gómez J.M. A new combination in *Erysimum* (Brassicaceae) for Baetic mountains (Southeastern Spain). *Phytotaxa* 201 (1): – 2015. – P. 103–105. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.201.1.10>
- 21 Metzker M. L. Sequencing technologies – the next generation // *Nat Rev Genet.* – 2010. -Vol. 11. – P. 31–46.
- 22 Пермяков А.И. Микротехника // – М.: Изд-во МГУ, – 1988. – С. 58.
- 23 Практика по почвоведению // – М.: Агропромиздат, – 1986. – С. 96-97.
- 24 Polatschek A. *Erysimum* (Brassicaceae) // 15 neue Arten, aus Europa, N-Africa und Asien. *Ann. Naturhist. Mus. Wien.* 109B – 2008. – P. 147–165.
- 25 Piippo S; Huhta AP; Rautio P; Tuomi J. (2005). Resource availability at the rosette stage and apical dominance in the strictly biennial *Erysimum strictum* (Brassicaceae) // *Canadian Journal Of Botany-Revue Canadienne De Botanique* – V: 83. I. 4. – P. 405-412
- 26 Работнов Т.А. Жизненный цикл многолетних травянистых растений в луговых ценозах // Труды БИН АН СССР. Серия 3. Геоботаника. – М., – 1960. – С. 70-205.
- 27 Root T.L., Price J.T., Hall K.R., Schneider S.H., Rosenzweig C. et al. // Prediction of cheatgrass field germination potential using wet thermal accumulation. *Nature*, – 2003. – Vol.421. – P. 57-60.
- 28 Thomas C.D., Cameron A., Green R.E., Bakkenes M., Beaumont L.J. et al. Climate change threats to plant diversity in Europe // *Nature*, – 2004. – Vol. 427. – P. 145-148.
- 29 Thuiller W., Lavorel S., Araujo M.B., Sykes M.T., Prentice I.C. Biological invasions as global environmental change // *P Natl Acad Sci Usa*, – 2005. – Vol.102. – P. 8245-8250.
- 30 Уранов А.А. Возрастной спектр фитоценопопуляции как функция времени и энергетических волновых процессов // Биол. науки. – 1975. – No 2. – С. 7-34.

References

- 1 Abidkulova K.T., Mukhitdinov N.M., A.A. Ivashchenko, A. Ametov, Serbayeva A.D. Morphological characteristics of a rare endemic species *Erysimum croceum* M. Pop. (Brassicaceae) from Trans-Ili Alatau, Kazakhstan. *Modern Phytomorph.*, – 2017. – Vol. 11. – P. 131-138.

- 2 Abdelaziz, M., Lorite, J., Munoz-Pajares, A.J., Herrador, M.B., Perfectti, F., Gómez, J.M. Using complementary techniques to distinguish cryptic species: a new *Erysimum* (Brassicaceae) species from North Africa. *Am. J. Bot.* 98, – 2011. – P. 1049–1060.
- 3 Al-Shehbaz L.A. A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae) // *Taxon* 61. – 2012. – P. 931–954.
- 4 Abdulina S.A. Spisok sosudistyh rastenij Kazahstana // – Almaty. – 1999. – P. 187. (In Russian).
- 5 Borisova M.A., Marakaev O.A. Redkie vidy rastenij: praktika issledovanij v prirode // Jaroslavl', – 2015. – P. 64. (In Russian).
- 6 Barykina R.P., Veselova T.D., Devjatov A.G., Dzhaililova H.H., Il'ina G.M., Chubatova N.V. Spravochnik po botanicheskoj mikrotehnike. Osnovy i metodiki // – M.: Izd-vo MGU, – 2004. – P. 312. ISBN: 5-211-06103-9. (In Russian)
- 7 Vilesov E.N., Naumenko A.A., Veselova L.K., Aubekero B.Zh. Fizicheskaja geografija Kazahstana // – Almaty: Kazak universiteti, – 2009.- P. 362. (In Russian).
- 8 Dikareva T.V. Jekologo-cenoticheskij analiz vidov rastenij krasnoj knigi Kazahstana // *Jekosistemy: Jekologija i dinamika.* – 2017– P. 132-145. (In Russian).
- 9 Zlobin Ju. A. Populjacionnaja jekologija rastenij: sovremennoe sostojanie, tochki rosta. // – Sumy: Univ. kniga. – 2009. – P. 263. (In Russian).
- 10 Zlobin Ju.A., Skljär V.G., Klimenko A.A. Populjacionnaja jekologija redkih vidov rastenij: teoreticheskie osnovy i metodika izuchenija // Sumy: Univ. kn., – 2013. – P. 439. (In Russian).
- 11 Zaugol'nova L.B. Struktura populjacionnoj semennyh rastenij i problema ih monitoringa // – 1994. – P. 70. (In Russian)
- 12 Giljarov A.M. 2010. V poiskah universal'nyh zakonomernostej organizacii soobshhestv: progress na puti neitralizma // *zhurnal obshhej biologii*, Tom 71, № 5. – 2010. – P. 386–401. (In Russian)
- 13 Gvozdeckij N.A., Nikolaev V.A. Kazahstan: ocherk prirody // Moskva : Mysl', -1971. – P. 291. (In Russian).
- 14 Golubev V.N., Molchanov E.F. Metodicheskie ukazanija k populjacionno-kolichestvennomu i jekologo-biologicheskomu izucheniju redkih, ischezajushih i jendemichnyh rastenij Kryma // – Jalta: Izd-vo Nikitskogo bot. sada, – 1978. – P. 41. (In Russian)
- 15 Grudinskaja L.M., Gemedzhieva N.G. Spisok lekarstvennyh rastenij Kazahstana (Spravochnoe izdanie) // – Almaty, – 2012. – P. 139. (In Russian)
- 16 Grime J. Philip Plant Strategies, Vegetation Processes, and Ecosystem Properties, 2nd Edition // ISBN: 978-0-470-85040-4. – 2006. – P. 417.
- 17 Kokoreva I.I., Lysenko V.V., Otradnyh I.G., S#edina I.A. Jekologo-morfologicheskie osobennosti redkogo vida *Erysimum croceum* M.Ror. // *Izv. NAN RK. Ser. biol. i med.* – №1. – 2010. – P. 40-45. (In Russian).
- 18 Red List of Kazakhstan II edition // – Vol. 1: Plants. – Almaty: «AprPrintXXI», – 2014. – P. 106. (In Russian).
- 19 Korchagin A.A., Lavrenko E.M. (red.) Polevaja geobotanika // Metodicheskoe rukovodstvo. – 1959. – P. 41. (In Russian)
- 20 Lorite J., Perfectti F., Gómez J.M. A new combination in *Erysimum* (Brassicaceae) for Baetic mountains (Southeastern Spain) // *Phytotaxa* 201 (1): – 2015. – P. 103–105. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.201.1.10>
- 21 Metzker M. L. Sequencing technologies – the next generation // *Nat Rev Genet.* – 2010. – Vol. 11. – P. 31–46.
- 22 Permjakov A.I. Mikrotehnika // – M.: Izd-vo MGU, – 1988. – P. 58. (In Russian)
- 23 Praktika po pochvovedeniju // – M.: Agropromizdat, – 1986. – P. 96-97. (In Russian)
- 24 Polatschek A. *Erysimum* (Brassicaceae) // 15 neue Arten, aus Europa, N-Africa und Asien. *Ann. Naturhist. Mus. Wien.* 109B: – 2008. – P. 147–165.
- 25 Piippo S; Huhta AP; Rautio P; Tuomi J. 2005. Resource availability at the rosette stage and apical dominance in the strictly biennial *Erysimum strictum* (Brassicaceae) // *Canadian Journal Of Botany-Revue Canadienne De Botanique* – V: 83. I. 4. – P. 405-412
- 26 Rabotnov T.A. Zhiznennyj cikl mnogoletnih travjanistyh rastenij v lugovyh cenozah // *Trudy BIN AN SSSR. Serija 3. Geobotanika.* – M., – 1960. – P. 70-205. (In Russian)
- 27 Root T.L., Price J.T., Hall K.R., Schneider S.H., Rosenzweig C. et al. // Prediction of cheatgrass field germination potential using wet thermal accumulation. *Nature*, – Vol. 421. – R. 5 – 2003. – P. 7-60
- 28 Thomas C.D., Cameron A., Green R.E., Bakkenes M., Beaumont L.J. et al. Climate change threats to plant diversity in Europe // *Nature*, – 2004. – Vol. 427. – P.145-148.
- 29 Thuiller W., Lavorel S., Araujo M.B., Sykes M.T., Prentice I.C. Biological invasions as global environmental change // *Natl Acad Sci Usa*, – Vol.102. – P. 8245-8250.
- 30 Uranov A.A. Vozrastnoj spektr fitocenopuljacioni kak funkcija vremeni i jenergeticheskij volnovy processov // *Biol. nauki.* – 1975. – No 2. – P. 7-34. (In Russian)

2-бөлім
БИОТЕХНОЛОГИЯ

Section 2
BIOTECHNOLOGY

Раздел 2
БИОТЕХНОЛОГИЯ

**Айтжанова А.А.¹, Саубенова М.Г.¹, Мунье Дж.²,
Олейникова Е.А.¹, Бержанова Р.Ж.³**

¹ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,
Казахстан, г. Алматы, e-mail: aida_91_20@mail.ru

²Университет Западной Бретани, Университетская лаборатория биоразнообразия
и микробной экологии, F-29280 Плузане

³Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

ВЫДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ КАЗАХСКИХ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ С АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ ДРОЖЖЕЙ РОДА *CANDIDA*

Рост числа кандидозов, повышение степени их тяжести и возрастающая устойчивость возбудителей к противогрибковым препаратам, а также их вредные побочные эффекты, вызывают необходимость выявления новых более эффективных и безопасных противогрибковых средств. В этом контексте большой интерес может представлять разработка и использование функциональных кисломолочных продуктов с микроорганизмами, обладающими противогрибковой активностью и способствующими выведению из организма оппортунистических дрожжей рода *Candida*. Микробиота казахских национальных кисломолочных напитков, полученных из кобыльего и верблюжьего молока, оказывает разностороннее воздействие на здоровье человека, но антагонистическая активность представителей этой микробиоты против видов дрожжей, ответственных за кандидоз, еще не изучена.

Целью настоящей работы было выделение из казахских национальных кисломолочных напитков микроорганизмов, антагонистически активных в отношении дрожжей рода *Candida*.

Исследование антагонистической активности различных образцов молочных и кисломолочных продуктов местного (как домашнего, так и коммерческого) производства в отношении *S. albicans* методом диффузии из лунок показало эффективное подавление роста дрожжей образцами кумыса домашнего изготовления. Ассоциации микроорганизмов различных образцов кумыса сохраняли антагонистическую активность при последовательных пересевах на коровьем молоке и молочной сыворотке. При культивировании на коровьем молоке эти ассоциации обладали повышенной активностью в отношении *S. krusei* 25. Наиболее высокую антагонистическую активность в отношении *S. glabrata* 589 проявили три ассоциации при культивировании на молочной сыворотке. После высева наиболее перспективных ассоциаций на среду MRS из колоний различных морфологических типов выделен 41 изолят бактерий, 28 из которых являются молочнокислыми бактериями, а остальные, предположительно, уксуснокислыми микроорганизмами. Выделено также 34 изолята дрожжей.

В наших исследованиях впервые выделены аборигенные штаммы молочнокислых микроорганизмов, ингибирующие рост дрожжей рода *Candida*, в том числе проявляющих высокую степень устойчивости, как к метаболитам молочнокислых бактерий (кишечные и вагинальные изоляты *S. albicans*), так и к противогрибковым антибиотикам (*S. glabrata* 589 и *S. krusei* 25). Отобранные микроорганизмы будут использованы для создания консорциумов и использования в качестве заквасок для функциональных напитков с противогрибковой активностью в отношении условно-патогенных дрожжей рода *Candida*.

Ключевые слова/словосочетания: кумыс, молочнокислые бактерии, анти-*Candida*. активность

Aitzhanova A.A.¹, Saubenova M.G.¹, Mounier J.², Oleinikova E.A.¹, Berzhanova R.Zh.³

¹LLP "Scientific Production Center of Microbiology and Virology", Kazakhstan, Almaty, e-mail: aida_91_20@mail.ru

²Univ Brest, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, F-29280 Plouzan, France

³Kazakh National University named after al-Farabi (MES RK), Kazakhstan, Almaty

Isolation of microorganisms from Kazakh dairy products with antagonistic activity against yeast species from the *Candida* genus

An increase in the number of severe candidiasis, the growing incidence of antimicrobial resistance of the pathogens responsible for these infections, as well as their harmful side effects, necessitate developing new and more effective antifungal agents. In this context, the elaboration and utilization of functional fermented milk products with microorganisms harbouring antifungal activity and thus promoting the elimination of opportunistic *Candida* yeasts from the body, could be of great interest. The microbiota of Kazakh national sour-milk beverages derived from mare's and camel's milk has a multidirectional health effect on the human body, but the antagonistic activity of members of these microbiota against yeast species responsible for candidiasis have not yet been studied.

The aim of this work was to isolate microorganisms, with antagonistic activity against *Candida* yeast species from Kazakh national fermented milk beverages.

The study of antagonistic activities of various dairy products of local (both domestic and commercial) production against *C. albicans* using well-diffusion assays showed effective suppression of yeast growth with homemade koumiss samples. Associations of microorganisms from various koumiss samples also showed antagonistic activities after performing successive inoculations and fermentations of cow's milk and whey. When cultured in cow's milk, these associations had an increased activity against *C. krusei* 25. The highest antagonistic activity against *C. glabrata* 589 was found for three associations cultured in whey. After plating the most promising associations on MRS media, 41 bacteria with were isolated from selected associations based on their colony morphotype, 28 of which were lactic acid bacteria, while the other were presumptive acetic bacteria. Thirty-four yeast isolates were also selected.

In the present study, autochthonous strains of microorganisms that inhibited *Candida* spp. growth, including *Candida* strains exhibiting a high resistance to both lactic acid bacteria metabolites (intestinal and vaginal isolates of *C. albicans*) and antifungal antibiotic fluconazole (*C. glabrata* 589 and *S. krusei* 25), were selected for the first time. The isolated microorganisms will be used to create consortia and apply as starters to develop new functional beverages with antifungal activity against opportunistic *Candida* yeast species.

Key words: koumiss, lactic acid bacteria, *Candida* yeast antagonists.

Айтжанова А.А.¹, Саубенова М.Г.¹, Мунье Дж.², Олейникова Е.А.¹, Бержанова Р.Ж.³

¹«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы», ЖШС,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: aida_91_20@mail.ru

²Вест-Британи Университеті, Университеттің биоалуантүрлілік және
микробтық экология зертханасы, F-29280 Плузане

³әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті (ҚР БҒМҚ), Қазақстан, Алматы қ.

Қазақстандық сүт қышқылды өнімдерден *Candida* туысы ашытқыларына қатысты антагонистік белсенділік көрсететін микроорганизмдерді бөліп алу

Кандидоздар санының өсуі, олардың ауырлық дәрежесінің жоғарылауы және қоздырғыштардың саңырауқұлаққа қарсы препараттарға төзімділігінің артуы, сонымен қатар, олардың зиянды жанама әсері, жаңа тиімдірек және қауіпсіз саңырауқұлаққа қарсы заттарды анықтауды қажет етеді. Бұл тұрғыда саңырауқұлаққа қарсы белсенділік көрсететін және *Candida* оппортунистикалық ашытқыларын ағзадан шығаратын қасиетке ие микроорганизмдер бар функционалды сүтқышқылды өнімдерді дайындауға және пайдалануға көп қызығушылық туындауда. Жылқы және түйе сүтінен дайындалған қазақстандық сүт қышқылды сусындардың микробиотасы адам денсаулығына әр түрлі әсер етеді, бірақ бұл микробиотаның өкілдеріне кандидозға жауапты ашытқы түрлеріне қарсы әрекеті әлі зерттелмеген.

Ағзадағы *Candida* шартты патогенді ашытқыларды жоюға ықпал ететін саңырауқұлақтарға қарсы белсенділігі бар функционалды сүт қышқылды өнімдерді құрастырғанда, олардың табиғи антагонисттерін пайдаланған дұрыс. Жылқы және түйе сүтінің негізінде жасалған қазақтың ұлттық сүт сусындарының микрофлорасы адам ағзасына көп жақты сауықтыру әсеріне, алайда оның өкілдері *Candida* туысы ашытқыларына антагонистері ретінде зерттелмеген.

Бұл жұмыстың мақсаты – қазақстандық сүт қышқыл сусындардан *Candida* туысы ашытқыларына қатысты антагонистік белсенді микроорганизмдерді бөліп алу.

Жергілікті өндірістің (отандық, сондай-ақ коммерциялық) сүт және сүт өнімдерінің әртүрлі үлгілерінің *C. albicans*-қа қатысты антагонистік белсенділігін ұңғымадан диффузия әдісімен

зерттеу нәтижесінде, үй қымызы үлгілері ашытқының өсуін тиімді тоқтатқанын көрсетті. Өртүрлі қымыз үлгілерінің микроорганизмдерінің ассоциациясы сиыр сүтіне және сүт сарысуына жүйелі егу кезінде антагонистік белсенділігін сақтап қалды. Сиыр сүтінде өсірген кезде, бұл ассоциациялар *C. krusei* 25 қатысты жоғары белсенділік көрсетті. *C. glabrata* 589-ға қарсы неғұрлым жоғары антагонистік белсенділікті сарысуда өсіру кезінде үш ассоциация көрсетті. Ең перспективалық ассоциацияларды MRS қоректік ортасына еккеннен кейін, колониялардың өртүрлі морфологиялық түрлерінен 41 бактериялар изоляттары бөлініп алынды, олардың 28-і сүт қышқылды бактериялар, ал қалғандары, шамамен, сірке қышқылы микроорганизмдері болып табылады. Сондай-ақ, 34 ашытқы изоляттары бөлінді.

Біздің зерттеулерде алғашқы *Candida* туысы ашытқыларының өсуін тежейтін, сонымен бірге, сүт қышқылды бактериялардың метаболиттеріне (*C. albicans* ішек және қынап изоляттары), сондай-ақ саңырауқұлақтарға қарсы антибиотиктерге (*C. glabrata* 589 және *C. krusei* 25) тұрақтылықтың жоғары дәрежесін көрсететін сүт қышқылды микроорганизмдердің байырғы штамдары бөлініп алынды. Таңдалып алынған микроорганизмдер консорциумдарын жасауға *Candida* туысы ашытқыларына қатысты саңырауқұлақтарға қарсы белсенділікке ие, функционалды сусындарға ашытқы ретінде қолданылады.

Түйін сөздер: қымыз, сүт қышқылы бактериялар, *Candida*-ға қарсы белсенділік

Введение

Дрожжи рода *Candida* в норме относятся к комменсальным представителям микрофлоры кожной и слизистой поверхностей человека, их находят в кале – у 65 – 80% населения стран Европы [1, 2]. Любое нарушение в окружающей среде может способствовать возникновению поверхностных форм кандидоза (полости рта, пищевода, вульвы и влагалища), протекающих с поражением слизистых оболочек, и их количество постоянно растет [3, 4]. В условиях иммунной дисфункции человека и усиленного размножения дрожжей, происходит их вторжение в кровоток, инфицирование разных органов и формирование широкого спектра тяжелых заболеваний вплоть до летального исхода [5].

Наиболее экологически обоснованным способом контроля патогенных микроорганизмов является привлечение их естественных антагонистов. Общеизвестными антагонистами грибов являются молочнокислые бактерии, подкисляющие среду и продуцирующие некоторые вторичные метаболиты, увеличивающие пищевую и биологическую ценность, а также сохранность ферментированных пищевых продуктов [6-11]. Большинство штаммов рода *Lactobacillus* способствуют укреплению здоровья человека и животных, вступая в полезные взаимоотношения с кишечной микробиотой [12, 13].

Рост числа заболеваний кандидомикозами с летальным исходом, возрастающая устойчивость их возбудителей к противогрибковым препаратам, а также их вредные побочные эффекты, вызывают необходимость выявления новых более эффективных противогрибковых средств, в том числе на основе натуральных продуктов.

С использованием *Lactobacillus* уже получены пробиотики, обосновывающие их полезность в качестве дополнительного терапевтического воздействия против кандидозных инфекций слизистых оболочек [14-18]. Молочнокислые микроорганизмы, входящие в пробиотики, выгодно отличаются от химических противогрибковых препаратов тем, что они не только конкурируют с патогенами за питательные вещества и рецепторы, предотвращая вредное воздействие патогенов и продуцируя бактериоцины, перекись водорода, органические кислоты, пептиды и другие белковые соединения, но также участвуют в модуляции иммунного ответа посредством увеличения неспецифической фагоцитарной активности [19, 20].

Большое разнообразие продуктов метаболизма, проявляющих противогрибковый эффект, равно как и другие полезные свойства этих бактерий, требует более углубленного их изучения, а главное, выделения новых штаммов-продуцентов [21-23]. Микрофлора казахских национальных кисломолочных напитков, оказывающих оздоровительное воздействие на организм человека, привлекает пристальный интерес [24-29], однако, как антагонисты дрожжей рода *Candida* ее представители исследованы не были.

В нашей предыдущей работе была показана зависимость обнаружения противогрибковой активности молочнокислых бактерий от используемого метода [30]. Наиболее часто выявляется противогрибковая активность молочнокислых бактерий при использовании метода агаровых слоев. Метод двухслойного агара традиционно используется для скрининга противогрибковых соединений молочнокислых бактерий и хорошо подходит для обнаружения их в надосадочных

жидкостях [11, 21, 31, 32]. Однако он не предполагает наличие клеточного контакта между штаммами антагониста и тестовой культуры и является менее пригодным для отбора микроорганизмов пробиотиков, чем метод диффузии из лунок. Особую важность при отборе антагонистически активных молочнокислых бактерий клеточный контакт между условно-патогенными дрожжами и тестируемыми микроорганизмами приобретает в связи с данными об инверсии антагонизма ряда микроорганизмов, в том числе молочнокислых бактерий, компонентами грибковых клеточных стенок, особенно дрожжей рода *Candida* [33].

Ранее нами были отобраны молочнокислые бактерии из казахских национальных напитков шубат и кумыс. Однако антагонистическая активность чистых культур выделенных микроорганизмов в отношении *C. albicans* не сохранялась при их поддержании и хранении на коровьем молоке и среде MRS (de Man, Rogosa and Sharpe).

Целью настоящей работы было выделение потенциально пробиотических микроорганизмов, проявляющих антагонизм в отношении дрожжей *C. albicans*, для создания активных заквасок для получения функциональных напитков с направленным противогрибковым действием, способствующих элиминации из организма человека дрожжей рода *Candida*. Представляла интерес также возможность выявления микроорганизмов, антагонистически активных в отношении устойчивых к флуконазолу вагинальных изолятов дрожжей *C. krusei* и *C. glabrata*. Для этого предполагалось провести предварительный отбор кисломолочных продуктов, микрофлора которых обладает антагонистической активностью в отношении условно-патогенных дрожжей рода *Candida* и сохраняет ее при последовательных пересевах на молоке и молочной сыворотке.

Материалы и методы исследования

Для выделения молочнокислых микроорганизмов отобрано 24 образца домашнего молока, сливок, сметаны, катыка, кефира, кумыса и шубата от различных производителей Алматинской области Республики Казахстан.

Образцы продуктов предварительно проверяли на наличие антагонистической активности в отношении *C. albicans*. Для этого в предварительно расплавленную и охлажденную до 45°C питательную среду Сабура (г/л: глюкоза 40,0; пептон 10,0; агар-агар 18,0) вносили суспен-

зию тестовой культуры дрожжей, содержащей 1×10^5 КОЕ/мл, в количестве 1 мл на каждые 100 мл среды. Среду разливали по 25 мл на чашку Петри. После застывания среды на газоне тестовой культуры готовили лунки диаметром 10 мм. В каждую лунку вносили по 0,3 мл продукта. Чашки помещали в термостат при 37°C, инкубировали в течение 2 суток. О наличии антагонистической активности судили по наличию зон подавления роста дрожжей вокруг лунок [34].

Тест-культурами служили штаммы дрожжей *C. albicans*, ранее отобраные как наиболее устойчивые к антагонистическому воздействию молочнокислых бактерий среди имеющихся в коллекции микроорганизмов: кишечный изолят *C. albicans* 13К, вагинальный изолят *C. albicans* 514В, а также устойчивые к флуконазолу вагинальные изоляты дрожжей *C. krusei* 25 и *C. glabrata* 589.

Все эксперименты проводили в трех повторностях. Статистическую обработку результатов исследований производили по стандартной методике с использованием критерия Стьюдента [35]. Уровень значимости $p < 0,05$.

Продукты, проявившие антагонистическую активность в отношении *C. albicans*, подвергали серии ежедневных пересевов на коровьем молоке (жирн. 1,5%) и молочной сыворотке с регулярным (через 1, 3 и 5 суток) определением противогрибковой активности в отношении условно-патогенных дрожжей. Температура культивирования 37°C. Всего проведено 5 пассажей.

Из антагонистически активных при культивировании на коровьем молоке и молочной сыворотке консорциумов выделяли молочнокислые микроорганизмы высевом на плотную среду MRS из серии десятикратных разведений. Посевы инкубировали в течение 2-3 суток при температуре 37°C.

Культуры отбирали из колоний различных морфологических типов. Грам принадлежность отобранных бактерий выявляли с помощью теста Грегерсона [36]. Каталазную активность определяли по реакции с перекисью водорода. Морфологию клеток изучали на тринокулярном микроскопе LEICA DMLS с цифровой камерой LEICA DC 300F. Свертывание молока изучали инкубированием в молоке при 37°C.

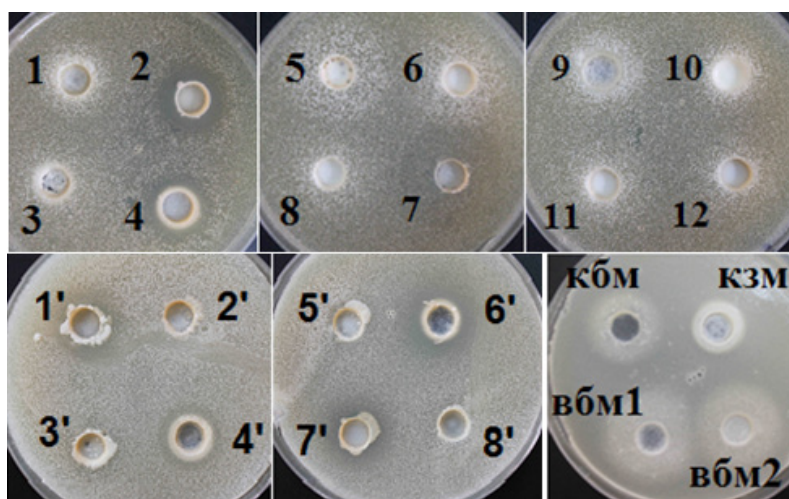
Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании влияния казахских национальных напитков, а также проб коровьего

молока, сливок, сметаны, катыка и кефира, на рост дрожжей *C. albicans* была подтверждена ранее нами установленная [30] стимуляция условно-патогенных дрожжей молочными и кисломолочными продуктами, что выразалось в их более активном росте вокруг лунок с внесенным продуктом, чем на остальном газоне. Эффект

может быть связан с использованием дрожжами в качестве дополнительного источника углерода лактозы и молочной кислоты.

Исключение составили образцы кумыса от различных изготовителей, которые обычно в той или иной степени подавляли рост дрожжей вокруг лунок (Рисунок 1).



1 – коровье молоко; 2 – кумыс I; 3 – шубат I; 4 – кумыс II; 5 – шубат II; 6 – шубат заводской; 7 – кумыс заводской I; 8 – катык; 9 – сметана; 10 – сливки; 11 – кефир заводской I; 12 – кефир заводской II; 1' – кумыс (кымызхана I); 2' – шубат (кымызхана I); 3' – кумыс III; 4' – кумыс (кымызхана II); 5' – шубат III; 6' – кумыс IV; 7' – кумыс V; 8' – кумыс заводской II; КБМ – кобылье молоко; КЗМ – козье молоко; ВБМ1 – верблюжье молоко 1; ВБМ2 – верблюжье молоко 2

Рисунок 1 – Влияние молочных и кисломолочных продуктов на рост кишечного изолята дрожжей *C. albicans* 13К

Заводские образцы кумыса обладали меньшей активностью по сравнению с домашним кумысом. Шубат в данном исследовании не проявил антагонистической активности в отношении *C. albicans*. Коровье, козье, кобылье, верблюжье молоко, сливки, сметана, катык и кефир стимулировали рост тест культуры вокруг лунок.

Образцы кумыса №№ 2, 4, 1', 6' и 7' были отобраны для дальнейшей работы. Их подвергали серии пересевов на коровьем молоке и молочной сыворотке с целью создания в дальнейшем функциональных напитков на основе сыворотки.

Было показано (Таблица 1), что антагонистическая активность в отношении дрожжей рода *Candida* сохраняется при последовательных пересевах на коровьем молоке и молочной сыворотке, хотя и снижается у некоторых консорциумов.

Степень подавления условно-патогенных дрожжей отобранными ассоциациями зависела от тестового штамма. В целом противогрибковая активность в отношении кишечного изолята *C. albicans* 13К была выше при первом пассаже ассоциаций кумыса на коровьем молоке предположительно вследствие сохранения влияния химического состава кобыльего молока на рост микроорганизмов и продукцию ими антагонистически активных веществ. При пересевах антагонизм ассоциаций снижался.

Адаптация ассоциаций к новой среде в целом способствовала повышению антагонизма относительно вагинального изолята *C. albicans* 514В. В наибольшей степени возростала противогрибковая активность у ассоциаций №1 и №4. Указанные различия могут свидетельствовать о различии действующих веществ и механизмов подавления различных штаммов дрожжей.

Таблица 1 – Антагонистическая активность консорциумов молочнокислых микроорганизмов в отношении условно-патогенных дрожжей *C. albicans* (мм)

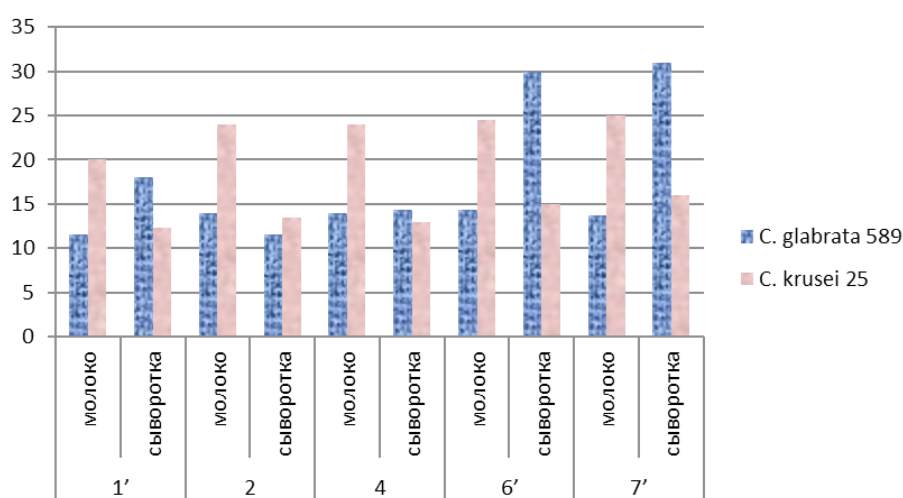
№	Среда	<i>C. albicans</i> 13K			<i>C. albicans</i> 514B		
		1 пассаж	3 пассаж	5 пассаж	1 пассаж	3 пассаж	5 пассаж
1'	молоко	17,3±0,3	22,0±0,2	16,0±1,0	10,5±0,5	17,0±0,5	15,0±0,5
	сыворотка	25,0±0,2	19,3±0,3	14,3±0,7	10,5±0,3	10,5±0,4	19,0±0,5
2	молоко	24,2±0,4	15,0±1,0	17,0±0,4	26,0±1,0	15,3±0,7	18,2±0,3
	сыворотка	24,3±0,7	17,1±0,4	10,5±0,5	14,0±1,0	15,0±0,5	16,3±0,3
4	молоко	25,0±0,1	13,0±0,1	18,0±0,1	18,0±0,1	13,0±1,0	14,0±0,1
	сыворотка	22,0±0,1	18,0±0,1	17,0±0,1	10,5±0,1	19,2±0,1	20,0±0,1
6'	молоко	20,5±0,5	21,0±0,1	13,3±0,3	13,0±0,1	18,0±0,3	16,3±0,7
	сыворотка	18,0±0,2	16,5±0,3	16,0±0,7	16,3±0,3	18,0±1,0	15,0±0,5
7'	молоко	21,0±0,2	21,0±0,1	14,1±0,2	15,0±0,5	17,1±0,3	17,0±0,3
	сыворотка	19,0±0,5	21,0±0,4	20,3±0,3	22,0±1,0	17,3±0,7	16,0±0,3

После серии пересевов на молоке и сыворотке ассоциации были проверены на антагонистическую активность в отношении вагинальных штаммов дрожжей *C. krusei* 25 и *C. glabrata* 589, устойчивых к флуконазолу, антагонисты в отношении которых не были ранее выявлены среди коллекционных молочнокислых бактерий (Рисунок 2).

Было выявлено, что все ассоциации при культивировании на коровьем молоке обладают повышенной активностью в отношении *C. krusei* 25. Наиболее высокую антагонистическую ак-

тивность в отношении *C. glabrata* 589 проявили ассоциации 1', 6' и 7' при культивировании на молочной сыворотке. Полученные данные

Из всех ассоциаций были отобраны микроорганизмы для дальнейшего исследования. На среде MRS был выявлен рост грамположительных каталазонегативных колоний, грамотрицательных каталазоположительных колоний, а также различных видов дрожжей. Морфология колоний микроорганизмов ассоциаций кумыса на среде MRS представлена на рисунке 3.



ось абсцисс – диаметр зон подавления роста дрожжей (мм); ось ординат – ассоциации

Рисунок 2 – Антагонистическая активность ассоциаций молочнокислых микроорганизмов в отношении флуконазол-устойчивых дрожжей *C. krusei* 25 и *C. glabrata* 589



Рисунок 3 – Морфология колоний бактериальных и дрожжевых микроорганизмов ассоциаций кумыса, антагонистически активных в отношении *C. albicans*

Всего выделен 41 изолят бактерий и 34 изолята дрожжей. 28 бактерий грамположительны и каталазонегативны, подкисляют молоко, то есть являются молочнокислыми микроорганизмами. Среди них преобладают палочки, расположенные обычно одиночно попарно и в цепочках различной длины. Выделено всего 4 кокковых микроорганизма. Каталазопозитивные грамотрицательные бактерии, вероятно, относятся к уксуснокислым бактериям, наличие которых в кумысе показано рядом авторов [25, 27-28].

Среди дрожжевых микроорганизмов выявлено несколько морфологических типов колоний. Все дрожжи образуют аскоспоры. Образование мицелия и псевдомицелия не выявлено, несмотря на вращение в агаризованную среду колоний значительной части изолятов.

Заключение

С целью разработки функциональных кисломолочных продуктов с направленным противогрибковым действием, способствующим элиминации из организма человека дрожжей рода *Candida*, была исследована микрофлора молочных продуктов местного производства на предмет выявления молочнокислых бактерий-антагонистов. Предварительная проверка продуктов на наличие антагонистической активности позволила определить наиболее активные

образцы кумыса для выделения антагонистов *Candida*. Наибольшей противогрибковой активностью обладали образцы кумыса домашнего изготовления. Выявленная антагонистическая активность сохранялась при пересевах ассоциаций микроорганизмов кумыса, как на молоке, так и на молочной сыворотке. Культивирование ассоциаций на двух средах позволило получить ассоциации, проявляющие активность в отношении флуконазол-устойчивых штаммов дрожжей *C. krusei* 25 и *C. glabrata* 589. Из различных образцов кумыса выделено 28 молочнокислых бактерий и 34 изолята дрожжей, которые будут использованы в дальнейшей работе для создания консорциумов и разработки на их основе напитков способствующих элиминации дрожжей рода *Candida* из пищеварительного тракта человека. Получены новые данные об анти-*Candida* активности естественных консорциумов казахского национального напитка кумыса.

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках проекта AP05132352, финансируемого Министерством образования и науки Республики Казахстан.

Конфликт интересов

Авторы не имеют конфликтов интересов.

Литература

- 1 Шевяков М.А. Диагностика и лечение кандидоза кишечника // *Терапевтический архив*, 2003, №11. – С. 77-79.
- 2 Gouba N., Drancourt M. Digestive tract mycobiota: A source of infection // *Médecine et maladies infectieuses*. – 2015. – Vol. 45. – P. 9–16.
- 3 Coogan M.M., Fidel P.L., Komesu M.C., Maeda L.P. Candida and mycotic infections // *Adv. Dent. Res.* – 2006. – Vol. 19. – P. 130-138.
- 4 Clark T. A., Hajjeh R. A. Recent trends in the epidemiology of invasive mycoses // *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2002. – Vol. 15. – P. 569–574.
- 5 Segal E. Candida, still number one – what do we know and where are we going from there? // *Mycoses*. – 2005. – Vol. 48, Issue s1. – P. 3-11.
- 6 Jyoti B., Suresh A.K., Venkatesh K. Diacetyl production and growth of *Lactobacillus rhamnosus* on multiple substrates // *World J Microbiol Biotechnol.* – 2003. – Vol. 19. – P. 509–515.
- 7 Lanciotti R., Patrignani F., Bagnolini F., Guerzoni M.E., Gardini F. Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* // *Food Microbiol.* – 2003. – Vol. 20. – P. 537–543.
- 8 Schnürer, J., Magnusson J. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives // *Trends Food Sci. Technol.* – 2005. – Vol. 16. – P. 70–78.
- 9 Dalié D.K.D., Deschamps A.M., Richard-Forget F. Lactic acid bacteria—Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review // *Food Control*. – 2010. – Vol. 21. – P. 370–380.
- 10 Crowley S., Mahony, J., van Sinderen D. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives // *Trends Food Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 33. – P. 93–109.
- 11 Le Lay C., Coton E., Le Blay G., Chobert J. M., Haertlé Th., Choiset Y., Van Long N. N., Meslet-Cladière L., Mounier J. Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria // *International Journal of Food Microbiology*. – 2016. – Vol. 239. – P. 79-85.
- 12 Pothuraju R., Sharma R.K. Interplay of gut microbiota, probiotics in obesity: a review // *Endocrine, metabolic and immune disorders-drug targets*. – 2018. – Vol. 18. – P. 212–220.
- 13 Vijayaram S., Kannan S. Probiotics: the marvelous factor and health benefits // *Biomed Biotechnol Res J.* – 2018. – Vol. 2. – P. 1–8.
- 14 Wagner R.D., Johnson S.J. Probiotic *Lactobacillus* and estrogen effects on vaginal epithelial gene expression responses to *Candida albicans* // *J Biomed Sci.* – 2012. – Vol. 19. – P. 58.
- 15 Ranadheera C.S., Evans C. A., Adams M. C., Baines S. K. Effect of dairy probiotic combinations on in vitro gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion // *J Funct Foods*. – 2014. – Vol. 8. – P. 18–25.
- 16 Matsubara V. H., Wang Y., Bandara H. M., Mayer M. P., Samaranayake L. P. Probiotic *Lactobacilli* inhibit early stages of *Candida albicans* biofilm development by reducing their growth, cell adhesion, and filamentation // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2016. – Vol. 100(14). – P. 6415-6426.
- 17 Tan Y., Leonhard M., Moser D., Ma S., Schneider-Stickler B. Inhibitory effect of probiotic *Lactobacilli* supernatants on single and mixed non-albicans *Candida* species biofilm // *Archives of Oral Biology*. – 2018. – Vol. 85. – P. 40-45.
- 18 Aartia Ch., Khusroa A., Vargheseb R., Arasuc M. V., Agastiana P., Al-Dhabib N. A., Ilavenild S., Choid K. Ch. // In vitro investigation on probiotic, anti-Candida, and antibiofilm properties of *Lactobacillus pentosus* strain LAP1 // *Archives of Oral Biology*. – 2018. – Vol. 89. – P. 99-106.
- 19 Cross M. L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic *Lactobacilli* and their role in protection against microbial pathogens // *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. – 2002. – Vol. 34, Issue 4. – P. 245-253.
- 20 Kanmani P., Kumar R. S., Yuvaraj N., Paari K.A., Pattukumar V., Arul V. Probiotics and its functionally valuable products-a review // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2013. – Vol. 53. – P. 641e658.
- 21 Delavenne E., Mounier J., Déniel F., Barbier G., Le Blay G. Biodiversity of antifungal lactic acid bacteria isolated from raw milk samples from cow, ewe and goat over one-year period // *Int J Food Microbiol.* – 2012. – Vol. 155(3). – P.185-190.
- 22 Song Y. G., Lee S. H. Inhibitory effects of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei* on *Candida* biofilm of denture surface // *Arch Oral Biol.* – 2017. – Vol. 76. – P. 1-6.
- 23 Prabhurajeshwar C., Chandrakanth R.K. Probiotic potential of *Lactobacilli* with antagonistic activity against pathogenic strains: an in vitro validation for the production of inhibitory substances // *Biom J.* – 2017. – Vol. 40. – P. 270–283.
- 24 Шигаева М.Х., Оспанова М.Ш. Микрофлора национальных кисломолочных напитков. – Алма-Ата: Наука, 1983. – 150 с.
- 25 Ермолаева А.Н., Алгожина У.Ж., Тен О.А., Балпанов Д.С. Изучение культур молочнокислых микроорганизмов, выделенных из кумыса различных регионов Северного Казахстана // *Биотехнология. Теория и практика*. – 2012. – №3. – С. 87-90.
- 26 Баубекова А.С., Конуспаева Г.С., Ахметсадыкова Ш.Н., Ахметсадыков Н.Н. Подготовка промышленного производства заквасок– выделение и идентификация бактерий для кумыса и шубата // *Вестник КазНУ. Серия биологическая*. №1/2 (60). – 2014. – С. 178-181.
- 27 Ringo E., Andersen R., Sperstad S., Zhou Zh., Ren P., Breines E.M., Hareide E., Yttergård G.J., Opsal K., Johansen H.M., Andreassen A.K., Kousha A., Godfroid J., Holzapfel W. Bacterial Community of koumiss from Mongolia investigated by culture and culture-independent methods // *Food Biotechnology*. – 2014. – Vol. 28. – P. 333–353.

- 28 Yao G., Yu J., Hou Q., Hui W., Liu W., Kwok L.-Y., Menghe B., Sun T., Zhang H., Zhang W. A Perspective Study of Koumiss Microbiome by Metagenomics Analysis Based on Single-Cell Amplification Technique // *Frontiers in microbiology*. – 2017. – Vol. 8. – Art. 165.
- 29 Behera S.K., Panda S.K., Kayitesi E., Mulaba-Bafubandi A.F. Kefir and Koumiss. Origin, Health Benefits and Current Status of Knowledge // Ramesh C. Ray and Didier Montet (eds.) *Fermented Food—Part II: Technological Interventions*. – Boca Raton, London, New York: CRC Press, 2017. – P. 400-417.
- 30 Oleinikova E.A., Aitzhanova A.A., Saubenova M.G., Amangeldy A.A., Kebekbaeva, Elubaeva M.E. Isolation and selection of lactic acid bacteria antagonistically active against opportunistic *Candida* yeast // *Микробиология және вирусология*. – 2018. – № 3(22). – С. 103-109.
- 31 Magnusson J., Schnurer J. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound // *Applied Environ. Microbiol.* – 2001. – Vol. 67. – P. 1-5.
- 32 Иркитова А.Н., Каган Я.Р., Соколова Г.Г. Сравнительный анализ методов определения антагонистической активности молочнокислых бактерий // *Известия Алтайского государственного университета*. – 2012. – № 3-1. – С. 41-44.
- 33 Черкасов С.В., Семенов А.В. Микробная регуляция антагонистической активности лактобактерий // *Сибирский медицинский журнал*. – 2012. – №2. – С. 78-82.
- 34 Иркитова А.Н., Каган Я.Р., Соколова Г.Г. Сравнительный анализ методов определения антагонистической активности молочнокислых бактерий // *Известия АлтГУ*. – 2012. – №3-1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitelnyy-analiz-metodov-opredeleniya-antagonisticheskoy-aktivnosti-molochnokislyh-bakteriy>
- 35 Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1998. – С. 459.
- 36 Лысак, В. В. *Микробиология. Практикум: пособие* / В. В. Лысак, Р. А. Желдакова, О. В. Фомина. – Минск : БГУ, 2015. – С. 34.

References

- 1 Shevjakov M.A. (2003) Diagnostika i lechenie kandidoza kishchechnika [Diagnosis and treatment of intestinal candidiasis]. *Terapevticheskij arhiv*, no 11, pp. 77-79.
- 2 Gouba N., Drancourt M. (2015) Digestive tract mycobiota: A source of infection. *Médecine et maladies infectieuses*, vol. 45, pp. 9–16.
- 3 Coogan M.M., Fidel P.L., Komesu M.C., Maeda L.P. (2006) *Candida* and mycotic infections. *Adv. Dent. Res.*, vol. 19, pp. 130-138.
- 4 Clark T. A., Hajjeh R. A. (2002) Recent trends in the epidemiology of invasive mycoses. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, vol. 15, pp. 569–574.
- 5 Segal E. (2005) *Candida*, still number one – what do we know and where are we going from there? *Mycoses*, vol. 48, Issue s1, pp. 3-11.
- 6 Jyoti B., Suresh A.K., Venkatesh K. (2003) Diacetyl production and growth of *Lactobacillus rhamnosus* on multiple substrates. *World J Microbiol Biotechnol.*, vol. 19, pp. 509–515.
- 7 Lanciotti R., Patrignani F., Bagnolini F., Guerzoni M.E., Gardini F. (2003) Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Food Microbiol.*, vol. 20, pp. 537–543.
- 8 Schnürer, J., Magnusson J. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives (2005) *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 16, pp. 70–78.
- 9 Dalié D.K.D., Deschamps A.M., Richard-Forget F. (2010) Lactic acid bacteria—Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control.*, vol. 21, pp. 370–380.
- 10 Crowley S., Mahony, J., van Sinderen D. (2013) Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural biopreservatives. *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 33, pp. 93–109.
- 11 Le Lay C., Coton E., Le Blay G., Chobert J. M., Haertlé Th., Choiset Y., Van Long N. N., Meslet-Cladière L., Mounier J. (2016) Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria. *International Journal of Food Microbiology.*, vol. 239, pp. 79-85.
- 12 Pothuraju R., Sharma R.K. (2018) Interplay of gut microbiota, probiotics in obesity: a review. *Endocrine, metabolic and immune disorders-drug targets*, vol. 18, pp. 212–220.
- 13 Vijayaram S., Kannan S. Probiotics: the marvelous factor and health benefits (2018) *Biomed Biotechnol Res J.*, vol. 2, pp. 1–8.
- 14 Wagner R.D., Johnson S.J. (2012) Probiotic *Lactobacillus* and estrogen effects on vaginal epithelial gene expression responses to *Candida albicans*. *J Biomed Sci.*, vol. 19, pp. 58.
- 15 Ranadheera C.S., Evans C. A., Adams M. C., Baines S. K. (2014) Effect of dairy probiotic combinations on in vitro gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. *J Funct Foods.*, vol. 8, pp. 18–25.
- 16 Matsubara V. H., Wang Y., Bandara H. M., Mayer M. P., Samaranyake L. P. (2016) Probiotic *Lactobacilli* inhibit early stages of *Candida albicans* biofilm development by reducing their growth, cell adhesion, and filamentation. *Appl Microbiol Biotechnol.*, vol. 100(14), pp. 6415-6426.
- 17 Tan Y., Leonhard M., Moser D., Ma S., Schneider-Stickler B. (2018) Inhibitory effect of probiotic *Lactobacilli* supernatants on single and mixed non-*albicans Candida* species biofilm. *Archives of Oral Biology.*, vol. 85., pp. 40-45.

- 18 Aartia Ch., Khusroa A., Vargheseb R., Arasuc M. V., Agastiana P., Al-Dhabic N. A., Ilavenild S., Choid K. Ch. (2018) In vitro investigation on probiotic, anti-Candida, and antibiofilm properties of *Lactobacillus pentosus* strain LAP1.. *Archives of Oral Biology*, vol. 89, – pp. 99-106.
- 19 Cross M. L. (2002) Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, vol. 34, Issue 4, pp. 245-253.
- 20 Kanmani P., Kumar R. S., Yuvaraj N., Paari K.A., Pattukumar V., Arul V. (2013) Probiotics and its functionally valuable products-a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 53, pp. 641e658.
- 21 Delavenne E., Mounier J., Déniel F., Barbier G., Le Blay G. (2012) Biodiversity of antifungal lactic acid bacteria isolated from raw milk samples from cow, ewe and goat over one-year period. *Int J Food Microbiol.*, vol. 155(3), pp.185-190.
- 22 Song Y. G., Lee S. H. (2017) Inhibitory effects of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei* on *Candida* biofilm of denture surface. *Arch Oral Biol.*, vol. 76, pp. 1-6.
- 23 Prabhurajeshwar C., Chandrakanth R.K. (2017) Probiotic potential of *Lactobacilli* with antagonistic activity against pathogenic strains: an in vitro validation for the production of inhibitory substances. *Biom J*, vol. 40, pp. 270–283.
- 24 Shigaeva M.H, Ospanova M.Sh. (1983) Микрофлора национал'ных кисломолочных напитков [Microflora of national fermented milk drinks]. Alma-Ata: Nauka. 150 s.
- 25 Ermolaeva A.N., Algozhina U.Zh., Ten O.A., Balpanov D.S. (2012) Изучение культур молочнокислых микроорганизмов, выделенных из кумыса различных регионов Северного Казахстана [Study of cultures of lactic acid microorganisms isolated from koumiss from various regions of Northern Kazakhstan]. *Biotechnologija. Teorija i praktika*, no 3, pp. 87-90.
- 26 Baubekova A.S., Konuspaeva G.S., Ahmetsadykova Sh.N., Ahmetsadykov N.N. (2014) Podgotovka promyshlennogo proizvodstva zakvasok– vydelenie i identifikacija bakterij dlja kumysa i shubata [Preparation of starter industrial production – isolation and identification of bacteria for koumiss and shubat]. *Vestnik KazNU. Serija biologicheskaja*, no 1/2 (60), pp. 178-181.
- 27 Ringo E., Andersen R., Sperstad S., Zhou Zh., Ren P., Breines E.M., Hareide E., Yttergård G.J., Opsal K., Johansen H.M., Andreassen A.K., Kousha A., Godfroid J., Holzapfel W. Bacterial (2014) Community of koumiss from Mongolia investigated by culture and culture-independent methods. *Food Biotechnology*, vol. 28, pp. 333–353.
- 28 Yao G., Yu J., Hou Q., Hui W., Liu W., Kwok L.-Y., Menghe B., Sun T., Zhang H., Zhang W. (2017) A Perspective Study of Koumiss Microbiome by Metagenomics Analysis Based on Single-Cell Amplification Technique. *Frontiers in microbiology*, vol. 8, Art. 165.
- 29 Behera S.K., Panda S.K., Kayitesi E., Mulaba-Bafubiani A.F. (2017) Kefir and Koumiss. Origin, Health Benefits and Current Status of Knowledge. In: Ramesh C. Ray and Didier Montet (eds.) *Fermented Food—Part II: Technological Interventions*. Boca Raton, London, New York: CRC Press, pp. 400-417.
- 30 Oleinikova E.A., Aitzhanova A.A., Saubenova M.G., Amangeldy A.A., Kebekbaeva, Elubaeva M.E. (2018) Isolation and selection of lactic acid bacteria antagonistically active against opportunistic *Candida* yeast. *Mikrobiologija zhəne virusologija*, no. 3(22), pp. 103-109.
- 31 Magnusson J., Schnurer J. (2001) *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied Environ. Microbiol.*, vol. 67, pp. 1-5.
- 32 Irkitova A.N., Kagan Ja.R., Sokolova G.G. (2012) Sravnitel'nyj analiz metodov opredelenija antagonisticheskoy aktivnosti molochnokislyh bakterij [Comparative analysis of methods for determining the antagonistic activity of lactic acid bacteria]. *Izvestija Altajskogo gosudarstvennogo universiteta*, no 3-1, pp. 41-44.
- 33 Cherkasov S.V., Semenov A.V. (2012) Mikrobnaja reguljacija antagonisticheskoy aktivnosti laktobakterij [Microbial regulation of the antagonistic activity of lactobacilli]. *Sibirskij medicinskij zhurnal*, no 2, pp. 78-82.
- 34 Irkitova A.N., Kagan Ja.R., Sokolova G.G. (2012) Sravnitel'nyj analiz metodov opredelenija antagonisticheskoy aktivnosti molochnokislyh bakterij [Сравнительный анализ методов определения антагонистической активности молочнокислых бактерий]. *Izvestija AltGU*, no 3-1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitelnyu-analiz-metodov-opredeleniya-antagonisticheskoy-aktivnosti-molochnokislyh-bakteriy>
- 35 Glanc S. (1998) *Mediko-biologicheskaja statistika [Медико-биологическая статистика]*. М., *Praktika*, pp. 459.
- 36 Lysak, V. V. (2015) *Микробиологija. Praktikum: posobie [Микробиология. Практикум: пособие]* / V. V. Lysak, R.A. Zheldakova, O. V. Fomina. – Minsk : BGU, P. 34.

Belkozhaev A.M.¹, Niyazova R.E.², Ivashchenko A.T.³

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: ayaz_jarkent@mail.ru

^{2,3}Scientific Research Institute of Biology and Biotechnology Problems, Kazakhstan, Almaty

THE PREDICTION OF miRNAS BINDING SITES IN CDS mRNA GENES HAVING TRINUCLEOTIDE REPEATS

In human diseases and physiology, the function of miRNAs is expanding; however, especially nucleotide repeats disorder the majority of miRNA – driven regulatory structure is remaining uncertain. The aim of this work is to reveal which candidate genes of nucleotide repeat diseases and in which degrees can interact with miRNA. We present results on the interaction of 2567 miRNAs with mRNA 102 candidate genes of having nucleotide repeats using the MirTarget program. miRNAs binding sites in the CDS mRNAs of 36 genes from 102 candidate genes with nucleotide repeats have been shown. Among miRNAs that bind with high energy to mRNA genes with nucleotide repeats, we choose five miRNAs that have binding sites for two or more genes: miR-3656 (ARX, EP400, HTT, NCOR2); miR-3960 (ARX, CACNA11, HTT); miR-1322 (ATN, EP400, GIGYF2, HTT, NCOR2); miR-1281 (CACNA11, HRC, HTT); miR-4279 (CACNA11, NCOR2). It was determined that considering miRNAs binding sites are located mainly in regions with CAG, GCG, GAG repeats. Neurological disorders are known to be caused by an increased number of CAG, GCG, GAG repeats, typically in coding regions of otherwise unrelated proteins. Better understanding of interaction specificity of miRNAs and genes promises to offer further insights into the pathogenic pathways of trinucleotide repeats expansion disorders.

Key words: miRNA, mRNA, coding sequence, binding site, trinucleotide repeat.

¹Белкожаев А.М., ²Ниязова Р.Е., ³Иващенко А.Т.

¹Ал-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, г. Алматы, e-mail: ayaz_jarkent@mail.ru

^{2,3}Биология және биотехнология мәселелері ғылыми-зерттеу институты, Қазақстан, г. Алматы

Тринуклеотидтік қайталымдары бар гендердің mRNA-МЕН miRNA-ның CDS-те байланысуының болжамы

Адамның ауруларында және физиологиясында miRNA – ның фунуциясы кеңейе түсуде, дегенмен әсіресе нуклеотидтік қайталымдардың бұзылысы miRNA негізіндегі реттеуші құрылымның көпшілігі анықталмаған болып қалады. Нуклеотидті қайталану бұзылыстарының кеңейі емделмейтін және ақырында өлімге әкеліп соғатын, басым көпшілігі тұқым қуалайтын неврологиялық аурулардың тобын құрайды. Сондықтан нуклеотидті қайталанатын аурулардың кандидат гендерін және қандай деңгейде miRNA-мен өзара әрекеттесе алатындығын анықтау қажет. Осыған байланысты MirTarget бағдарламасының көмегімен нуклеотидті қайталанатын 102 кандидатты гендердің mRNA- мен 2567 miRNA- дың өзара әрекеттесу нәтижелері көрсетілді. Нуклеотидтік қайталымдары бар 102 кандидат гендердің 36 гендерінің mRNA – мен miRNA – ның CDS – те байланысуы анықталды. Нуклеотидтік қайталымдары бар гендердің mRNA-мен жоғарғы энергияда байланысатын 5 miRNA – лар таңдап алынды: miR-3656 (ARX, EP400, HTT, NCOR2); miR-3960 (ARX, CACNA11, HTT); miR-1322 (ATN, EP400, GIGYF2, HTT, NCOR2); miR-1281 (CACNA11, HRC, HTT); miR-4279 (CACNA11, NCOR2). miRNA – лардың байланысатын аймақтары негізінен CAG, GCG, GAG қайталанатын аумақтарда орналасқаны анықталды. Неврологиялық бұзылыстар CAG, GCG, GAG қайталану санының артуымен, әдетте кодтау аймақтарында басқа да байланыссыз белоктардың пайда болуымен байланысты. miRNA – дың және гендердің өзара әрекеттесу ерекшеліктерін жақсы түсіну тринуклеотидтік қайталанатын бұзылулардың патогендік жолдарымен танысуға мүмкіндік береді.

Түйін сөздер: miRNA, mRNA, кодталатын тізбек, байланысатын сайт, тринуклеотидті қайталым.

¹Белкожаев А.М., ²Ниязова Р.Е., ³Иващенко А.Т.

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, Алматы к., e-mail: ayaz_jarkent@mail.ru

^{2,3}Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии, Казахстан, Алматы к.

Предсказывание сайтов связывания miRNA в CDS mRNA генов имеющих тринуклеотидные повторы

В изучении болезней и физиологии человека функция miRNA расширяется, однако роль miRNA при нарушениях, связанных с нуклеотидными повторами, остается неопределенной. Нарушения нуклеотидных повторов представляют собой группу доминантно наследуемых неврологических заболеваний, которые неизлечимы и в конечном итоге приводят к летальному исходу. Следовательно, необходимо выявить, какие гены-кандидаты заболеваний, связанных с нуклеотидными повторами и в какой степени могут взаимодействовать с miRNA. В связи с этим, мы представляем результаты по предполагаемым взаимодействиям 2567 miRNA с mRNA 102 генов-кандидатов, имеющих нуклеотидные повторы, полученные с использованием программы MirTarget. Показаны сайты связывания miRNA в mRNA CDS 36 генов из 102 генов-кандидатов с нуклеотидными повторами. Среди miRNA, связывающихся с высокой энергией взаимодействия с генами, имеющих нуклеотидные повторы, мы выбрали пять miRNA, которые имеют сайты связывания для двух или более генов: miR-3656 (ARX, EP400, HTT, NCOR2); miR-3960 (ARX, CACNA11, HTT); miR-1322 (ATN, EP400, GIGYF2, HTT, NCOR2); miR-1281 (CACNA11, HRC, HTT); miR-4279 (CACNA11, NCOR2). Установлено, что рассматриваемые сайты связывания miRNA расположены в основном в областях, имеющих повторы CAG, GCG, GAG. Известно, что неврологические расстройства вызваны повышенным количеством повторов CAG, GCG, GAG, обычно в кодирующих областях других неродственных белков. Лучшее понимание специфичности взаимодействия miRNA и генов обещает более детально рассмотреть патогенные пути нарушений экспансии тринуклеотидных повторов.

Ключевые слова: miRNA, mRNA, кодирующая последовательность, сайт связывания, тринуклеотидный повтор.

Abbreviations

mRNA – messenger ribonucleic acids; CDS – coding sequence; UTR – untranslated region; TRED – triplet repeat expansion diseases; FXTAS – fragile X-associated tremor/ataxia syndrome; SCA – several spinocerebellar ataxias; FRDA – Friedreich's ataxia; DM1 – dystrophy Myotonic 1; HD – Huntington disease

1. Introduction

About half of the human genome is composed of repeated sequences of various types; of these, short tandem repeats, such as trinucleotide repeats, represent a substantial portion [1]. Of these, specific trinucleotide repeats located in non-coding and coding regions of individual genes implicated in these disorders are strongly over-represented [2]. Short tandem repeats act as a trigger in over 20 neurodegenerative and neuromuscular human disorders collectively known as triplet repeat expansion diseases (TREDs). These disorders include fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS), several spinocerebellar ataxias (SCA), Huntington disease (HD), dentatorubral-pallidoluysian atrophy (*DRPLA*), Friedreich's ataxia (FRDA) and dystrophy Myotonic 1 (DM1) [3, 4].

FXTAS is a neurodegenerative disorder characterized by progressive intention tremor (parkinsonism), gait ataxia and cognitive decline. An expansion of CGG trinucleotide repeats in the 5'-UTR of *FMRI* causes different neuropathological conditions based on the number of CGG repeats [5,6].

Specific links between miRNA (mRNA-inhibitory RNA) regulation and SCAs have been described in several studies. Specifically, the research on SCA1 has revealed that some miRNAs can regulate the level of *ATXN1* protein. It has been reported that miR-19a, miR-101, and miR-130a may bind to the 3'UTR of *ATXN1* and suppress the translation of *ATXN1* [7,8]. SCA1 is a dominantly inherited and fatal neurodegenerative disease resulting from an over expansion of CAG repeats within the *Ataxin-1 (ATXN1)* gene [9].

HD is a dominantly inherited progressive neurodegenerative disorder that results from a mutation that expands the polymorphic trinucleotide (CAG) tract in *HTT*. The average control CAG tract size in the general population is 17–20 repeats. However, in HD patients, one of the two copies of the gene has a CAG tract that has expanded to 36 repeats or more [10]. All these diseases have a predominantly hereditary component and are characterized by the expansion of existing

trinucleotide repeats upon transmission from parent to off-spring [11].

The profile of miRNAs in CAG trinucleotide repeat disorders is scarcely described. However, miRNA dysregulation has been identified in these diseases, and miRNA-related interference with gene expression is considered to be involved in their pathogenesis. A better understanding of microRNAs functions and means of manipulation promises to offer further insights into the pathogenic pathways of CAG repeat expansion disorders, to point out new potential targets for drug intervention and to provide some of the much needed etiopathogenic therapeutic agents [12,13].

Recent studies have demonstrated that interest in miRNA biogenesis and function is growing rapidly and that deep-sequencing technologies in combination with various micro array analyses have become routinely used in the investigation of short RNAs, including studies on miRNA deregulation in trinucleotide repeat expansion disorders [14].

Regulatory miRNAs play a fundamental role in the majority of biological processes, such as cell development, proliferation, differentiation, apoptosis and signal transduction. However, the biological function of most miRNAs remains to be uncovered [15]. Both the altered miRNA expression and the deregulation of genes controlled by miRNAs have been linked to many disorders, such as cancer and cardiovascular, metabolic, and neurological disorders, including trinucleotide repeat expansion disorders [16].

Neurons exhibit considerable sensitivity to mutations in huntingtin containing an elongated polyQ chain. Global changes in gene expression induced by the presence of the mutations in huntingtin as well as the widespread changes in neuronal miRNAs levels have been described in HD patients [17]. Therefore, miRNA deregulation has been recognized as a hallmark of HD and other polyQ diseases. These candidate genes may be targets for miRNA (mRNA-inhibiting RNA) that regulate their expression. It is impossible to experimentally identify how a well-known miRNA can interact with more than 20,000 genes and their isoforms. Therefore, it is required with the help of computational technologies to predict the target genes of certain miRNAs and then to test them experimentally. The purpose of this work is to establish the characteristics of the interaction of miRNAs included in the miRBase with mRNA of genes having nucleotide repeats in the coding sequence (CDS).

2. Materials and Methods

The nucleotide sequences of mRNAs of 102 human genes were taken from the GenBank database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), and 2567 miRNAs were taken from miRBase (<http://mirbase.org>). The search for target genes for miRNA was performed using the MirTarget program [18]. This program defines the features of binding: a) the localization of miRNA binding sites in the 5'UTRs, the CDSs and the 3'UTRs of the mRNAs; b) the free energy of hybridization (ΔG , kJ/mole). The ratio $\Delta G/\Delta G_m$ (%) was determined for each site (ΔG_m equals the free energy of miRNA binding with its perfect complementary nucleotide sequence). For analyzing and formatting sequences of genes, we used the sequence manipulation suite program (<https://bioinformatics.org/sms>). The miRNA binding sites located on the mRNAs had $\Delta G/\Delta G_m$ ratios of 85% and more. The MirTarget program takes account of hydrogen bonds between adenine (A) and uracil (U), guanine (G) and cytosine (C), G and U, and A and C. The distances between A and C were equal to those between G and C, A and U, and G and U [19]. To prediction the secondary structure of RNA, the software RNA fold was used (<http://rna.tbi.univie.ac.at>).

3. Results and Discussion

The search of 2567 human miRNAs binding with 102 mRNAs of human genes having nucleotide repeats in the coding region (CDS) using the MirTarget program has been completed. miRNAs binding sites in the CDS mRNAs of 36 genes from 102 candidate genes with nucleotide repeats have been shown. Out of human miRNAs, only 1023 miRNAs interacted with mRNAs of 36 genes. Based on the results, 3189 miRNAs binding sites are predicted in the CDS with $\Delta G/\Delta G_m$ values equal to 85 % and more.

Of the 102 genes with nucleotide repeats, we select eight genes that are targets of three or more miRNAs: *ARX* (miR-3656, miR-3960, miR-4258, miR-4274); *ATNI* (miR-1322, miR-4271, miR-4281, miR-7150); *CACNA1I* (miR-1268a, miR-1281, miR-3960, miR-4279, miR-6784-5p); *EP400* (miR-1322, miR-1587, miR-3656, miR-4463, miR-4478, miR-4505, miR-4651, miR-6763-5p, miR-8071); *GIGYF2* (miR-1322, miR-483-3p, miR-6894-3p); *HRC* (miR-1281, miR-6891-3p, miR-877-3p); *HTT* (miR-1281, miR-1322, miR-3656, miR-3665, miR-3960, miR-7704); *NCOR2* (miR-1322, miR-3656,

miR-4279, miR-4297, miR-4481, miR-4486, miR-4516). Data given in table 1 show the characteristics of miRNA binding with mRNA of target genes in the CDS.

According to the table miRNA binding sites in mRNA of *ARX*, *ATNI*, *CACNAII*, *EP400*, *GIGYF2*, *HRC*, *HTT*, *NCOR2* genes are located in the CDS.

One or two of the miRNAs bind with each gene in repeat nucleotide sequences: miR-3960 and miR-4258 with *ARX* (GCC)/(CGG), miR-1322 with *ATNI* (CAG), miR-1281 with *CACNAII* (AGG), miR-1322 with *EP400* (CAG) and *GIGYF2* (CAG), miR-1281 with *HRC* (AGG), miR-1322 and miR-3665 with *HTT* (CAG)/(CGC) and *NCOR2* (CAG).

Table 1 – Characteristics of miRNAs binding sites in CDS mRNA genes with nucleotide repeats

Gene	Characteristics of binding sites
<i>ARX</i>	miR-3656,125,85,-89,17; miR-3960, 1511, 91, -114, 20; miR-4258, 513, 85, -87, 17; miR-4274, 925,85, -89, 18
<i>ATNI</i>	miR-1322, 1693, 87, -89, 19; miR-4271, 1461, 85, -91, 19; miR-4281, 1146, 86, -95, 18; miR-7150, 1139, 85, -87, 18
<i>CACNAII</i>	miR-1268a, 91, 86, -93, 18; miR-1281, 1820, 86, -84, 17; miR-3960, 6179, 96, -121, 20; miR-4279, 5321, 90, -82, 16; miR-6784-5p, 1436, 87, -101, 20
<i>EP400</i>	miR-1322, 8313, 85, -87, 19; miR-1587, 4736, 85, -97, 20; miR-3656, 252, 89, -93, 17; miR-4463, 4727, 87, -87, 17; miR-4478, 438, 86, -82, 17; miR-4505, 4748, 87, -91, 18; miR-4651, 240, 85, -101, 20; miR-6763-5p, 426, 86, -95, 19; miR-8071, 237, 85, -97, 20
<i>GIGYF2</i>	miR-1322, 3383, 87, -89, 19; miR-483-3p, 813, 87, -99, 21; miR-6894-3p, 3352, 89, -104, 21
<i>HRC</i>	miR-1281, 768, 87, -85, 17; miR-6891-3p, 762, 85, -97, 21; miR-877-3p, 777, 85, -109, 21
<i>HTT</i>	miR-1281, 8052, 86, -84, 17; miR-1322, 197, 87, -89, 19; miR-3656, 344, 87, -91, 17; miR-3665, 267, 86, -93, 18; miR-3960, 268, 92, -115, 20; miR-7704, 264, 88, -101, 19
<i>NCOR2</i>	miR-1322, 1813, 87, -89, 19; miR-3656, 4744, 85, -89, 17; miR-4279, 1240, 88, -80, 16; miR-4297, 347, 90, -78; miR-4481, 442, 86, -82, 17; miR-4486, 5854, 87, -87, 17; miR-4516, 3496, 87, -87, 17

Note: miRNA; the beginning of binding site; the $\Delta G/\Delta G_m$ (%); the free energy change (ΔG , kJ/mole); length of miRNA (nt)

From this results in miR-3960 and miR-4258 bind with $(GCC)_8/(GCT)_1$ and $(CGG)_{11}/(CAG)_2$ repeats of *ARX* gene. The binding sites of miR-3960 in mRNA of the *ARX* gene are located between 1505 and 1532 nucleotide sequences with a start in 1511 nt. The miR-4258 binds in the region with $(CGG)_{11}/(CAG)_2$ repeats.

mir-1322 and mir-3665 bind with CDS mRNA of the *HTT* gene. mir-1322 binding sites are located in a region with $(CAG)_{20}$ and $(CAA)_1$ repeats between 197 – 259 nt. mir-3665 binds in the region with $(CGC)_7$ repeat located from 267 to 288 nt. Obtained data indicate that *ATNI*, *EP400*, *GIGYF2*, *HTT*, *NCOR2* genes are targets for miR-1322, and *ARX*, *HTT*, *CACNAII* and *HRC* genes are targets for miR-3656, miR-3960 and miR-1281.

Among miRNAs that bind with high energy to mRNA genes with nucleotide repeats, we choose five miRNAs that have binding sites for two or more genes: miR-3656 (*ARX*, *EP400*, *HTT*, *NCOR2*); miR-3960 (*ARX*, *CACNAII*, *HTT*); miR-1322 (*ATN*, *EP400*, *GIGYF2*, *HTT*, *NCOR2*); miR-1281 (*CACNAII*, *HRC*, *HTT*); miR-4279 (*CACNAII*,

NCOR2). As can be seen from the above data, miR-3656, miR-1322 can interact with a lot of genes compared to miR-4279.

Depicted below table 2 shows the compliance of miRNAs binding in the nucleotide repeats located regions in CDS mRNA genes. It was determined that considering miRNAs binding sites are located mainly in regions with CAG, GCG, GAG repeats. Oligonucleotides of binding sites located in CDSs can encode polyglutamine and polyalanine depending on the open reading frame.

Expansions of CAG trinucleotide repeats (CAG repeats) in coding regions of human genes cause neurodegenerative disorders by generating proteins with elongated polyglutamine (polyQ) stretches. This group of disorders includes Huntington's disease, dentatorubral – pallidolusian atrophy, spinal bulbar muscular atrophy, and the spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, 6 and 7 [20, 21]. For instance, the HD (*IT15*) gene, which encodes huntingtin, a 350 kDa protein of unknown function, is located on the human chromosome 4 and consists of 67 exons. The disease – causing mutation is a

CAG repeat expansion located within exon 1 of the *HD* gene (*HD* exon 1). The CAG repeat is translated into a polyQ stretch. The disease manifests itself when the polyQ stretch exceeds the critical length of 37 glutamines (pathological threshold), whereas 8–35 glutamine residues in huntingtin are tolerated by neuronal cells [22, 23].

mRNAs genes of *ATN1*, *ATXN1*, *ATXN2*, *BRD4*, *CELF3*, *EP400*, *FOXP2*, *GIGYF2*, *HTT*, *MAML3*, *MN1*, *MEF2A*, *NCOR2*, *SMARCA2*, *TNRC6B*, *TOX3*, *TNRC6A*, *RUNX2*, *ZNF384* and *MLL2* interact with miR-1322. It was previously

shown that miR-1322 had arranged binding sites in the CDSs of orthologous *MAMLD1*, *MAML2* and *MAML3* genes. Binding sites encode a polyglutamine oligopeptide ranging from six to 47 amino acids in length. Data indicated the importance of conserved nucleotide sequences of miR-1322 binding sites and not only the amino acid sequence corresponding to oligopeptides of the encoded protein [24]. miR-1281 binds in mRNA of *CACNA1I*, *PVRL1* and *EGR1*, genes. Moreover, mRNAs genes of *ARX* and *PHOX2B* interact with miR-4258 (Table 2).

Table 2 – Accordance of binding sites to nucleotide repeats of genes

miRNA	Gene	Position	Nucleotidesequence	Codon number
miR-1322	<i>ATN1</i>	1693	QQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₁₄ CAA ₂
	<i>ATXN1</i>	1578	QQQQQQQQQQQQHQHQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₂₇ CAT ₂
	<i>ATXN2</i>	658	QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₂₂ CAA ₁
	<i>BRD4</i>	2533	PQQPPPPPPQPPPPPPPPQQQQQPPPPPPPP	CAG ₉ CCG ₂₁
	<i>CELF3</i>	1893	QQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₁₂ CAA ₃
	<i>EP400</i>	8313	QQQQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₁₅ CAA ₂
	<i>FOXP2</i>	912	QQQQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₁₃ CAA ₅
	<i>GIGYF2</i>	3068	QQQQQQQQQQ	CAG ₇ CAA ₂
	<i>HTT</i>	197	QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₂₀ CAA ₁
	<i>MAML3</i>	2220	QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQK	CAG ₂₄ CAA ₃ AAA ₁
	<i>MN1</i>	2534	QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₂₃ CAA ₅
	<i>MEF2A</i>	1852	QQQQQQQQQQQQQQPPP	CAG ₁₃ CCG ₃
	<i>NCOR2</i>	1813	QQQQQQQQQQQQQQQQQQ	CAA ₂ CAG ₁₅
	<i>SMARCA2</i>	766	QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₁₈ CAA ₄
	<i>TNRC6B</i>	4172	QQQQQQQQQQMM	CAG ₉ ATG ₂
	<i>TOX3</i>	1509	QQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₁₀ CAA ₅
	<i>TNRC6A</i>	400	QQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₁₄ CCA ₂
	<i>RUNX2</i>	512	QQQQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₁₄ CAA ₄
	<i>ZNF384</i>	1780	QQQQQQQQQQQQQQQQQQ	CAG ₁₅ CCA ₂
	<i>MLL2</i>	9820	QQQQQQQQ	CAG ₇ CAA ₁

miRNA	Gene	Position	Nucleotidesequence	Codon number
miR-1281	<i>CACNA1I</i>	1820	RRRRRR	AGG ₆
	<i>PVRL1</i>	1482	RRRRRRRR	AGG ₈
	<i>EGR1</i>	474	RRRRRGWRQQQQQQQQQQQQQQ	CGG ₅ GGG ₂ TGG ₁ AGG ₁ CAG ₁₄ CAA ₂
miR-4258	<i>ARX</i>	513	RRRRRRRRRRRRRQQ	CGG ₁₂ CAG ₂
	<i>PHOX2B</i>	1100	QQQQQQRRRRRRRRRRRP	CAG ₆ CGG ₁₁ CCG ₁
miR-1273f	<i>ANK3</i>	12230	TTTTTTATTTTTTTTTTTTT	ACT ₄ GCC ₁ ACC ₁₄
miR-1181	<i>ATXN7</i>	593	RRAAAAAA	CGC ₂ GCG ₆
miR-6833-5p	<i>DIP2B</i>	837	FFLLLLII	TTC ₂ CTC ₃ ATC ₂
miR-3960	<i>HOXA13</i>	405	AAAAAAAAAAAAAASS	GCA ₁ GCC ₈ GCG ₂ GCT ₂ TCG ₂ TCC ₁
miR-7110	<i>IRS1</i>	3654	LLPPPHH	CTC ₂ CCC ₃ CAC ₂
miR-1910-5p	<i>MAPK1</i>	254	GGAAAAAAMMPP	GGC ₂ GCG ₇ ATG ₂ CCG ₂
miR-877-3p	<i>HRC</i>	777	RRRRRRR	AGG ₈
miR-1260a	<i>PABPN1</i>	1284	WRRRRRRRQQQ	TGG ₁ CGG ₆ CAG ₃
miR-1908-3p	<i>ZIC2</i>	1787	RRRRRRRRGG	CGG ₈ GGC ₁ GGG ₁
miR-574-5p	<i>NGFR</i>	186	LLLLLL	CTG ₄ CTT ₂
miR-8083	<i>SOX3</i>	1047	AAAAAAQQ	GCG ₃ GCA ₂ GCU ₁ CAG ₂

From indicated in Table 2 genes, especially *ATNI*, *ATXNI*, *ATXN2* plays an important role in diseases associated with trinucleotide repeats. In addition, *EGR1* has thus been revealed as a major mediator and regulator of synaptic plasticity and neuronal activity in both physiological and pathological conditions [25]. The obtained results indicate that the mRNA genes of *ATNI*, *ATXNI*, *ATXN2* interacted with miR-1322 with CAG and *EGR1* binds with miR-1281 escorted by GGC AGC repeats. As above we said that in the overwhelming majority of cases, neurological diseases are caused by nucleotide repeats.

As can be seen in Table 2, the binding sites of miR-1322 in mRNA of *ATNI*, *ATXNI*, *ATXN2*, *EP400*, *HTT*, *MAML3*, *MNI*, *NCOR2*, *SMARCA2*, *TNRC6A*, *RUNX2* and *ZNF384* genes are located in regions with CAG repeats (14-27 times in coding sequence). The (CAG)₁₄ and (CAA)₂ repeats located between 1687 and 1744 nucleotides in *ATNI* gene and miR-1322 bind in this region with a start at 1693 nt. There are a lot of repetitions of (CAG)₂₇, (CAT)₂ codons in *ATXNI* gene and miR-1322 binds

in regions with these repeats with a start in 1578 nt. mRNA of *MAML3* gene has (CAG)₂₄, (CAA)₃, (AAA)₁ repeats between 2199 to 2282 nt and miR-1322 binding sites located from 2220 nt. In mRNA of *MNI* and *SMARCA2* genes codons (CAG)_{23,18}, (CAA)₅ repeated from 2519 to 2605 and 745-813, respectively, and miR-1322 binds in regions with these repeats from 2534 and 766 nt.

mRNAs of *ANK3*, *ATNI*, *ATXNI*, *ATXN2*, *ATXN7*, *BRD4*, *CELF3*, *FOXP2*, *MAML3*, *GIGYF2*, *DIP2B*, *EGR1*, *HOXA13*, *IRS1*, *HTT*, *EP400*, *MAPK1*, *HRC*, *RUNX2*, *PABPN1*, *ZIC2*, *MNI*, *TNRC6B*, *PVRL1*, *MLL2*, *MEF2A*, *ZNF384*, *TOX3*, *NGFR*, *TNRC6A*, *SOX3*, *SMARCA2*, *PHOX2B*, *ARX*, *CACNA1I* and *NCOR2* genes have miRNA binding sites with $\Delta G/\Delta G_m$ value more than 85% (Table 3). From this results, obviously visible that miR-1322 binding sites mainly located in regions with CAG repeats of mRNA of *ATNI*, *ATXNI*, *ATXN2*, *BRD4*, *CELF3*, *EP400*, *FOXP2*, *GIGYF2*, *HTT*, *MAML3*, *MNI*, *MEF2A*, *NCOR2*, *SMARCA2*, *TNRC6B*, *TOX3*, *TNRC6A*, *RUNX2*, *ZNF384*, *MLL2* and *PHOX2B* genes.

Table 3 – Schemes of miRNA binding with mRNA genes having nucleotide repeats

<p>ANK3; miR-1273f;12230;CDS;-89;85;19 5' - CACUGCCACCACCACCACC - 3' 3' - GUGACGUUGGAGGUAGAGG - 5'</p>	<p>MAML3; miR-1322;2220;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'</p>
<p>ATN1; miR-1322;1693;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'</p>	<p>MAPK1; miR-1910-5p;254;CDS;-104;85;21 5' - CGGCGGCGGGCGGGCCCGG - 3' 3' - UCCGCCGUCCGUGUCCUGACC - 5'</p>
<p>ATXN1; miR-1322;1569;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'</p>	<p>MNI; miR-1322;2534;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'</p>
<p>ATXN2; miR-1322;658;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'</p>	<p>MLL2; miR-1322;9820;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAACAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'</p>
<p>ATXN7; miR-1181;593;CDS;-112;88;21 5' - CGCCGCGCGGCGGGCGGGCGG - 3' 3' - GCCGAGC-CCACCGCCGUGCC - 5'</p>	<p>MEF2A; miR-1322;1852;CDS;-91;89;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGCC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGU-AG- 5'</p>
<p>ARX; miR-4258;513;CDS; -87;85;17 5' - CAGCGGGCGGGCGGGCGG - 3' 3' - GGUUCCGCCACCGCC-CC - 5'</p>	<p>NGFR; miR-4302;667;CDS;-87;85;18 5' - CACGCUGGGCCGACGCCGA - 3' 3' - GAGCGACUCGG-UGUGACC - 5'</p>
<p>BRD4; miR-1322;2533; CDS;-87;85;19 5' - CAGCAGCAACAGCAGCCGCC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGU-AGUAG - 5'</p>	<p>NCOR2; miR-1322; 1813; CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'</p>
<p>CACNA1I; miR-1281; 1820;CDS;-84;86;17 5' - AGGAGGAGGAGGAGGAGG - 3' 3' - CCCUC-UCCUCCUCCGCU - 5'</p>	<p>PABPN1; miR-1260a;1284;CDS;-84;85;18 5' - UGGCGGGCGGGCGGGCGGC - 3' 3' - ACCACCGUCUCCACC-CUA - 5'</p>
<p>CELF3; miR-1322; 1872; CDS; -89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'</p>	<p>PVRL1; miR-1281;1482;CDS;-84;86;17 5' - AGGAGGAGGAGGAGGAGG - 3' 3' - CCCUC-UCCUCCUCCGCU - 5'</p>
<p>DIP2B; miR-6833-5p;837; CDS;-99;85;22 5' - UUCUCCUCAUCAUCUCCUCA - 3' 3' - AAAGAGGAG-GGUAGAAGGUGUG - 5'</p>	<p>PHOX2B; miR-4258; 1100;CDS; -89;87;17 5' - CCGCGGCAGCGGGCGGGCGG - 3' 3' - GGUUCCGCCACCGCC-CC - 5'</p>
<p>EGR1; miR-1281;474;CDS;-84;86;17 5' - GGGCGGUGGAGGGCGGGCGG - 3' 3' - CCCUCU-CCUCCUCCGCU - 5'</p>	<p>RUNX2; miR-1322;512;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAACAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'</p>
<p>EP400;miR-1322;8313;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAAC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'</p>	<p>SOX3; miR-8083;1080;CDS;-97;85;21 5' - GGCCGAGCCGCCAUGAGCCUG - 3' 3' - UCAACGUCGGCAGUUCA-GGAC - 5'</p>

FOXP2 ; miR-1322;912;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAACAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'	SMARCA2 ; miR-1322;766;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'
GIGYF2 ; miR-1322;3068;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAACAAC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'	TOX3 ; miR-1322;1509;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'
HTT ; miR-1322; 197; CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'	TNRC6A ; miR-1322;400;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAACAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'
HRC ; miR-877-3p; 777; CDS; -99; 85;21 5' - AGGAGGAGGAGGAGGAAGAGGA - 3' 3' - GAC-CCUCCUCCCUUCUCCU - 5'	TNRC6B ; miR-1322; 4172;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'
HOXA13 ; miR-3960;405;CDS;-108;86;20 5' - GCAGCCGCGCGCGCGCGCGCC - 3' 3' - GGG-GGCGGAGGCGGCGCGG - 5'	ZIC2 ; miR-1908-3p; 1787; CDS;-116;88;23 5' - CGGCGGGGGGGCGGGCGGGGG - 3' 3' - GCC-CCGCCUCGCGCGCGG - 5'
IRS1 ; miR-4458;3654; CDS;-84;85;19 5' - CUCCCCCACCCCAACCCCU - 3' 1. 3' - AAGAAGGUGUGGAUGGA-GA - 5'	ZNF384 ; miR-1322;1780;CDS;-89;87;19 5' - CAGCAGCAGCAGCAGCAGC - 3' 3' - GUCGUAGUCGUCGUAGUAG - 5'
Note: Gene; miRNA; the beginning of binding site; the free energy change (ΔG , kJ/mole); the $\Delta G/\Delta G_m$ (%); length of miRNA (nt)	

The average free energy of miRNA binding sites in mRNA of all targets genes is equal to -113 kJ/mole. Only miR-1181 and miR-1908-3p interact with free energy more than -112 kJ/mole with mRNA of *ATXN7* and *ZIC2* genes, respectively. The (CGG)₃ repeats located between 599 and 670 nucleotides in the *ATXN7* gene and miR-1181 bind in this region with a start at 593 nt. In addition, mRNA of the *ZIC2* gene has (CGG)₇ repeat between 1786 to 1816 nt and miR-1908-3p binding sites located from 1787 nt.

Two miRNAs (miR-1181, miR-1908-3p) have free binding energy more than -112 kJ/mole, which gives the reason anticipate to use their interaction with the corresponding target genes as biomarkers for the development of the neurological diseases.

By these genes taking into account that they contained CAG repeats in their coding regions and excessive recurrence of these dysfunctions may lead to the emergence of hereditary neurodegenerative disease, detected these associations of miRNA and genes could be used as markers for the diagnosis of hereditary neurodegenerative disease.

Cytosine – adenine-guanine (CAG) repeat expansions in the coding regions of 19 polyglutamine (polyQ) genes (*ATNI*, *ATXN1*, *ATXN2*, *BRD4*, *GIGYF2*, *CELF3*, *MAML3*, *HTT*, *EP400*, *RUNX2*, *MLL2*, *MEF2A*, *ZNF384*, *TOX3*, *TNRC6A*, *TNRC6B*, *TOX3*, *SMARCA2*, *NCOR2*, *PHOX2B*) interact with miR-1322. By using the software of RNA fold web server (<http://rna.tbi.univie.ac.at>), we determined the secondary structures of a fragment of single-stranded RNA sequences with miRNAs binding sites (Figure 1).

The figure 1 show the formation of bonds between complementary base pairs in sites with the binding sites of miR-1322 in mRNA of *ATXN2* gene, miR-1273f in mRNA of *ANK3* gene, miR-3960 in mRNA of *HOXA13* gene and miR-4258 in mRNA genes of *ARX* gene. The binding sites contain nucleotide repeats CAG, ACC, and CGG, which correspond to oligopeptides polyglutamine, polythreonine and polyalanine, respectively. The figures clearly show the preferential formation of bonds with corresponding miRNAs.

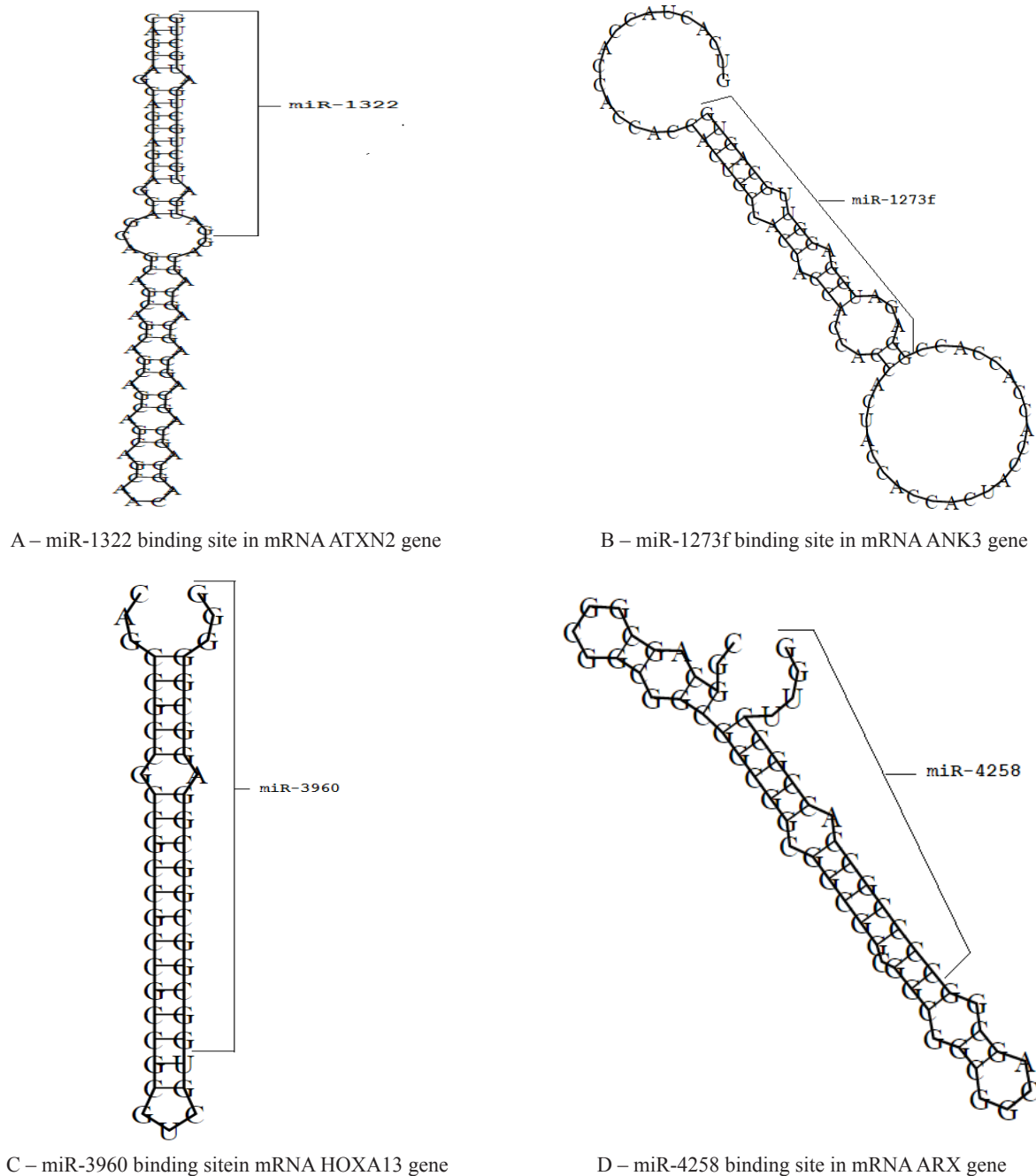


Figure 1 – Binding sites of miR-1322, miR-1273f, miR-3960, miR-4258 in CDS mRNA genes of ATXN2, ANK3, HOXA13 and ARX

Conclusion

Thus, the article presents the results of the prediction of binding sites in mRNA genes having trinucleotide repeats. Binding sites for considering miRNAs are located in the CDS and encoded oligopeptides with glutamine, threonine, alanine, proline, arginine and leucine repeats. Binding sites have $\Delta G/\Delta G_m$ values from 85% to 92%. The sec-

ondary structures of a fragment of single – stranded RNA and miRNAs sequences demonstrate binding of miRNAs in predicted binding site. The binding sites of miRNAs and their targets have been identified for a set of candidate genes for nucleotide repeat disorders.

The results indicate that these binding sites have a large free energy of miRNA interaction with mRNA genes having nucleotide repeats.

Moreover, there is a several number of miRNAs that bind with mRNA genes having nucleotide repeats and includes miRNAs have more target genes. The studies highlighted above demonstrate that spinocerebellar ataxias plays an important role in diseases associated with trinucleotide repeats. Given the above mentioned data, binding sites of miRNAs and genes anticipated for using as markers for the diagnosis of hereditary neurodegenerative disease. Taking into account that these genes contain nucleotide repeats in their coding regions, excessive recurrence of these dysfunctions may lead to the emergence of hereditary neurodegenerative disease.

Conflict of interest

All authors have read and are familiar with the content of the article and do not have a conflict of interest.

Acknowledgments

We are grateful to Pyrkova A.Yu. to performing calculations on the program MirTarget.

Funding. The work was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan within the framework of the grant №AP05132460.

References

- 1 Jasinska A., Krzyzosiak W.J. Repetitive sequences that shape the human transcriptome // *FEBS Lett.* – 2004. – Vol. 567. – P. 136-41.
- 2 Marzena W., Wlodzimierz J. CAG repeat RNA as an auxiliary toxic agent in polyglutamine disorders // *RNA Biology.* – 2011. – Vol. 8.4. – P.565-571.
- 3 Liquori C.L., Ricker K., Moseley M.L., Jacobsen J.F., Kress W., Naylor S.L. Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9 // *Science.* – 2001. – Vol. 293. 864-867.
- 4 Matsuura T., Fang P., Lin X., Khajavi M., Tsuji K., Rasmussen A. Somatic and germline instability of the ATTCT repeat in spinocerebellar ataxia type 10 // *American Journal of Human Genetics.* – 2004. – Vol. 74(6). – P. 1216–1224.
- 5 Gohel D., Sripada L., Prajapati P., Singh K., Roy M., Kotadia D., Tassone F., Charlet-Berguerand N., Singh R. FMR poly G alters mitochondrial transcripts level and respiratory chain complex assembly in Fragile X associated tremor/ataxia syndrome FXTAS // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* – 2019. – Vol. 0925-4439 (19). – P. 30062-6.
- 6 Maureen A., Leehey, M.D. Fragile X-associated Tremor/Ataxia Syndrome (FXTAS) // *Clinical Phenotype, Diagnosis and Treatment.* – 2009; – Vol.57(8). – P. 830–836.
- 7 Patrick A., Marc S. Applied RNAi From Fundamental Research to Therapeutic Applications // *Antiviral Gene Therapy Research Unit, School of Pathology.* – 2014. – ISBN 978-1-908230-67-6.
- 8 Danny B., Catherine L., Cyntia B., Guillaume T., Julie M., Xavier R. An Out-of-frame Overlapping Reading Frame in the Ataxin-1 Coding Sequence Encodes a Novel Ataxin-1 Interacting Protein // *J Biol Chem.* – 2013. – Vol. 288 (30). – P. 21824–21835.
- 9 Aaron M., Carrie S., Austin F., Orion R., Marija C., Brain D. Neurotrophic Factor (BDNF) Delays Onset of Pathogenesis in Transgenic Mouse Model of Spinocerebellar Ataxia Type 1 (SCA1) // *Front Cell Neurosci.* – 2018. – Vol.12.– PMC. 6348256.
- 10 Simon C., Alexandre M., Anna R., Jeffrey B., Stefanie L. CAG Expansion in the Huntington Disease Gene Is Associated with a Specific and Targetable Predisposing Haplogroup // *Am J Hum Genet.* – 2009. – Vol. 84 (3). – P. 351–366.
- 11 Kushal J. Keith T. RNA biology of disease-associated micro satellite repeat expansions // *Rohilla and Gagnon Acta Neuro-pathological Communications.* – 2017. – Vol.5:63.–doi. 10.1186/s40478-017-0468-y.
- 12 Dumitrescu L., Popescu B.O. MicroRNAs in CAG trinucleotide repeat expansion disorders // *an integrated review of the literature.* – 2015. – Vol.14(2). – P. 176-93
- 13 Helen B., Cynthia T., Murray A. Brief History of Triplet Repeat Diseases // *Methods Mol Biol.* – 2013. – Vol. 1010. – P. 3-17.
- 14 Chen, P.S., Su J.L., Hung, M.C. Dysregulation of microRNAs in cancer // *Journal of Biomedical Science.* -2012. – doi: 10.1186/1423-0127-19-90.
- 15 Cary N., Keisuke I. A. Macro View of MicroRNAs: The Discovery of MicroRNAs and Their Role in Hematopoiesis and Hematologic Disease // *Int Rev Cell Mol Biol.* – 2017. – Vol.334. – P. 99–175.
- 16 Ivashchenko A., Niyazova R. MicroRNA. Function, properties, application // *Ed. KazNU.* – 2016. – ISBN 9786010423855. – P. 317.
- 17 Cann C., Holohan E.E., Das S., Dervan A., Larkin A., Lee J.A. Rodrigues V., Parker R., Ramaswami M. The Ataxin-2 protein is required for microRNA function and synapse-specific long-term olfactory habituation // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2011. – Vol. 108. – P.655–662.
- 18 Ivashchenko A.T., Pyrkova A.Y., Niyazova R.Y. Prediction of miRNA binding sites in mRNA // *Bioinformatics.* – 2016. – Vol. 12. – P. 237-240.
- 19 Kool E.T. Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication // *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure.* – 2001. Vol. 30. – P. 1–22.

- 20 Wanker E.E., Protein aggregation and pathogenesis of Huntington's disease: mechanisms and correlations // *Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 381. – P. 937–942.
- 21 Gusella J.F., MacDonald M.E. Molecular genetics: unmasking polyglutamine triggers in neurodegenerative disease // *Nature Rev. Neurosci.* – 2000. – Vol. 1. – P. 109–115.
- 22 Scherzinger E., Sittler A., Schweiger K., Heiser V., Lurz R., Hasenbank R., Bates G.P., Lehrach H., Wanker E.E. Self-assembly of polyglutamine-containing huntingtin fragments into amyloid-like fibrils: implications for Huntington's disease pathology // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 1999. – Vol. 96. – P. 4604–4609.
- 23 Waelter S., Boeddrich A., Lurz R., Scherzinger E., Lueder G., Lehrach H., Wanker E.E., Accumulation of mutant huntingtin fragments in aggresome-like inclusion bodies as a result of insufficient protein degradation // *Mol. Biol. Cell* – 2001. – Vol. 12. – P. 1393–1407.
- 24 Niyazova R., Berillo O., Atambayeva Sh., Pyrkova A., Alybaeva A., Ivashchenko A. miR-1322 Binding Sites in Paralogous and Orthologous Genes // *Biomed Research International.* – 2015. – Vol. 2015 – P. 1-7.
- 25 Duclot F., Kabbaj M. The Role of Early Growth Response 1 (EGR1) in Brain Plasticity and Neuropsychiatric Disorders // *Front BehavNeurosci.* – 2017. – Vol. 11. – P. 35.

3-бөлім
**ӨСІМДІКТЕР ФИЗИОЛОГИЯСЫ
МЕН БИОХИМИЯСЫ**

Section 3
**PLANTS PHYSIOLOGY
AND BIOCHEMISTRY**

Раздел 3
**ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ
РАСТЕНИЙ**

Ыскакова Г.Ш.^{1,2}, Рсалиев А.С.¹

¹Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности,
Казахстан, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский

²Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ КОММЕРЧЕСКИХ СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ И ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ К СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ

Стеблевая ржавчина, возбудителем которой является биотрофный гриб *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, – одно из наиболее вредоносных заболеваний мягкой и твердой пшеницы. Патоген в последние годы приобрел эпифитотийный характер, нанося значительный экономический ущерб производству зерна пшеницы в Казахстане. В работе представлены результаты сравнительной оценки коммерческих сортов яровой мягкой и твердой пшеницы на устойчивость к стеблевой ржавчине. На инфекционном фоне сорта яровой пшеницы охарактеризованы по степени поражения, типу реакции, площади под кривой развития болезни и по коэффициенту инфекции. С помощью корреляционного анализа выявлена положительная взаимосвязь между оцениваемыми параметрами устойчивости пшеницы к болезни. Исследования в полевых условиях выявили значительно меньшее число устойчивых и умеренно устойчивых сортов яровой пшеницы. Установлено, что большинство исследуемых сортов яровой мягкой пшеницы не обладают полевой устойчивостью к болезни. Коммерческие сорта твердой пшеницы достоверно превышали сорта мягкой пшеницы по всем признакам полевой устойчивости к стеблевой ржавчине. Среди сортов твердой пшеницы высокой устойчивостью к стеблевой ржавчине, характеризовались сорта Наурыз 6 и Омский Рубин.

Ключевые слова: Мягкая пшеница, твердая пшеница, сорт, стеблевая ржавчина, устойчивость

Yskakova G.Sh.^{1,2}, Rsaliyev A.S.¹

¹Research Institute for Biological Safety Problems,
Kazakhstan, Zhambylskaya obl., Kordaiskiy rayon, Gvardeiskiy

²Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

Comparative studying of resistance of commercial varieties of spring bread and durum wheat to stem rust

The stem rust is caused by the biotrophic fungus *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* and is the most harmful disease of bread and durum wheat. In recent years the pathogene has epiphytotic character, causing significant economic damage for to production of wheat seed in Kazakhstan. The results of the comparative assessment of the commercial varieties of spring bread and durum wheat for resistance to stem rust are presented in this work. Spring wheat varieties are characterized by lesion level, reaction type, area for growth curve of disease and infection of coefficient on infection background. The positive interrelation between the evaluated parameters of wheat resistance to disease is detected by the correlation analysis. Researches in the field conditions demonstrated the smaller number of resistance and moderately resistance varieties of spring wheat. It has been demonstrated that majority of the tested varieties of spring common wheat have not the field resistance to disease. The commercial varieties of durum wheat reliably exceeded varieties of bread wheat by all characters of field resistance to stem rust. Nauryz 6 and Omskiy Rubin varieties are characterized by high resistance to stem rust among varieties of durum wheat.

Key words: Bread wheat, durum wheat, variety, stem rust, resistance

Ыскакова Г.Ш.^{1,2}, Рсалиев А.С.¹¹Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский²Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы**Жаздық жұмсақ және қатты бидайдың коммерциялық сорттарының сабақ татына төзімділігін салыстырмалы зерттеу**

Қоздырғышы *Puccinia graminis* f.sp.*tritici* биотрофты саңырауқұлағы болып табылатын сабақ таты – жұмсақ және қатты бидайдың біршама қауіпті ауруларының бірі болып есептеледі. Соңғы жылдары патоген эпифитотиялық сипатқа ие бола отырып Қазақстандағы бидай өндірісіне айтарлықтай экономикалық зиян келтірді. Жұмыста жаздық жұмсақ және қатты бидайдың коммерциялық сорттарын сабақ татына төзімділігі бойынша салыстырмалы бағалау нәтижелері көрсетілді. Жасанды індет аясында жаздық бидай сорттары індеттің даму деңгейі, реакция типі, ауру дамуының сызық астындағы ауданы және инфекция коэффициенті бойынша сипатталды. Корреляциялық талдау көмегімен бидайдың ауруға төзімділігін бағалау параметрлері арасында оң қарым-қатынас бар екені анықталды. Дала жағдайындағы зерттеулер ауруға төзімді және орташа төзімділік танытатын жаздық бидай сорттарының біршама аз болғанын көрсетті. Зерттелінген жаздық жұмсақ бидай сорттарының көпшілігі ауруға тапаптық төзімділікке ие емес екені айқындалды. Сабақ татының далалық төзімділігіне тән барлық белгілері бойынша қатты бидайдың коммерциялық сорттары жұмсақ бидай сорттарынан жоғары болды. Қатты бидай сорттары арасынан сабақ татына жоғары төзімділікті Наурыз 6 және Омский Рубин сорттары байқатты.

Түйін сөздер: жұмсақ бидай, қатты бидай, сорт, сабақ таты, төзімділік.

Введение

Стеблевая ржавчина, вызываемая биотрофным грибом *P.graminis* f.sp. *tritici* встречается повсюду, вызывая колоссальные потери урожая сортов мягкой (*Triticum aestivum* L.) и твердой пшеницы (*T. durum* Desf.) и оказывая значительное влияние на программу научных исследований [1]. В настоящее время по научной и экономической важности возбудитель стеблевой ржавчины входит в «Топ-10» грибных болезней растений, и этот патоген может нанести наибольший урон при возникновении эпифитотии [2].

На протяжении последних 20 лет обоснованная тревога вызвана распространением агрессивной расы *P. graminis* f.sp. *tritici*, впервые обнаруженной в 1998 г. в Уганде и получившей название Ug99 [3-5]. Исследования показали, что 90% коммерческих сортов мирового генофонда пшеницы восприимчивы к различным расам Ug99, что позволяет рассматривать данный патоген как основную угрозу мировому производству пшеницы и продовольственной безопасности на современном этапе [4, 5]. Кроме того, в последние годы возникают сильные эпидемии стеблевой ржавчины в странах Европы в связи с появлением новых вирулентных рас болезни, отличающихся от расы Ug99 [6-9].

В Казахстане, как и во многих зерносеющих регионах мира, стеблевая ржавчина является осо-

бо опасным заболеванием пшеницы, представляющим угрозу продовольственной безопасности страны [10]. В последнее годы в отдельных регионах Казахстана и Западной Сибири, где преимущественно возделывают яровую мягкую и твердую пшеницу, стеблевая ржавчина стала одной из основных болезней. Как следствие, в 2015 г. в Костанайской, Северо-Казахстанской областях Казахстана и в сопредельной Омской области России эпидемия стеблевой ржавчины охватила более 1 млн. га пашни. Повторилась ситуация и в 2016 и 2017 гг., при этом в 2016 г. патоген был обнаружен на всех обследованных полях Северо-Казахстанской области, особенно на поздних сроках посева пшеницы, вследствие чего отмечалось заметное снижение не только урожайности, но и качества зерна [10-12]. В 2018 году авторами был проведен фитосанитарный мониторинг на опытных и производственных посевах пшеницы в Костанайской, Акмолинской, Северо-Казахстанской и Восточно-Казахстанской областях Казахстана. В результате в зависимости от региона и сорта растений было отмечено сильное и среднее развитие стеблевой ржавчины во всех обследуемых зонах Казахстана, что указывает на расширение ареала этого патогена.

К настоящему времени получено много интересных результатов по изучению данного патогена и проведен ряд международных совещаний и конференций, посвященных проблеме видов

ржавчины пшеницы. При этом большинство мировых фитопатологических и иммунологических исследований сфокусировано на изучении ареала и особенностей развития патогена, структуры популяции возбудителя стеблевой ржавчины, выявлении доноров устойчивости, исследовании эффективности генов устойчивости и определении подходов в изучении расового состава популяции *P. graminis* f.sp. *tritici* [3-12].

С учетом ухудшающейся фитопатологической обстановки, связанной с эпидемиями стеблевой ржавчины в основных зерносеющих регионах Казахстана необходимо изучить коммерческие сорта мягкой и твердой пшеницы по полевой (возрастной) устойчивости к стеблевой ржавчине. Основными критериями полевой устойчивости пшеницы являются степень поражения растений в период онтогенеза, тип

реакции, площадь под кривой развития болезни и коэффициент инфекции [1, 4, 5, 13]. Однако в Казахстане при определении болезнеустойчивости сортов пшеницы отдельные параметры оценки генотипов практически не используются, и, как следствие, эти вопросы оставались малоизученными.

Цель исследований – сравнительное изучение коммерческих сортов яровой мягкой и твердой пшеницы по признакам полевой устойчивости к стеблевой ржавчине.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследований служили 30 коммерческих сортов яровой мягкой и твердой пшеницы, допущенных к использованию на территории Республики Казахстан (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика сортов мягкой и твердой пшеницы, использованных в иммунологическом анализе

Наименование сорта	Вид пшеницы	Год допуска (реестр)	Область допуска
Августина	<i>T.aestivum</i>	2017	Костанайская
Алем	<i>T.aestivum</i>	2006	Алматинская, Восточно Казахстанская
Алтай	<i>T.aestivum</i>	2006	Восточно Казахстанская
Асыл сапа	<i>T.aestivum</i>	2015	Акмолинская
Акмола 2	<i>T.aestivum</i>	1998	Акмолинская, Северо-Казахстанская
Интенсивная	<i>T.aestivum</i>	1987	Южно-Казахстанская
Казахстанская 10	<i>T.aestivum</i>	1992	Алматинская
Карабалыкская 90	<i>T.aestivum</i>	1995	Акмолинская, Карагандинская, Костанайская, Павлодарская, Северо-Казахстанская
Кондитерская яровая	<i>T.aestivum</i>	2015	Акмолинская, Карагандинская, Костанайская, Павлодарская, Северо-Казахстанская
Любава 5	<i>T.aestivum</i>	2011	Костанайская
Омская 38	<i>T.aestivum</i>	2013	Акмолинская, Северо-Казахстанская
Память 47	<i>T.aestivum</i>	1995	Южно-Казахстанская
Самал	<i>T.aestivum</i>	2007	Восточно Казахстанская
Саратовская 70	<i>T.aestivum</i>	2010	Актюбинская
Степная 2	<i>T.aestivum</i>	2010	Актюбинская
Алтын дала	<i>T.durum</i>	2010	Костанайская, Северо-Казахстанская
Асангали	<i>T.durum</i>	2015	Восточно Казахстанская, Костанайская
Безенчукская 139	<i>T.durum</i>	1982	Акмолинская, Костанайская
Гордейформе 254	<i>T.durum</i>	2003	Алматинская
Дамсинская 90	<i>T.durum</i>	1995	Акмолинская, Восточно Казахстанская, Павлодарская, Северо-Казахстанская
Костанайская 52	<i>T.durum</i>	2004	Костанайская
Корона	<i>T.durum</i>	2010	Акмолинская, Карагандинская

Наименование сорта	Вид пшеницы	Год допуска (реестр)	Область допуска
Лавина	<i>T.durum</i>	2015	Акмолинская
Лан	<i>T.durum</i>	2010	Восточно-Казахстанская
Наурыз 2	<i>T.durum</i>	1998	Жамбылская, Кызылординская, Южно-Казахстанская
Наурыз 6	<i>T.durum</i>	2006	Алматинская
Омский рубин	<i>T.durum</i>	1991	Акмолинская
Оренбургская 10	<i>T.durum</i>	1990	Актюбинская, Павлодарская
Омская янтарная	<i>T.durum</i>	2005	Северо-Казахстанская
Сид 88	<i>T.durum</i>	1993	Акмолинская, Карагандинская, Костанайская, Северо-Казахстанская

Полевые опыты заложены на полевом орошаемом участке НИИПББ. Почва – серозем аллювиального происхождения, удобренный перегноем. Полевой участок после отвальной вспашки и боронования обрабатывали культиватором SOLO 503. Семена сеяли вручную на делянках, площадью 0,4 м² с междурядьями 20 см и длиной рядка 100 см. В каждый рядок, соответственно, высеивали по 65-80 зерен. Для накопления и распространения инфекции в питомнике, между ярусами, посеяли восприимчивые сорта-спредеры, в качестве которых служили Саратовская 29 и Казахстанская 10. Для создания благоприятных условий для развития растений и возбудителя ржавчины опытные делянки регулярно поливали и опрыскивали водой [14].

Весной, в фазе кушения, посеы яровой пшеницы заражали урединиоспорами стеблевой ржавчины. Для заражения использовали казахстанскую сборную популяцию патогена, собранную в 2016-2017 гг. Взятый для заражения инокулюм активировали при температуре 37-40 °С в течение 30 минут с последующим обводнением во влажной камере при температуре 18-22 °С в течение 2-4 часа. Инфекционный материал на растения наносили методом опрыскивания водной суспензией спор с 0,001 % Твин 80 по Э.Э. Гешеле [15]. Заражение растений проводили вечером в безветренную погоду после предварительного полива и увлажнения листьев растений опытных посевов.

В течение вегетационного периода оценка полевой устойчивости к болезни проводилась трижды, с момента максимального появления пустул по установленным шкалам. Тип инфекции стеблевой ржавчиной определяли по шкале Stakman et al. [16]. Степень поражения болезнью

(в %) оценивали по шкале Peterson et al. [17]. В качестве показателя, характеризующего неспецифическую устойчивость сорта, использовали критерий скорости нарастания болезни, выражаемый площадью под кривой развития болезни (ПКРБ) [18]. По рекомендации СИММИТ [1, 13], данные учетов интенсивности поражения и типа инфекции растения-хозяина, определенные в полевых условиях, обозначили отдельной величиной, называемой коэффициентом инфекции (КИ).

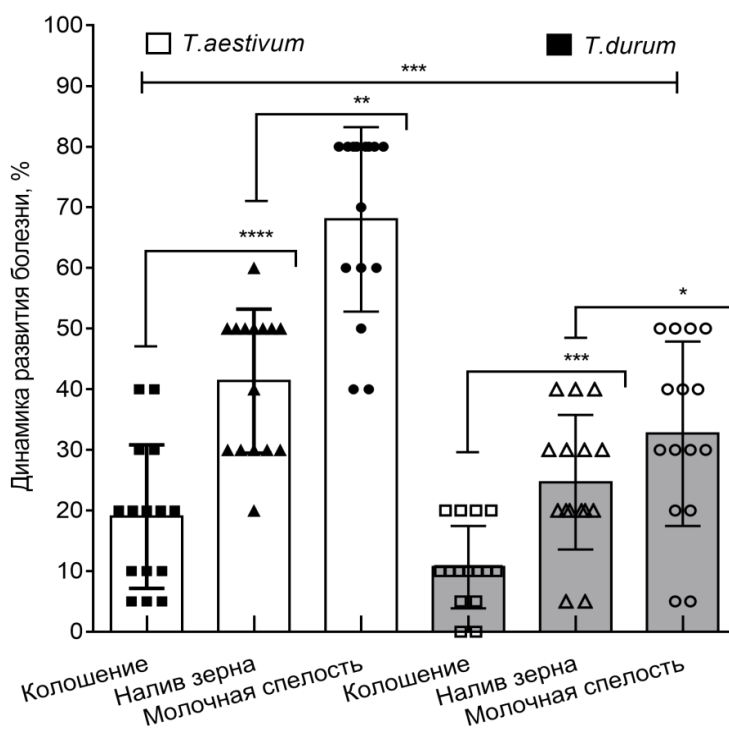
Статистически, корреляционный и регрессионный анализ данных проводили с помощью пакетов программы GraphPadPrism 7 (GraphPad Software, Inc., LaJolla, CA, USA). При этом для выявления взаимосвязи между переменными использовали коэффициент линейной корреляции Пирсона (r). Для оценки среднего уровня связей применили коэффициент детерминации (R²). Различия считали статистически достоверными при $P < 0,05$. Для изучения сходства сортов мягкой и твердой пшеницы по устойчивости к болезни проводили кластерный анализ с помощью программы Statistica (StatSoft, Inc., 2014, version 12. www.statsoft.com). В качестве метода кластеризации был выбран метод Ward [19], в качестве меры расстояния – квадрат евклидовых расстояний.

Результаты исследования

Результаты исследования показали, что на искусственном инфекционном фоне начало проявления стеблевой ржавчины на растениях отмечено в фазах трубкования-колошения, максимальное развитие болезни – в фазе молочной спелости зерна (рисунок 1). Коммерческие сорта яровой мягкой пшеницы к стеблевой ржавчине

проявили дифференциацию во всех изученных фазах по степени поражения относительно проникновения патогена. Следовательно, на стадии колошения 6 сортов *T.aestivum* оказались устойчивыми (степень поражения >10%), 7 сортов были умеренно устойчивыми (20-30%) и 2 сорта – умеренно восприимчивыми (40%), соответственно. На стадии налива зерна 5 сортов показали умеренную устойчивость (30%), 1 сорт умеренную восприимчивость (40%) и 8 сортов мягкой пшеницы были сильно восприимчивыми

(50-60%). Последний учет, проведенный в фазе молочной спелости зерна, показал, что многие исследуемые коммерческие сорта яровой мягкой пшеницы в высокой степени поражаются стеблевой ржавчиной (<50%). Только два сорта Кондитерская яровая и Любава 5 проявили умеренную восприимчивость к болезни (40%). Корреляция результатов оценки устойчивости между тремя учетами (фазы колошения, налива зерна и молочной спелости) была высоко достоверной ($P < 0.01-0.0001$).



Примечание: * – $P < 0,04$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$, **** – $P < 0,0001$

Рисунок 1 – Динамика развития стеблевой ржавчины на сортах мягкой и твердой пшеницы

Среди всего изученного набора сортов твердой пшеницы также выявлены существенные различия между этапами онтогенеза растений по степени развития болезни ($P < 0.04-0.001$). Однако большинство коммерческих сортов твердой пшеницы имеют явное преимущество по устойчивости к болезни над изученными сортами мягкой пшеницы. Средняя степень поражения сортов *T.durum* в конце вегетации (фаза молочной спелости зерна) была на уровне 32,7%, когда данный показатель у сортов *T.aestivum* составила 68,0% (рисунок 1). В целом выявлена суще-

ственная разница между исследуемыми сортами мягкой и твердой пшеницы по степени поражения стеблевой ржавчиной ($P < 0.001$) (рисунок 1).

Для определения уровня частичной устойчивости сортов яровой пшеницы рассчитывали площадь под кривой развития болезни и коэффициент инфекции (рисунок 2А и Б). В результате ПКРБ у сортов *T.durum* была почти в 2-7 раз ниже (от 110 до 1140 усл.ед.), чем у сортов *T.aestivum* (от 770 до 2040 усл.ед.), что подтверждает их данные по степени поражения (рисунок 2А). Сорта твердой пшеницы также имели

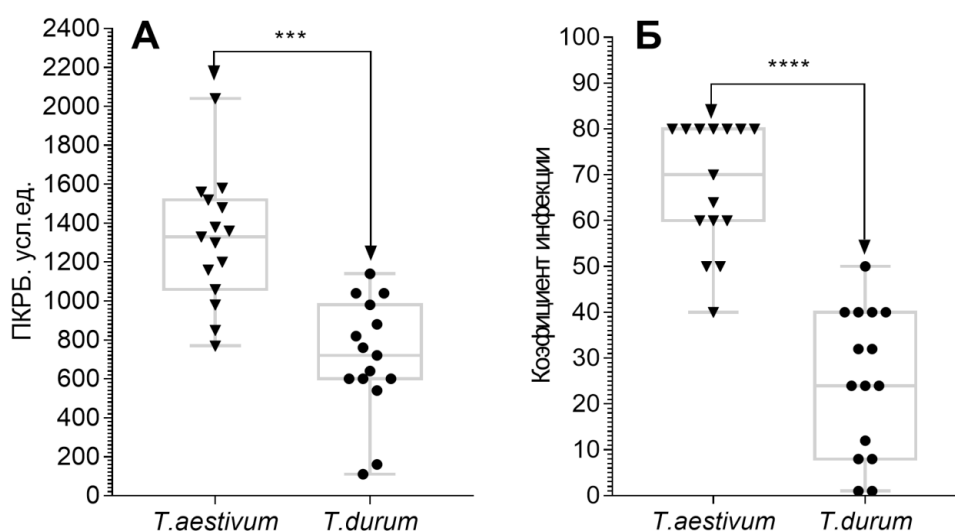
существенные низкие значения КИ по сравнению с сортами мягкой пшеницы ($P < 0.0001$), использованными в этом эксперименте (рисунок 2Б). Проведенные учеты и расчеты ПКРБ и КИ показали, что отдельные сорта *T.durum* (Наурыз 6 и Омская янтарная) характеризуются высоким уровнем частичной устойчивости. Непоражаемые сорта до конца вегетации на сильном инфекционном фоне являются источниками возрастной устойчивости.

Для определения корреляции между исследуемыми параметрами устойчивости (ПКРБ, КИ и конечная степень поражения) сортов яровой пшеницы был проведен статистический анализ (рисунок 3). При обработке данных использовали методы корреляционного и регрессионного анализов, реализованные в пакетах прикладных программ GraphPadPrism 7. Использование пошаговой регрессии позволило из нескольких показателей устойчивости определить независимые переменные, но наиболее значимые для адекватного представления исходных данных, что существенно повысило точность полученных результатов. Следовательно, критерий ПКРБ высоко коррелирует с конечной степенью поражения растений (коэффициент корреляции $r = 0,86$, коэффициент детерминации $R_2 = 0,73$, $P < 0,0001$) и КИ ($r = 0,87$, $R_2 = 0,76$, $P < 0,0001$). Сильная корреляционная связь также выявлена между степенью поражения растений и КИ

($r = 0,98$, $R_2 = 0,96$, $P < 0,01$). Эти данные свидетельствуют о том, что при оценке сортов пшеницы по устойчивости к болезни целесообразно использование комплексного подхода.

Для систематизации изученного набора яровой пшеницы по устойчивости к стеблевой ржавчине был применен кластерный анализ. Дендрограмма, построенная на основе суммарной матрицы по степени поражения, ПКРБ и КИ (рисунок 4), разделяет изученные сорта *T.aestivum* и *T.durum* на два кластера – 1 и 2.

В первом кластере оказались 12 сортов мягкой пшеницы, которые являются сильно восприимчивыми к болезни (S). Из них сорта Акмола 2 и Карабалыкская 90 имеют очень близкое сходство по указанным признакам устойчивости к стеблевой ржавчине. А также к данному кластеру примыкает сорт Саратовская 70 со степенью дистанцирования 2,09 от объединенного кластера, включающего остальные генотипы. Кластер 2 включал три субкластера (MS, MR и R), при этом в состав первого субкластера (MS) вошли 5 сортов *T.durum* и 3 сорта *T.aestivum*, которые являются умеренно восприимчивыми к болезни. Среди них наибольшее сходство обнаружено между сортами Любава 5 и Кондитерская яровая. Во втором (MR) и третьем (R) субкластере располагались сорта только твердой пшеницы, которые были умеренно устойчивыми и устойчивыми к болезни, соответственно.



Примечание: *** – $P < 0,001$, **** – $P < 0,0001$

Рисунок 2 – Сравнительный анализ сортов мягкой и твердой пшеницы по площади под кривой развития болезни (А) и по коэффициенту инфекции (Б)

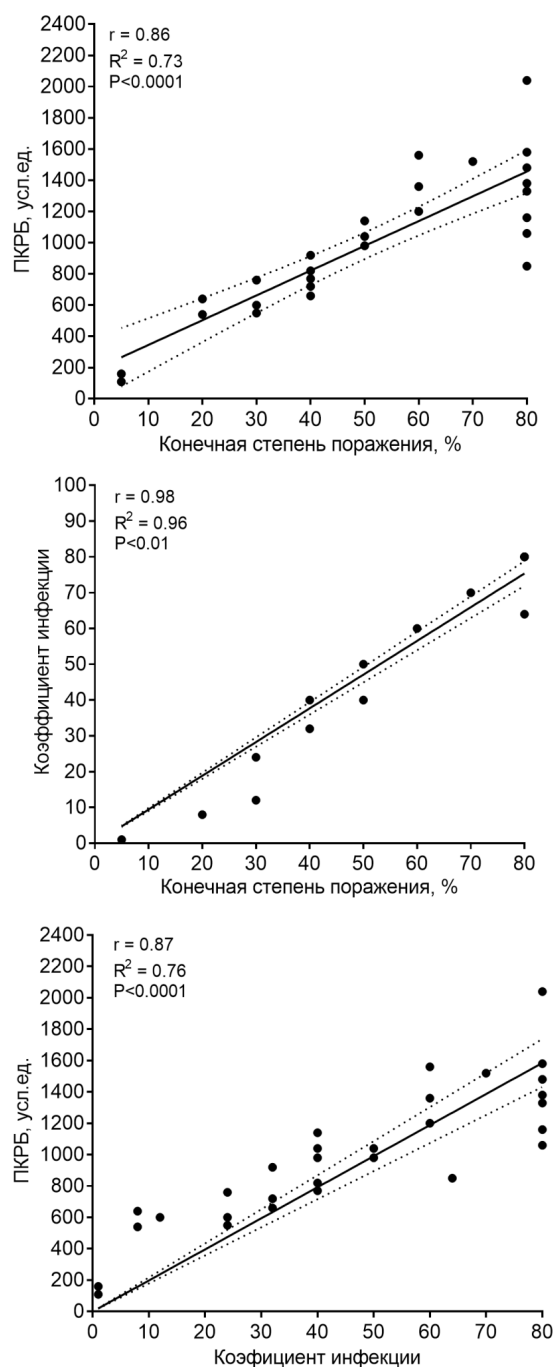


Рисунок 3 – Коэффициенты корреляции (r) и детерминации (R^2) между ПКРБ, КИ и конечной степенью поражения стеблевой ржавчины пшеницы

Обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что сорта яровой мягкой и твердой пшеницы достоверно различаются между собой как по степени поражения в целом за вегетационный период, так и по данным ПКРБ и КИ (рисунки 1,

2). Проведенный корреляционный анализ отразил наличие прямых связей между различными признаками, отвечающими за устойчивость сортов пшеницы к стеблевой ржавчине (рисунок 3). Ранее также выявлена высокая корреляция внутри всех параметров оценки устойчивости пшеницы (ПКРБ, КИ, конечная степень поражения и др.) к желтой [20] и стеблевой ржавчине [21]. Данные литературы и результаты собственных исследований дают основание утверждать, что при проведении оценки на болезнеустойчивость необходимо использовать комплекс подходов, с помощью которых можно было бы оценивать не только различные стороны устойчивости сортов пшеницы в полевых условиях, но и определить медленное развитие болезни («slow rusting») в процессе онтогенеза. Замедленная скорость нарастания болезни на сортах с неспецифической устойчивостью и уменьшение числа генераций патогена за вегетационный период предотвращает развитие сильных эпифитотий на посевах пшеницы.

После статистической обработки данных образцов установлено, что в данной генеральной совокупности выделяются два хорошо различимых кластера (рисунок 4). Высоко восприимчивые сорта сгруппированы в первом кластере, а во втором кластере оказались умеренно восприимчивые, умеренно устойчивые и устойчивые сорта яровой пшеницы, которые между собой распределены в отдельных субкластерах внутри кластера. Для образцов, выделенных в кластеры и субкластеры, характерен схожий набор признаков внутри группы и достоверные различия с другими субкластерами.

Результаты поражаемости патогеном в динамике показали, что отдельные сорта твердой пшеницы (Наурыз 6 и Омская янтарная) задерживали развитие возбудителя стеблевой ржавчины, т.е. обладали горизонтальной (полевой) устойчивостью. Считается, что горизонтальная устойчивость сохраняется в течение более длительного времени, чем устойчивость вертикальная, поскольку популяция патогена имеет меньше шансов накопить мутации вирулентности, преодолевающие полигенную устойчивость [20, 21]. Кроме того, 2 сорта *T.aestivum* – Кондитерская яровая и Любава 5 при проведении первой оценки показали устойчивость, но в последующих оценках проявили умеренную восприимчивость к болезни. Следовательно, данные сорта в зависимости от погодных условий и климата могут проявить устойчивость в производственных посевах в условиях естественного инфекционного фона.

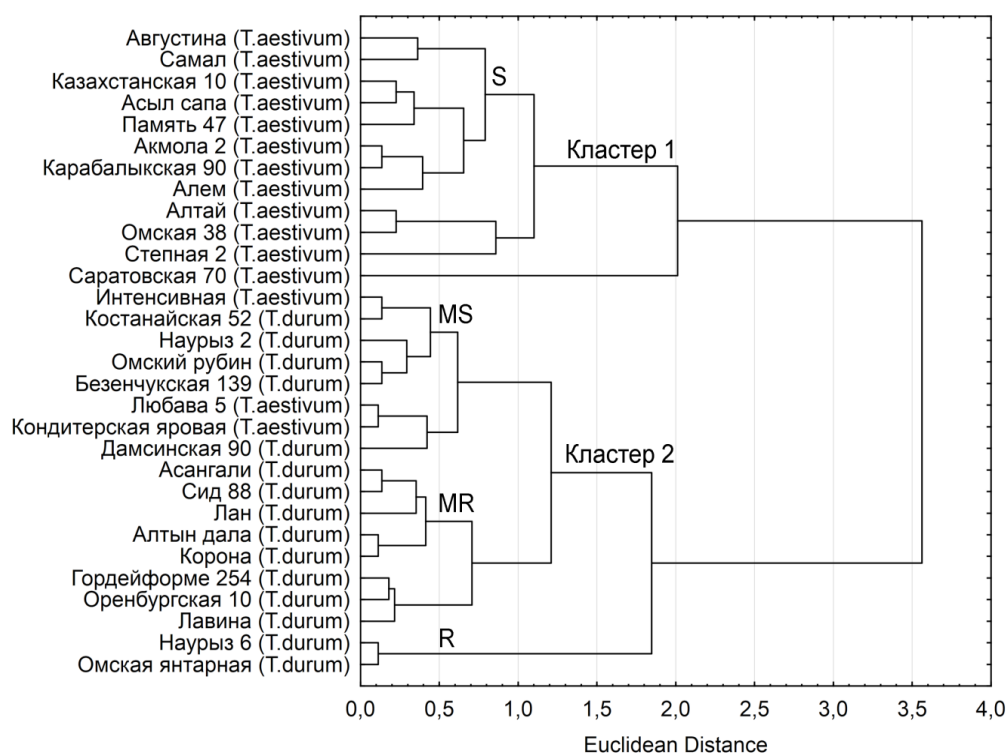


Рисунок 4 – Дендрограмма сходства сортов мягкой и твердой пшеницы по признакам устойчивости к стеблевой ржавчине

Фитопатологическая оценка на инфекционном фоне показала, что исследуемые коммерческие сорта яровой мягкой пшеницы в сравнительно большей степени восприимчивы к стеблевой ржавчине в период взрослых растений, чем сорта твердой пшеницы (рисунок 1). Аналогичные данные получены другими исследователями, в частности генотипы твердой пшеницы являются более эффективными источниками устойчивости к болезни, чем сорта мягкой пшеницы [22-24]. Недавно было установлено, что синтетические линии мягкой пшеницы, полученные скрещиванием сортов твердой пшеницы, проявляют высокую устойчивость к стеблевой ржавчине в условиях Западной Сибири [25]. Однако в последнее годы в отдельных странах мира появляются вирулентные расы *P. graminis* f.sp. *tritici* к сортам твердой пшеницы. При этом сорта и линии *T.durum*, устойчивые к вариантам расы Ug99 в Кении, оказались восприимчивыми к другим расам гриба в Эфиопии [26]. Кроме того в 2016 году на итальянском острове Сицилия была обнаружена вирулентная раса TTTTF на твердой пшенице. В результате эпифитотии данной расы многие сорта твердой пшеницы в течение двух-трех лет потеряли устойчивость к

стеблевой ржавчине [8]. Особенностью новых рас *P. graminis* f.sp. *tritici* последних лет является их вирулентность к сортам с генами Sr9e, Sr13 и другим эффективным генам устойчивости против расы Ug99. Как известно, многие сорта твердой пшеницы в мире обладают генов Sr9e и Sr13 [8, 26].

Таким образом, можно утверждать, что в настоящее время в природной среде циркулируют расы стеблевой ржавчины, вирулентные к Sr9e и Sr13, соответственно привлечение источников данных генов в селекционных программах твердой пшеницы не является перспективным. Анализ результатов сравнительного изучения коммерческих сортов мягкой и твердой пшеницы показывает их большое разнообразие по признакам возрастной устойчивости к стеблевой ржавчине и несомненную ценность отдельных сортов, выделенных по тем или иным признакам болезнеустойчивости. На жестком инфекционном фоне коммерческие сорта мягкой пшеницы сильно поражаются стеблевой ржавчиной. Следовательно, необходимо усилить селекционную работу по яровой мягкой пшенице, направленную на создание новых сортов, устойчивых к болезни.

Авторы благодарят сотрудников лаборатории фитосанитарной безопасности НИИПББ за оказанную помощь при проведении экспериментов. Работа была выполнена при финансо-

вой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках программы грантового финансирования на 2018-2020 гг. (грант №АР05132236).

Литература

- 1 Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E. Rust Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management. – Mexico: CIMMYT, 1992. – 81 p.
- 2 Dean R., Van Kan J.A.L., Pretorius Z.A., Hammond-Kosack K., Di Pietro A., Spanu P., Rudd J.J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J., Foster G.D. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. // *Mol. Plant Pathol.* 2012. – Vol.13. – P.414-430.
- 3 Pretorius Z.A., Singh R.P., Wagoire W.W., Payne T.S. Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene Sr31 in *Puccinia graminis* f.sp. tritici in Uganda. // *Plant Dis.* 2000. – Vol.84. – P.203.
- 4 Singh R.P., Hodson D.P., Huerta-Espino J., Jin Y., Bhavani S., Njau P., Herrera-Foessel S. A., Singh P.K., Singh S., Govindan V. The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production. // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2011. – Vol.49. – P.465-481.
- 5 Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y., Lagudah E.S., Ayliffe M.A., Bhavani S., Rouse M.N., Pretorius Z.A., Szabo L.J., Huerta-Espino J., Basnet B.R., Lan C., Hovmöller M.S. Emergence and spread of new races of wheat stem rust fungus: Continued threat to food security and prospects of genetic control. // *Phytopathology.* 2015. – Vol.10. – P.872-884.
- 6 Mert Z., Karakaya A., Dusunceli F., Akan K., Cetin L. Determination of *Puccinia graminis* f.sp. tritici races of wheat in Turkey. // *Turk. J. Agric. For.* 2012. – Vol.36. – P.107-120.
- 7 Olivera Firpo P., Newcomb, M., Flath, K., Sommerfeldt-Impe, N., Szabo, L., Carter, M., Luster, D., Jin, Y. Characterization of *Puccinia graminis* f.sp. tritici isolates derived from an unusual wheat stem rust outbreak in Germany in 2013. // *Plant Pathol.* 2017. – Vol.66. – P.1258-1266.
- 8 Bhattacharya S. Deadly new wheat disease threatens Europe's crops. // *Nature.* 2017. – Vol.542. – P.145-146.
- 9 Lewis C. M., Persoons A., Bebbler D. P., Kigathi R. N., Maintz J., Findlay K., Corredor-Moreno P., Harrington S.A., Kangara N., Berlin A., Garcia R., German S.E., Hanzalova A., Hodson D., Hovmoller M.S., Huerta-Espino J., Imtiaz M., Iqbal Mirza J., Justesen A. F., Niks R.E., Omarani A., Patpour M., Pretorius Z.A., Roohparvar R., Sela H., Singh R.P., Steffenson B., Visser B., Fenwick P.M., Thomas J., Wulff B.B., Saunders D.G.O. Potential for re-emergence of wheat stem rust in the United Kingdom. // *Communications Biology.* 2018. – Vol.1(13). DOI: 10.1038/s42003-018-0013-y
- 10 Rsaliyev A.S., Rsaliyev Sh.S. Principal approaches and achievements in studying race composition of wheat stem rust. // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* – 2018. – Vol.22(8). – P.967-977.
- 11 Shamanin V., Salina E., Wanyera R., Zelenskiy Y., Olivera P., Morgounov A.I. Genetic diversity of spring wheat from Kazakhstan and Russia for resistance to stem rust Ug99. // *Euphytica.* 2016. – Vol.212(2). – P.287-296.
- 12 Койшыбаев М. Особенности развития ржавчины и септориоза на яровой пшенице в Северном Казахстане. // *Защита и карантин растений.* 2017. – Вып.11. – С.21-24.
- 13 Stubbs R.W., Prescott J.M., Saari E.E., Dubin H.J. Cereal disease methodology manual. – Mexico: CIMMYT, 1986. – 46 p.
- 14 Рсалиев Ш.С., Тилеубаева Ж.С., Рсалиев А.С., Агабаева А.Ч. Методы выявления ценных сортов зерновых культур среди интродуцированных селекционных материалов // *Методическая рекомендация.* – Гвардейский, 2004. №828. – 15 с.
- 15 Гешеле Э.Э. Методы заражения растений и учета его результатов в селекции // *Основы фитопатологической оценки в селекции растений.* – Москва: Колос, 1978. – С.129-159.
- 16 Stakman E.C. Stewart D.M., Loegering W.Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. tritici // *U.S. Agric. Res. Serv.* – 1962. – Vol. 617. – P.1-53.
- 17 Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals // *Canad. J. Res.* – 1948. – Vol. 26. – P.496-500.
- 18 Wilcoxson R.D., Skovmand B., Atif A.H. Evaluation of wheat cultivars for ability to retard development of stem rust // *Annual Applied Biology.* – 1975. – P.275-281.
- 19 Ward J. Hierarchical grouping to optimize an objective function. // *Journal of the American Statistical Association.* – 1963. – Vol.58. – P.236-44.
- 20 Qamar M., Mujahid M.Y., Khan M.A., Ahmad Z., Kisana N.S., Rattu A.R. Assessment of partial resistance in seven spring bread wheat genotypes to stripe rust (*Puccinia striiformis*) under field conditions. // *Sarhad J. Agric.* 2007. – Vol.23 (4). – P.1003-1008.
- 21 Nzuve F.M., Bhavani S., Tusiime G., Njau P. Field screening of bread wheat for partial sources of resistance to stem rust. // *Third RUFORUM Biennial Meeting 24-28 September 2012, Entebbe, Uganda.* – P.1419-1431.
- 22 Knott D.R. The transfer of stem rust resistance from the Ethiopian durum wheat St. 464 to common wheat. // *Canadian Journal of Plant Science.* 1996. – Vol.76. – P.317-319.

- 23 Bonman J.M., Bockelman H.E., Jin Y., Hijmans R.J., Gironella A.I.N. Geographic distribution of stem rust resistance in wheat landraces. // *Crop Science*. 2007. – Vol.47. – P.1955-1963.
- 24 Admassu B., Friedt W., Ordon F. Stem rust seedling resistance genes in Ethiopian wheat cultivars and breeding lines. // *African Crop Science Journal*. 2012. – Vol. 20(3). – P.149-16.
- 25 Шаманин В.П., Потоцкая И.В., Шепелев С.С., Пожерукова В.Е., Трущенко А.Ю., Чурсин А.С., Моргунов А.И. Оценка линий синтетической пшеницы (*Triticum durum/Aegilops tauschii*) по вегетационному периоду и устойчивости к болезням. // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017. – Вып.21(3). – С.347-353.
- 26 Olivera P.D., Jin Y., Rouse M., Badebo A., Fetch T., Singh R. P., Yahyaoui A. Races of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* with combined virulence to Sr13 and Sr9e in a field stem rust screening nursery in Ethiopia. // *Plant Disease*. 2012. – Vol.96. – P.623-628.

References

- 1 Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E. (1992) *Rust Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management*. CIMMYT, D.F., Mexico. p.81.
- 2 Dean R., Van Kan J.A.L., Pretorius Z.A., Hammond-Kosack K., Di Pietro A., Spanu P., Rudd J.J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J., Foster G.D. (2012) The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol*, vol. 13, pp. 414-430.
- 3 Pretorius Z.A., Singh R.P., Wagoire W.W., Payne T.S. (2000) Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene Sr31 in *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* in Uganda. *Plant Dis*, vol. 84, p. 203.
- 4 Singh R.P., Hodson D.P., Huerta-Espino J., Jin Y., Bhavani S., Njau P., Herrera-Foessel S. A., Singh P.K., Singh S., Govindan V. (2011) The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production. *Annu. Rev. Phytopathol*, vol. 49, pp.465-481.
- 5 Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y., Lagudah E.S., Ayliffe M.A., Bhavani S., Rouse M.N., Pretorius Z.A., Szabo L.J., Huerta-Espino J., Basnet B.R., Lan C., Hovmöller M.S. (2015) Emergence and spread of new races of wheat stem rust fungus: Continued threat to food security and prospects of genetic control. *Phytopathology*, vol. 10, pp.872-884.
- 6 Mert Z., Karakaya A., Dusunceli F., Akan K., Cetin L. (2012) Determination of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* races of wheat in Turkey. *Turk. J. Agric. For.*, vol. 36, pp.107-120.
- 7 Olivera Firpo P., Newcomb M., Flath K., Sommerfeldt-Impe N., Szabo L., Carter M., Luster D., Jin Y. (2017) Characterization of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* isolates derived from an unusual wheat stem rust outbreak in Germany in 2013. *Plant Pathol.*, vol. 66, pp.1258–1266.
- 8 Bhattacharya S. (2017) Deadly new wheat disease threatens Europe's crops. *Nature*, vol.542, pp.145-146.
- 9 Lewis C. M., Persoons A., Bebbler D. P., Kigathi R. N., Maintz J., Findlay K., Corredor-Moreno P., Harrington S.A., Kangara N., Berlin A., Garcia R., German S.E., Hanzalova A., Hodson D., Hovmoller M.S., Huerta-Espino J., Imtiaz M., Iqbal Mirza J., Justesen A. F., Niks R.E., Omarani A., Patpour M., Pretorius Z.A., Roohparvar R., Sela H., Singh R.P., Steffenson B., Visser B., Fenwick P.M., Thomas J., Wulff B.B., Saunders D.G.O. (2018) Potential for re-emergence of wheat stem rust in the United Kingdom. *Communications Biology*, vol.1, pp.13. DOI: 10.1038/s42003-018-0013-y
- 10 Rsaliyev A.S., Rsaliyev Sh.S. (2018) Principal approaches and achievements in studying race composition of wheat stem rust. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, vol.22, no.8, pp. 967-977.
- 11 Shamanin V., Salina E., Wanyera R., Zelenskiy Y., Olivera P., Morgounov A.I. (2016) Genetic diversity of spring wheat from Kazakhstan and Russia for resistance to stem rust Ug99. *Euphytica*, vol.212, no.2, pp.287-296.
- 12 Koyschybayev M. (2017) Osobennosti razvitiya rzhavchiny i septorioza na yarovoy pshenitse v Severnom Kazakhstane. *Zashchita i karantin rasteniy* [Plant protection and quarantine], vol.11, pp.21-24.
- 13 Stubbs R.W., Prescott J.M., Saari E.E., Dubin H.J. (1986) *Cereal disease methodology manual*. CIMMYT, Mexico. 46 p.
- 14 Rsaliyev Sh.S., Tileubayeva Zh.S., Rsaliyev A.S., Agabayeva A.Ch. (2004) *Metody vyyavleniya tsennykh sortov zernovykh kul'tur sredi introdutsirovannykh selektsionnykh materialov. Metodicheskaya rekomendatsiya*. [Methodical recommendation], *Gvardeyskiy*, no. 828, p.15.
- 15 Geshele E.E. (1978) *Metody zarazheniya rasteniy i ucheta yego rezul'tatov v selektsii. Osnovy fitopatologicheskoy otsenki v selektsii rasteniy* [Basics of phytopathological evaluation in plant breeding], Moscow: Kolos, pp.129-159.
- 16 Stakman E.C. Stewart D.M., Loegering W.Q. (1962) Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. *U.S. Agric. Res. Serv.*, vol. 617, pp.1-53.
- 17 Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. (1948) A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Canad. J. Res.*, vol. 26, pp.496-500.
- 18 Wilcoxson R.D., Skovmand B., Atif A.H. (1948) Evaluation of wheat cultivars for ability to retard development of stem rust. *Annual Applied Biology*, pp.275-281.
- 19 Ward J. (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, vol.58, pp.236–44.
- 20 Qamar M., Mujahid M.Y., Khan M.A., Ahmad Z., Kisana N.S., Rattu A.R. (2007) Assessment of partial resistance in seven spring bread wheat genotypes to stripe rust (*Puccinia striiformis*) under field conditions. *Sarhad J. Agric.*, vol.23, no. 4, pp.1003-1008.

- 21 Nzuve F.M., Bhavani S., Tusiime G., Njau P. (2012) Field screening of bread wheat for partial sources of resistance to stem rust. Third RUFORUM Biennial Meeting, Entebbe, Uganda. pp.1419-1431.
- 22 Knott D.R. (1996) The transfer of stem rust resistance from the Ethiopian durum wheat St. 464 to common wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, vol.76, pp.317-319.
- 23 Bonman J.M., Bockelman H.E., Jin Y., Hijmans R.J., Gironella A.I.N. (2007) Geographic distribution of stem rust resistance in wheat landraces. *Crop Science*, vol.47, pp.1955-1963.
- 24 Admassu B., Friedt W., Ordon F. (2012) Stem rust seedling resistance genes in Ethiopian wheat cultivars and breeding lines. *African Crop Science Journal*, vol. 20, no.3, pp. 149-16.
- 25 Shamanin V.P., Pototskaya I.V., Shepelev S.S., Pozherukova V.E., Truschenko A.Yu., Chursin A.S., Morgunov A.I. (2017) Evaluation of synthetic wheat lines (*Triticum durum/Aegilops tauschii*) for vegetative period and resistance to diseases. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, vol.21, no.3, pp.347-353.
- 26 Olivera P.D., Jin Y., Rouse M., Badebo A., Fetch T., Singh R. P., Yahyaoui A. (2012) Races of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* with combined virulence to Sr13 and Sr9e in a field stem rust screening nursery in Ethiopia. *Plant Disease*, vol.96, pp.623-628.

4-бөлім
**МОЛЕКУЛАЛЫҚ
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА**

Section 4
**MOLECULAR
BIOLOGY AND GENETICS**

Раздел 4
**МОЛЕКУЛЯРНАЯ
БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА**

**Калимагамбетов А.М.¹, Бекимбек А.Т.¹, Мұхамедиярова С.Қ.¹,
Ракишева З.Б.², Белоусов В.Ю.², Соломадин М.В.², Садуаева К.А.³**

¹Ал-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: k_aitkali@mail.ru

²ЖШС «Tree Gene» Генетикалық лабораториясы, Қазақстан, Алматы қ.

³Қалалық перинаталдық орталық, Қазақстан, Алматы қ.

**ҚАЗАҚ ЭТНИКАЛЫҚ ТОБЫНДАҒЫ ӘЙЕЛДЕРДІҢ
ГЕМОСТАЗ ЖҮЙЕСІНІҢ ПОЛИМОРФТЫ ГЕНДЕРІНІҢ
ЖҮКТІЛІКТІҢ АСҚЫНУЛАРЫМЕН АССОЦИАЦИЯСЫ**

Қан ұю жүйесі гендерінің полиморфизмін түрлі ауруларда, соның ішінде жүктіліктің асқынулары жағдайында, зерттеу заманауи биология және медицинаның өзекті мәселесі болып табылады. Жұмыста қазақ этникалық тобындағы әйелдердің жүктілігінің асқынулары жағдайындағы гемостаз жүйесінің FGB, F2, F5, F7 негізгі гендерінің полиморфизміне зерттеу жүргізілді. 196 жүктілігі асқынған әйелдер (тәуекел тобы – алғашқы екі жүктілікте өздігінен түсіктің болуы, преэклампсия, эклампсия және кейінгі жүктіліктерде ұрық жоғалту синдромының болуы) және 198 физиологиялық жүктілігі бар әйелдер (бақылау тобы – алғашқы екі жүктілігінде қалыпты босанған және ағымдағы жүктілігінде асқынулары жоқ) тексеруден өтті. Тромбофилияның полиморфты гендерінің талдауы үшін Real-Time режиміндегі ПТР әдісі қолданылды. Амплификация өнімдерінің детекциясы CFX96 (BioRad, USA) құрылғысында автоматты түрде жүргізілді. Мүмкіндіктер қатынасының (OR) 95%-дық сенімділік интервалымен (CI) көрсеткіштерінің есебі белгілердің тұқым қуалауының 4 моделі бойынша жүргізілді (мультипликативті, жалпы, доминантты, рецессивті). Жүктіліктің асқынулары жағдайында FGB генінің полиморфизмінің статистикалық мәнділігінің айырмашылығы тұқым қуалаудың мультипликативті ($\chi^2 = 7,640$, $p = 0,006$, OR (95%, CI) = 1,84(1,19-2,86)), жалпы ($\chi^2 = 7,292$, $p = 0,026$, OR (95%, CI) = 1,73(1,05-2,84)), рецессивті ($\chi^2 = 6,680$, $p = 0,010$, OR (95%, CI) = 1,88(1,16-3,05)) модельдерінде анықталды. Зерттеуге алынған гендердің 11 үйлесім нұсқаларының жүктіліктің асқынулары жағдайымен ассоциациясы қарастырылды. Жүктіліктің асқынуларымен байланысты гендер үйлесімдерінің FGB+F2, FGB+F5, FGB+F2+F5, FGB+F5+F7, FGB+F2+F5+F7 нұсқаларында статистикалық мәнді айырмашылығы FGB генінің полиморфизміне байланысты болды. Басқа 6 варианттарда статистикалық мәнді айырмашылықтар анықталған жоқ. FGB гені полиморфизмінің статистикалық мәнділігі қазақ этникалық тобындағы әйелдердің ұрық жоғалту синдромының қалыптасуында маңызды рөл атқарады және жүктіліктің асқынуларына бейімділігін молекулалық-генетикалық диагностикасында қолданылуы мүмкін.

Түйін сөздер: жүктіліктің асқынулары, гемостаз жүйесі, тромбофилия, гендердің полиморфизмі.

Kalimagambetov A.M.¹, Bekimbek A.T.¹, Mukhamediyarova S.K.¹,
Rakishcheva Z.B.², Belousov V.Yu.², Solomadin M.V.², Sadueva K.A.³

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: k_aitkali@mail.ru

²Genetic laboratory of LLP «Tree Gene», Kazakhstan, Almaty

³City Perinatal Centre, Kazakhstan, Almaty

**Association of hemostatic system genes
with pregnancy complications in women of the kazakh ethnic group**

The study of polymorphism of blood coagulation genes in various diseases, including pregnancy complications, is an important problem of modern biology and medicine. The polymorphism of the main genes FGB, F2, F5, F7 of the hemostasis system in pregnant women of the Kazakh ethnic group

was studied. 196 women with pregnancy complications were examined (risk group – history of the first two pregnancies with spontaneous miscarriages, pre-eclampsia, eclampsia and fetal loss syndrome during subsequent pregnancies) and 198 women with physiological pregnancy (control group – the first two pregnancies ended in normal childbirth and the absence of complications in current pregnancy). Polymorphic thrombophilic genes analyzed using Real-time PCR. Detection of amplification products was performed automatically using the CFX96 apparatus (BioRad, USA). The calculation of odds ratios (OR) with a 95% confidence interval (CI) was carried out using four models of inheritance of characters (multiplicative, total, dominant, recessive). A statistically significant difference in the FGB gene polymorphism was found in the multiplicative ($\chi^2=7.640$, $p=0.006$, OR (95%, CI)=1.84(1.19-2.86)), the total ($\chi^2=7.292$, $p=0.026$, OR (95%, CI)=1.73(1.05-2.84)), recessive ($\chi^2=6.680$, $p=0.010$, OR (95%, CI)=1.88(1.16-3.05)) models of inheritance. Associations of 11 different variants of the studied gene combination with pregnancy complications are considered. Statistically significant differences in the combinations of FGB + F2, FGB + F5, FGB + F2 + F5, FGB + F5 + F7, FGB + F2 + F5 + F7 genes associated with pregnancy complications are due to the FGB gene polymorphism. In the other 6 variants, no statistically significant differences were found. The statistical significance of polymorphism of the FGB gene suggests its significant role in the formation of the risk of fetal loss in women of the Kazakh ethnic group and can be used in the molecular genetic diagnosis of a predisposition to the complication of pregnancy.

Key words: pregnancy complication, hemostasis system, thrombophilia, gene polymorphism.

Калимагамбетов А.М.¹, Бекимбаев А.Т.¹, Мұхамедиярова С.Қ.¹,
Ракишева З.Б.², Белоусов В.Ю.², Соломадин М.В.², Садуаева К.А.³

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, e-mail: k_aitkali@mail.ru

²Генетическая лаборатория ТОО «Tree Gene», Казахстан, г. Алматы

³Городской перинатальный центр, Казахстан, г. Алматы

Ассоциация генов системы гемостаза с осложнениями беременности у женщин казахской этнической группы

Изучение полиморфизма генов свертывания крови при различных заболеваниях, в том числе, при осложнениях беременности, является актуальной проблемой современной биологии и медицины. В работе проведено исследование полиморфизма основных генов FGB, F2, F5, F7 системы гемостаза у беременных женщин казахской этнической группы. Обследовано 196 женщин с осложнениями беременности (группа риска – наличие в анамнезе первых двух беременностей с самопроизвольными выкидышами, преэклампсии, эклампсии и синдрома потери плода при последующих беременностях) и 198 женщин с физиологическим течением беременности (группа контроля – в анамнезе первые две беременности завершились нормальными родами и отсутствие осложнений при текущей беременности). Для анализа полиморфных генов тромбофилии использован метод ПЦР в режиме Real-Time. Детекция продуктов амплификации осуществлялась автоматически с помощью аппарата CFX96 (BioRad, США). Расчет показателей отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (CI) проводился по четырем моделям наследования признаков (мультипликативной, общей, доминантной, рецессивной). Установлено статистически значимое различие полиморфизма гена FGB по мультипликативной ($\chi^2=7,640$, $p=0,006$, OR (95%, CI)=1,84(1,19-2,86)), общей ($\chi^2=7,292$, $p=0,026$, OR (95%, CI)=1,73(1,05-2,84)), рецессивной ($\chi^2=6,680$, $p=0,010$, OR (95%, CI)=1,88(1,16-3,05)) моделям наследования. Рассмотрены ассоциации 11 различных вариантов комбинации изученных генов с осложнением беременности. Статистически значимые различия по вариантам комбинации генов FGB+F2, FGB+F5, FGB+F2+F5, FGB+F5+F7, FGB+F2+F5+F7 ассоциированных с осложнением беременности обусловлены полиморфизмом гена FGB. В других 6 вариантах статистически значимых различий не обнаружено. Статистическая значимость полиморфизма гена FGB предполагает его существенную роль в формировании риска потери плода у женщин казахской этнической группы и может использоваться при молекулярно-генетической диагностике предрасположенности к осложнениям беременности.

Ключевые слова: осложнение беременности, система гемостаза, тромбофилия, полиморфизм генов.

1. Кіріспе

Тромбофилия – қан айналым жүйесін зақымдайтын аурулар тобына жатады, яғни қан та-

мырларында тромбтардың түзілуімен сипатталады. Бұл патология көп жағдайда жүктілік барысында пайда болады, себебі жүкті әйел организмінде қан айналымның үшінші пла-

централы шеңбері дамиды [1]. Тромбофилияға генетикалық бейімділік жүктілік кезіндегі асқынулардың (тұрақты түрде жүктілікті аяғына дейін көтермеу, плацентарлық жетіспеушілік, ұрықтың дамуының ақауы, кеш токсикоз), гормональдық контрацептивтерді пайдалану, гомоцистеин деңгейінің көтерілуі, бірнеше гендердің мутациясы, антифосфолипидті антиденелердің даму қаупімен тікелей байланысты. Жүктіліктің қалыпты жүруі кезінде гемостаз жүйесінде физиологиялық бейімделу дамиды, яғни қанның жалпы коагуляциялық потенциалының саты бойынша күшеюі қан ұю факторларының белсенділігі мен сандық құрамының 1,5-2 есе көбеюімен және антикоагулянтты потенциалдың төмендеуімен сипатталады. Жүктілік кезіндегі микротромбоздардың пайда болуы түрлі патологиялардың туындауын жүзеге асырады [2-4].

Гемостаз жүйесіне жауапты және қанның реологиялық қасиеттерін қамтамасыз ететін гендердің өзгеріске ұшырауы тромбофилияға алып келеді де, жүктіліктің асқынуларының негізгі себебі болуы мүмкін. Жүктіліктің асқынуларын тудыратын ұрық-плацентарлық қан ағысының патогенетикалық механизм ретінде бұзылысқа ұшырауы бойынша, генетикалық полиморфты варианттарды зерттеу өзекті болып отыр. Мұндай полиморфизмдер салдарынан қан ұю үрдісінде түрлі өзгерістер орын алады. Плацентаның қан тамырларындағы тромбтардың түзілуі имплантацияланған жұмыртқа жасушасының бұзылысқа ұшырауына алып келеді. Гиперкоагуляцияны тудыратын қан ұю жүйесінің коагуляциялық немесе тромбоцитарлық қатарына кіретін кез келген белоктің ақауы қан тамырларының тромбозы және жүктіліктің асқынуларының негізгі себебі болып табылады. Сондықтан заманауи медицинаның өзекті мәселесі – тромбофилия маркерлерін анықтау [5-7].

Қазіргі таңда гемостаз жүйесінің полиморфты F2 (*rs 1799963*), F5 (*rs 6025*), F7 (*rs 561241*), FGB (*rs 4220*) гендерінің өзара үйлесімдерінің жүктіліктің асқынуларымен ассоциациясы тромбоздың қауіп факторлары болып табылады [8].

F2 гені қан плазмасында белсенді емес формада болатын және қан ұю жүйесінің маңызды компоненті – тромбиннің алғы заты болып табылатын, II қан ұю факторын немесе протромбин, – гликопротеинді кодтайды. Геннің хромосомадағы локализациясы – 11p11.2. F2 генінің мутациясы геннің реттеуші аумағындағы 20210 позициясында гуаниннің (G) аденин-

ге (A) ауысуына негізделген және G20210A генетикалық маркері түрінде белгіленеді. A аллелінің еуропа популяциясында кездесуі 1,7-3% құрайды [9].

F5 гені V қан ұю факторын (Лейден факторы) кодтайды, сонымен қатар F10 факторы арқылы протромбиннің тромбинге айналуындағы кофактор ретінде қызмет атқаратын қанның ұюын реттеуші негізгі плазматикалық белок. Геннің хромосомадағы локализациясы – 1q24.2. F5 генінің мутациясы 1691 позициясында гуаниннің (G) аденинге (A) ауысуына негізделген және G1691A генетикалық маркері түрінде белгіленеді. F5 гені V қан ұю факторын, плазматикалық белокты кодтап, қанда белсенді емес формада айналымда болады. Оның активтенуі кальций иондары арқылы V қан ұю факторының ауыр және жеңіл тізбектерін біріктіретін тромбин арқылы жүзеге асады. A аллелінің еуропа популяциясында кездесуі 1-8% құрайды [10-11].

F7 гені VII қан ұю факторын (проконвертин) кодтайды және бауырда синтезделініп K витамині қатынасында X және IX қан ұю факторларының активаторы ретінде қызмет атқарып, қанның ұюын реттейтін белок болып табылады. Геннің хромосомадағы локализациясы – 13q34. F7 генінің мутациясы 10976 позициясында гуаниннің (G) аденинге (A) ауысуына негізделген және G10976A генетикалық маркері түрінде белгіленеді. A аллелінің еуропа популяциясында кездесуі 1,7-10% құрайды [12].

FGB гені фибриноген белогінің бета-полипептидті тізбегін кодтайды, яғни глобулиндер тобына жататын қан плазмасының ерігіш белогі. Тромбин ферменті әсерімен бұл белок фибринге айналып, тромбты қалыптастыра алады. Геннің хромосомадағы локализациясы – 4q31.3. FGB генінің мутациясы -455 позициясында гуаниннің (G) аденинге (A) ауысуына негізделген және G(-455)A генетикалық маркері түрінде белгіленеді. Бұл генмен кодталатын белок, қан арқылы тасымалданатын және 3 жұп бірдей емес полипептидті тізбектерден тұратын, фибриногеннің бета-компоненті болып табылатын – гликопротеин. FGB геніндегі мутациялар бірнеше бұзылыстарға алып келеді, соның ішінде афибриногенемия, дисфибриногенемия, гиподисфибриногенемия және тромболитикалық тенденция. Баламалы түрде бұл генге түрлі изоформаларды кодтайтын транскрипттердің сплайсингтелінген нұсқалары табылған. Минорлы A аллелінің еуропа популяциясында кездесуі, шамамен, 20% құрайды [13-14].

Генетикалық ассоциациялардың талдауы (ген-кандидаттардағы полиморфизмдерді зерттеу) қазіргі таңда мультифакториальды аурулардың патогенезін генетикалық зерттеуде алдыңғы қатарда. Оның негізіне мультифакториальды аурулар кезіндегі тұқым қуалауға бейімділіктің маңызды факторы болып табылатын гендер кешенінің әсері жатады. Ассоциациялар анализінің теориялық алғышарты – генетикалық маркер ретінде қызмет атқаратын және жеке индивидуумдардың нуклеотидтік құрамы бойынша ерекшеленетін адам гендерінің көпшілігінде ерекше өзгермелі аумақтардың (полиморфизмдер) кездесуі [15-16].

Зерттеу жұмысының мақсаты қазақ этникалық тобындағы әйелдердің гемостаз жүйесінің полиморфты гендерінің өзара үйлесімдерінің жүктіліктің асқынуларымен байланысын зерттеу.

2. Зерттеу материалдары және әдістері

Зерттеу жұмысы барысында 394 қазақ этникалық тобындағы жүкті әйелдер тексеруден өтті, олар екі топқа бөлінді – тәуекел және бақылау тобы. Тәуекел тобын қалалық перинатальды орталықтың 196 жүкті әйелдері, ал бақылау тобын Алматы қаласының емханаларының 198 жүкті әйелдері құрады. Барлық әйелдер тексеруден өтуге ақпараттандырылған келісім берген болатын.

Тәуекел тобына жүкті әйелдерді бөлудің басты белгісіне анамнезінде алғашқы екі жүктіліктің өздігінен түсік тастаудан тоқтатылуы, преэклампсия түріндегі акушерлік асқынулар, эклампсия және кейінгі жүктіліктерде ұрық жоғалту синдромының болуы жатады. Бақылау тобына анамнезінде алғашқы екі жүктілік кезіндегі қалыпты босанған және ағымдағы жүктілігінде асқынулары жоқ әйелдер жатады. Тәуекел тобындағы әйелдердің орташа жасы $31,8 \pm 0,5$, ал бақылау тобында $32,6 \pm 0,5$ жасты құрады.

ДНК перифериялық қанның лимфоциттерінен «DNA Blood» әдісі арқылы бөлінді (Молекулалық Генетика орталығы, Мәскеу, РФ). Гендердің полиморфизмін зерттеу аллель-спецификалық праймерлерді пайдалану арқылы ПТР (полимеразды тізбекті реакция) әдісімен Real-Time амплификаторында CFX96 (BioRad, USA) жүргізілді. Амплификация өнімдерінің детекциясы CFX96 BioRad құрылғысында амплификацияның әр циклінде («SNPexpress» Lytech, Мәскеу, РФ) автоматты түрде іске асырылды.

Гемостаз жүйесінің келесідей гендерінің таралу жиіліктері анықталды: F2-протромбин (қанның қоюлану II факторы), F5 (қанның қоюлану V факторы, Лейден мутациясы), F7 (қанның қоюлану VII факторы), FGB-фибриноген (қанның қоюлану I факторы). Сонымен қатар, FGB+F2, FGB+F5, FGB+F7, F2+F5, F2+F7, F5+F7, FGB+F2+F5, FGB+F2+F7, FGB+F5+F7, F2+F5+F7, FGB+F2+F5+F7 полиморфты гендерінің өзара үйлесімдерінің жүктіліктің асқынуларымен ассоциациясы зерттелді.

Зерттелуші топтардағы жүктіліктің асқынуларымен ассоциациясы бар полиморфты аллельдер жиілігін салыстыру үшін мүмкіндіктер қатынасы (OR) және мүмкіндіктер қатынасы үшін (95%, CI) сенімділік интервалы (CI) анықталды. Талдауға алынған полиморфты гендердің таралу жиілігі және жүктіліктің асқынуларымен ассоциациясын зерттеу үшін Software GraphPad Instat™ (V. 2.04. Ralf Stahlman, Purdue University) бағдарламалық жасақтама пайдаланылды. Мүмкіндіктер қатынасының (OR) 95%-дық сенімділік интервалымен (CI) көрсеткіштерінің есебі белгілердің тұқым қуалауының 4 моделі бойынша жүргізілді (мультипликативті, жалпы, доминантты, рецессивті). Тәуекел және бақылау тобындағы FGB, F2, F5, F7 гендері генотиптерінің жиіліктерінің таралуына Харди-Вайнберг заңына сәйкес талдау жүргізілді. Нәтижесінде генотиптер жиіліктерінің таралуы бойынша, екі топта да генетикалық тепе-теңдік сақталынған.

3. Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Гемостаз жүйесінің негізгі FGB, F2, F5, F7 полиморфты гендерінің аллельдері мен генотиптерінің таралу жиіліктерінде статистикалық сенімділіктің маңыздылығы анықталды. FGB гені бойынша зерттеу нәтижелері тексеруден өткен жүкті әйелдердің аллель және генотиптерінің саны мен кездесу жиілігі 1-ші кестеде көрсетілген.

FGB гені гетерозиготалы және патологиялық гомозиготалы формада жиі кездеседі. Әйелдерде А/А патологиялық гомозиготалы генотип жүктілікті аяғына дейін көтермеу жағдайында жиі кездеседі. FGB аллельдерінің полиморфизмі заңды және жүктіліктің асқынуларының патологиялық үрдістерінде клиникалық маңызы бар [17]. Тұқым қуалаудың мультипликативті және жалпы модельдері негізінде FGB генінің сенімділік және мүмкіндіктер қатынасы бойынша ерекшеліктері 2-ші және 3-ші кестелерде көрсетілген.

1-кесте – FGB генінің аллельдері және генотиптерінің саны мен кездесу жиілігі

Аллель, генотип атауы	Тәуекел тобы n=196		Бақылау тобы n=198	
	N	%	N	%
G	331	84,4	360	90,9
A	61	15,6	36	9,1
G/G	141	71,9	164	82,8
G/A	49	25,0	32	16,2
A/A	6	3,1	2	1,0

Ескерту: n – жүкті әйелдер саны; N – аллельдер, генотиптер саны

2-кесте – FGB гені бойынша тұқым қуалаудың мультипликативті моделі

Аллельдер	Тәуекел тобы n=196	Бақылау тобы n=198	χ^2	p	OR		
					мәні	95%, CI	
G	0,844	0,909	7,640	0,006	0,54	0,35	0,84
A	0,156	0,091			1,84	1,19	2,86

Ескерту: n – жүкті әйелдер саны

2-ші кесте бойынша FGB генінің тұқым қуалаудың мультипликативті және жалпы моделі негізінде аллельдер және генотиптер жиіліктері тәуекел мен бақылау тобында статистикалық мәнді айырмашылықтар бар екендігін көрсетті. G және A аллельдері бойынша $\chi^2=7,640$, $p=0,006$ тең, яғни статистикалық

мәнді айырмашылықтардың сенімділігінің маңыздылығын көрсетеді. G аллелі бойынша OR (95%, CI)=0,54(0,35-0,84), яғни тәуекелділікке қатысы бойынша G аллелі қорғаныш қасиетін көрсетті. A аллелі бойынша OR (95%, CI)=1,84(1,19-2,86), яғни A аллелі патологияның дамуына байланысты болды деп айтуға болады.

3-кесте – FGB гені бойынша тұқым қуалаудың жалпы моделі

Генотиптер	Тәуекел тобы n=196	Бақылау тобы n=198	χ^2	p	OR		
					мәні	95%, CI	
G/G	0,719	0,828	7,292	0,026	0,53	0,33	0,86
G/A	0,250	0,162			1,73	1,05	2,84
A/A	0,031	0,010			3,09	0,62	15,52

Ескерту: n – жүкті әйелдер саны

3-ші кесте бойынша тұқым қуалаудың жалпы моделі негізінде генотип жиіліктерінің статистикалық талдау нәтижелері $\chi^2=7,292$, $p=0,026$ көрсетті, бірақ OR мәліметі бойынша статистикалық сенімділік байқалмады. FGB генінің G/A гетерозиготалық генотипі патологияның дамуына қауіптілікті көрсетеді, яғни OR (95%, CI)=1,73(1,05-2,84). Сонымен қатар, FGB генінің патологиялық гомозиготалы генотипі A/A бой-

ынша OR (95%, CI)=3,09(0,62-15,52), яғни айтарлықтай статистикалық сенімділік байқалған жоқ. 4-ші және 5-ші кестелерде FGB гені бойынша тұқым қуалаудың доминантты және рецессивті моделдерінің нәтижелері көрсетілді.

Тұқым қуалаудың доминантты моделі бойынша (4 кесте) статистикалық мәнді ауытқуы табылған жоқ OR (95%, CI)=0,32(0,06-1,62), $p=0,149$.

4-кесте – FGB гені бойынша тұқым қуалаудың доминантты моделі

Генотиптер	Тәуекел тобы n=196	Бақылау тобы n=198	χ^2	p	OR		
					мәні	95%, CI	
G/G және G/A	0,969	0,990	2,083	0,149	0,32	0,06	1,62
A/A	0,031	0,010			3,09	0,62	15,52

Ескерту: n – жүкті әйелдер саны

5-кесте – FGB гені бойынша тұқым қуалаудың рецессивті моделі

Генотиптер	Тәуекел тобы n=196	Бақылау тобы n=198	χ^2	p	OR		
					мәні	95%, CI	
G/G	0,719	0,828	6,680	0,010	0,53	0,33	0,86
G/A+AA	0,281	0,172			1,88	1,16	3,05

Ескерту: n – жүкті әйелдер саны

Рецессивті моделі бойынша (5 кесте) G/A+A/A генотиптері негізінде статистикалық мәнді айырмашылықтардың маңыздылығын анықтайды ($\chi^2=6,680$, $p=0,010$). FGB генінің гетерозиготалы және рецессивті гомозиготалы генотиптерінің G/A+A/A мүмкіндіктер қатынасының статистикалық мәнін байқатты – OR (95%, CI)=1,88(1,16-3,05), яғни жүктіліктің

асқынуларының даму қаупінің арту мүмкіндігін көрсетеді.

Тәуекел және бақылау тобындағы FGB гені генотиптерінің таралу жиіліктерінің Харди-Вайнберг заңына сәйкес талдау жүргізілді (6-ші және 7-ші кестелер). Генотиптер жиіліктерінің таралуы бойынша, екі топта да генетикалық тепе-теңділік сақталынған ($p>0,05$).

6-кесте – Бақылау тобының Харди-Вайнберг тесті

Генотиптер	Бақылау тобы n=198	Бақыланушы жиілік	HWE- теориялық күтілетін генотип- тердің жиіліктері	HWE- теориялық күтілетін генотип- тердің саны	χ^2	p (df=2)	p (df=1)
G/G	164	0,828	0,826	164	0,098	0,952	0,755
G/A	32	0,162	0,165	33			
A/A	2	0,010	0,008	2			

Ескерту: n – жүкті әйелдер саны

7-кесте – Тәуекел тобының Харди-Вайнберг тесті

Генотиптер	Тәуекел тобы n=196	Бақыланушы жиілік	HWE- теориялық күтілетін генотиптердің жиіліктері	HWE- теориялық күтілетін генотиптердің саны	χ^2	p (df=2)	p (df=1)
G/G	141	0,719	0,713	140	0,465	0,700	0,398
G/A	49	0,250	0,263	52			
A/A	6	0,031	0,024	5			

Ескерту: n – жүкті әйелдер саны

F2 гені бойынша жүргізілген статистикалық талдау нәтижелері келесідей: тұқым қуалаудың мультипликативті ($\chi^2=0,000$, $p=0,988$, OR (95%, CI)=1,01(0,25-4,07)), жалпы (G/A генотипінің OR (95%, CI)=1,01(0,25-4,10)) және доминантты моделі бойынша статистикалық мәнді айырмашылықтардың жоқ екендігін көрсетті. F2 гені бойынша тұқым қуалаудың рецессивті моделінде G/A+A/A генотиптерінің мүмкіндіктер қатынасының мәні келесідей болды: OR (95%, CI)=1,01(0,25-4,10), ($\chi^2=0,000$, $p=0,988$). Тәуекел және бақылау тобы бойынша рецессивті гомозиготалы (патологиялық) A/A генотипінің жоқ болуы анықталды.

F5 генін талдау нәтижелері рецессивті гомозиготалы (патологиялық) A/A генотипінің екі топта да кездеспейтіндігін көрсетеді. Тұқым қуалаудың мультипликативті моделінде G және A аллельдері бойынша $\chi^2=2,007$, $p=0,157$. Мүмкіндіктер қатынасы бойынша G аллелінің мәні – OR (95%, CI)=0,43(0,13-1,42) және A аллелінің мәні – OR (95%, CI)=2,30(0,70-7,54). Сонымен қатар, тұқым қуалаудың рецессивті моделі негізінде G/A+A/A генотиптері бойынша талдау нәтижелері статистикалық мәнді айырмашылық көрсетпеді: $\chi^2= 2,042$, $p=0,153$, OR (95%, CI)=2,33(0,71-7,71). Тұқым қуалаудың жалпы және доминантты модельдері бойынша да статистикалық сенімді айырмашылық анықталмады.

F7 генінің рецессивті гомозиготалы (патологиялық) A/A генотипі тек бақылау тобында ғана кездесуімен ерекшеленеді. Талдау нәтижелерінен тұқым қуалаудың рецессивті моделі бойынша G/A+A/A генотиптері жүктіліктің асқынуларымен байланысты емес екендігін көрсетті (OR (95%, CI)=0,95(0,58-1,57)). Сонымен бірге, тұқым қуалаудың мультипликативті ($\chi^2=0,435$, $p=0,509$, OR (95%, CI)=0,86(0,54-1,36)), жалпы ($\chi^2=4,046$, $p=0,132$, OR (95%, CI)=1,08(0,65-1,81)) және доминантты модельдері бойынша статистикалық мәнді айырмашылықтар анықталмады.

Гемостаз жүйесінің полиморфты гендерінің жүктіліктің асқынуларымен байланысын анықтау патологияның даму қаупін анықтау үшін маңызды. Сондықтан гемостаз жүйесінің FGB, F2, F5, F7 полиморфты гендерінің өзара үйлесімдері жүктіліктің асқынуларымен байланысы қарастырылды. Барлығы 11 вариант болды: FGB+F2, FGB+F5, FGB+F7, F2+F5, F2+F7, F5+F7, FGB+F2+F5, FGB+F2+F7, FGB+F5+F7, F2+F5+F7, FGB+F2+F5+F7. Полиморфты гендердің өзара үйлесімдерінің жүктіліктің асқынуларымен ассоциациясын статистикалық тал-

дау нәтижелері патологияның даму қаупінің мүмкіндігін анықтады. Статистикалық мәнді айырмашылықтары анықталған зерттеу нәтижелері 8-10 кестелерде көрсетілген.

8,9 және 10-шы кестелердің мәліметтері бойынша, FGB+F2 гендерінің үйлесімдерінің тұқым қуалаудың мультипликативті, жалпы және рецессивті моделі бойынша мүмкіндіктердің қатынасында статистикалық мәнді айырмашылықтар байқалды, OR (95%, CI)=1,70(1,13-2,55), $p=0,010$ A аллелі бойынша; OR (95%, CI)=1,56(1,00-2,45), $p=0,047$ G/A генотипі бойынша және OR (95%, CI)=1,67(1,08-2,58) G/A + A/A генотиптері бойынша, сәйкесінше.

FGB+F5 гендерінің үйлесімінің жүктіліктің асқынуларының дамуына ассоциациясы бойынша нәтижелер келесідей: тұқым қуалаудың мультипликативті ($\chi^2=9,126$, $p=0,003$, OR (95%, CI) =1,84(1,23-2,75)), жалпы моделінің G/A генотипі негізінде ($\chi^2=8,441$, $p=0,015$, OR (95%, CI)=1,74(1,12-2,70)), және тұқым қуалаудың рецессивті моделінің G/A+A/A генотиптері негізінде ($\chi^2=7,919$, $p=0,005$, OR (95%, CI)=1,84(1,20-2,82)). Яғни, FGB+F5 гендерінің үйлесімінің талдау нәтижелері статистикалық мәнді айырмашылықтарды байқатады. Ал, тұқым қуалаудың доминантты моделі бойынша айырмашылықтар сенімділігінің маңыздылығы анықталмады.

Гемостаз жүйесінің полиморфты FGB+F2+F5 гендерінің үйлесімі бойынша тұқым қуалаудың мультипликативті моделінің G және A аллельдері бойынша ($\chi^2=8,352$, $p=0,004$, OR (95%, CI)=1,75(1,19-2,56)), жалпы моделінің A/A генотипінде ($\chi^2=7,670$, $p=0,022$) және рецессивті моделінің G/A+A/A генотиптерінің мәндері ($\chi^2=7,070$, $p=0,008$, OR (95%, CI)=1,72(1,15-2,57)) статистикалық мәнді айырмашылықтарды көрсетті, ал тұқым қуалаудың доминантты моделі бойынша айырмашылықтар сенімділігінің маңыздылығы байқалмады.

FGB+F5+F7 полиморфты гендерінің өзара үйлесімдерінің жүктіліктің асқынуларымен ассоциациясы тұқым қуалаудың тек қана рецессивті моделінде анықталды: G/A+A/A генотиптерінің мүмкіндіктер қатынасы OR(95%, CI)=1,39(1,01-1,92), $\chi^2=4,102$, $p=0,043$.

Гемостаз жүйесінің FGB+F2+F5+F7 полиморфты гендерінің тек қана тұқым қуалаудың рецессивті моделі бойынша жүктіліктің асқынуларымен аз ғана ассоциациясы байқалды – G/A+A/A генотиптерінің мүмкіндіктер қатынасы (OR (95%, CI)=1,36(1,00-1,85)), $\chi^2=3,793$, $p=0,051$.

8-кесте – FGB+F2 гендерінің үйлесімі бойынша тұқым қуалаудың мультипликативті моделі

Аллельдер	Тәуекел тобы n=392	Бақылау тобы n=396	χ^2	p	OR		
					мәні	95%, CI	
G	0,917	0,949	6,652	0,010	0,59	0,39	0,84
A	0,083	0,051			1,70	1,13	2,55

Ескерту: n – аллельдер саны

9-кесте – FGB+F2 гендерінің үйлесімі бойынша тұқым қуалаудың жалпы моделі

Генотиптер	Тәуекел тобы n=392	Бақылау тобы n=396	χ^2	p	OR		
					мәні	95%, CI	
G/G	0,849	0,904	6,132	0,047	0,60	0,39	0,92
G/A	0,135	0,091			1,56	1,00	2,45
A/A	0,015	0,005			3,06	0,61	15,27

Ескерту: n – генотиптер саны

10-кесте – FGB+F2 гендерінің үйлесімі бойынша тұқым қуалаудың рецессивті моделі

Генотиптер	Тәуекел тобы n=392	Бақылау тобы n=396	χ^2	p	OR		
					мәні	95%, CI	
G/G	0,849	0,904	5,431	0,020	0,60	0,39	0,92
G/A + A/A	0,151	0,096			1,67	1,08	2,58

Ескерту: n – генотиптер саны

Қорыта келгенде, жоғарыда анықталған статистикалық мәнді айырмашылықтар FGB генінің кездесу жиілігіне байланысты деп санауға болады.

Басқа гендер үйлесімдерінің 6 варианттарында: FGB+F7, F2+F5, F2+F7, F5+F7, FGB+F2+F7, F2+F5+F7, тұқым қуалаудың мультипликативті, жалпы, доминантты, рецессивті модельдері бойынша талдау нәтижелерінде статистикалық мәнді айырмашылық байқалмады. Харди-Вайнберг заңы бойынша F2+F5+F7 ($p=0,015$) және FGB+F2+F5+F7 ($p=0,047$) полиморфты гендерінің үйлесімдерінде бақылау тобында генетикалық тепе-теңдіктің жоқ екендігі байқалды.

Қазіргі таңда зерттеуге алынған гендер полиморфизміне қатысты мәліметтерде қарама-қарсы қайшылықтар байқалады. Еуропа популяциясы (Босния) әйелдерін зерттеу барысында тромбофилияның генетикалық қауіп факторлары мен жүктіліктің асқинулары ассоциациясына талдау жүргізілген болатын. Негізгі назар F5 1691 G/A, F2 20210 G/A полиморфизмдеріне

аударылады, себебі эмбриондар имплантациясы және плацентациясы кезеңдерінде әйелдердің микротромбоздарға бейімділігін тудырады. F5 және F2 гетерозиготаларының үйлесімдерінің жиіліктері венозды тромбозы бар әйелдерде айтарлықтай жоғары болды. Полиморфты F5+F2 гетерозиготаларының жиілігі венозды тромбозы бар әйелдерде бақылау тобымен салыстырғанда жоғары болды ($p<0,001$) [18].

Әдебиет көздерінің мәліметтері бойынша, F5 және F2 гендерінің гетерозиготалы генотиптерінің үйлесімі жүктілікті аяғына дейін көтермеудің дамуы бойынша ассоциацияны грек зерттеушілері анықтаған болатын: F5 генінің G/A генотипі ($p<0,003$) және F2 генінің G/A генотипі ($p<0,038$). Осы генотиптердің ассоциациясы I және II триместрдегі қайталанатын түсіктердің қаупі негізінде анықталынды [19].

Біздің жұмысымызда гемостаз жүйесінің полиморфты F5+F2 гендері үйлесімдерінің талдауында сенімді айырмашылық байқалмады, яғни қазақ этникалық тобында бұл гендердің мутантты аллельдерінің таралу жиілігі төмен.

Азия популяциясы (Иран) бойынша НРА-1 (адамның тромбоцитарлы 1 антигені) және FGB (фибриногеннің β -тізбегі) коагуляция үрдісінің маңызды қатысушылары және олардың rs5918 T/C бен rs1800790 G/A полиморфты генотиптерінің үйлесімдерін жүктіліктің асқынуларымен ассоциациясын зерттеу үшін талдауға жүкті әйелдердің тәуекел және бақылау алынған болатын. НРА-1 генінің rs5918 полиморфизмінің гетерозиготалы генотипі (TC) мен жүктіліктің асқынулары қаупінің сенімді ассоциациясы ($p=0,02$) анықталды. FGB генінің rs1800790 G>A полиморфизмінің жүктіліктің асқынуларымен ассоциациясы анықталмады, алайда оның rs5918 полиморфизмімен үйлесімі ($p<0,05$) патология қаупінің жоғары болуымен ассоциациясы бар екендігі дәлелденді [20].

Гемостаз және коагуляциямен байланысты гендердің мутациясы қайталамалы өздігінен түсік тастауды (RSA) жүзеге асырады деген болжамдар бар. Қытай популяциясы әйелдерін зерттеу барысында V фактор (F5), II фактор (F2), антитромбин (SERPIN-1/PAI-1), XIII фактор (F13A1), белок C (PROC), белок Z (PROZ) полиморфизмдері мен қайталамалы өздігінен түсік тастаудың генетикалық байланысына талдау жүргізілген болатын. A/G+G/G rs1050782 варианттарында доминантты модельдерінде ($p=0,007$, OR (95%, CI)=0,681(0,516-0,889)) RSA қаупінің төмен болуымен ассоциацияланады [21].

Еуропа популяциясы (Германия) бойынша V Лейден факторы (F5) G1691A ($p<0,001$; OR (95%, CI)=2(1,6-2,5)) мен II фактордың (F2) G20210A ($p<0,001$; OR (95%, CI)=1,8(1,1-2,9)) преэклампсиямен байланысы зерттелген болатын. V Лейден факторын тасымалдаушылар патологияны гетерозиготаларда 6,4% және гомозиготаларда 8,9-16,8% дамытады. Әйелдердің 6,2% F2 G20210A және 17,8% F5 G1691A бір нуклеотидті полиморфизмінің F2 G20210A вариантымен ассоциациясы кезінде жүктілікпен байланысты тромбоз дамиды. Бір нуклеотидті полиморфизмі бар F2 G20210A және F5 G1691A өздігінен түсік тастаудың ерте, кеш қайталануларының қауіп факторлары болып табылады [22]. F2, F5, генетикалық варианттарының идиопатикалық қайталамалы өздігінен түсік тастаумен ассоциациясы бойынша Словенияда жүргізілген

зерттеу нәтижелері бұл ген варианттары мен қайталамалы өздігінен түсік тастау арасындағы теориялық байланысын көрсетеді. OR (95%, CI)=0,51-2,37 аралығында болуы қалыпты немесе әлсіз эпидемиологиялық сенімділік болып табылады [23].

Зерттеу барысында F2 және F5 гендерінің рецессивті гомозиготалы генотиптері A/A тәуекел және бақылау топтарында, сонымен бірге тек тәуекел тобында F7 гені бойынша, кездескен жоқ. Осы алынған мәліметке сәйкес, Жапон ғалымдарының зерттеулері бойынша F5 Лейден мутациясы бақылау тобымен салыстырғанда қайталамалы өздігінен түсік тастау жағдайында анықталған жоқ [24].

Сонымен, қан үю жүйесіндегі гендер полиморфизмінің жүктіліктің асқынуларымен байланысын анықтау барысында түрлі этникалық топтарда қарама-қайшылықтар байқалады.

Соңғы он жыл ішінде ашылған мультифакториалды патологиялардың (тромбофилия, детоксикация жүйесінің бұзылуы, фолат алмасуының ақауы, ерте және кеш гормоналды жетіспеушілік және т.б.) маңызды генетикалық факторлары (гендік торлар) күрделі акушерлік патологиялардың алдыңғы қатарлы себептері болып табылады. Тромбофилияның жүктіліктің асқынуларындағы күрделі патогенезіндегі бір геннің бұзылысы аз ғана әсер беруі мүмкін және сондықтан статистикалық мәнді нәтижелер алу үшін көбірек гендердің үлесін зерттеу қажет. Қазіргі таңда жүктіліктің асқынуларының гендік торымен байланысты 40-тан астам геннің аллельді полиморфизмі зерттелінген [25-26]. Заманауи медицинаның жетістіктеріне қарамастан, жүктіліктің асқынулары өзекті мәселелердің бірі болып отыр, себебі оның салдарынан әйелдің репродуктивті күйі ғана бұзылысқа ұшырамайды, сонымен қатар нәрестелердің дүниеге келуіне перинатальды өлім мен жаңадан туған нәрестелердің аурулары теріс әсерін тигізеді. Сондықтан, тұқымқуалаушылық және орта факторларының аурудың дамуына өзара байланысында генетикалық полиморфизмнің жүктіліктің асқынуларына әсерін толық анықтау үшін ерекше назар аударуды қажет етеді.

Зерттеу жұмысы ҚР БҒМ жобасы аясында жүргізілді (1519/ГФ-4).

Әдебиеттер

- 1 Pinjala R.K., Reddy L.R., Nihar R.P., Praveen G.V., Sandeep M. Thrombophilia – how far and how much to investigate? // *Indian J Surg.* – 2012. No 74. – P. 157–162.
- 2 Айламазян Э.К., Зайнулина М.С., Петрищев Н.Н. Роль тромбофилии в развитии акушерской патологии // *Акушерство и гинекология.* – 2007. – № 5. – С. 38-42.
- 3 Зайнулина М.С., Корнюшина Е.А., Бикмуллина Д.Р. Тромбофилия: этиологический фактор или патогенетический аспект осложненного течения беременности? // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2010. Т. LIX, вып. 1. – С. 6–10.
- 4 Pasquier E., Bohec C., Mottier D. Inherited thrombophilias and unexplained pregnancy loss: an incident case-control study // *J Thromb Haemost.* – 2009. No 7. – P. 306-311.
- 5 Goodman C.S., Coulam C.B., Jeyendran R.S. Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? // *Am J Reprod Immunol.* – 2006. No 56. – P. 230–236.
- 6 Parad A., Zolghadri J., Nezam M., Afrasiabi A., Haghpanah S., Karimi M. Inherited thrombophilia and recurrent pregnancy loss // *Iran Red Cres Med J.* – 2013. – Vol.15, No 12. doi: 10.5812/ircmj.13708.
- 7 Andrew J. Gale. Current Understanding of Hemostasis // *Toxicol Pathol.* – 2011. No 39. – P. 273–280.
- 8 OMIM базасы. Online Mendelian Inheritance in Man. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>
- 9 Jorge A., Jairo Q. Mutation in the Prothrombin Gene G20210A as a Cause of miscarriage // *Case Rep Med.* – 2012. doi: 10.1155/2012/828050.
- 10 Udry S., Aranda F.M., Latino J.O. Paternal factor V Leiden and recurrent pregnancy loss: a new concept behind fetal genetics? // *J Thromb Haemost.* – 2014. No 12. – P. 666–669.
- 11 Jivraj S., Makris M., Saravelos S., Li T.C. Pregnancy outcome in women with factor V Leiden and recurrent miscarriage // *BJOG.* – 2009. No 116. – P. 995–998.
- 12 Barlik M., Seremak-Mrozikiewicz A., Wolski H. The factor VII gene polymorphism and the risk of recurrent miscarriage // *Ginekol Pol.* – 2014. No 85. – P. 594–599.
- 13 Fatemeh Karami, Maliheh Askari, Mohammad Hossein Modarressi. Investigating Association of rs5918 Human Platelets Antigen 1 and rs1800790 Fibrinogen β Chain as Critical Players with Recurrent Pregnancy Loss // *Med Sci (Basel).* – 2018. No 6. – P. 98.
- 14 Neerman-Arbez M. Molecular basis of fibrinogen deficiency // *Pathophysiol Haemost Thromb.* – 2006. No 35. – P. 187-198.
- 15 Sagoo G.S., Little J., Higgins J.P. Systematic reviews of genetic association studies // *Human Genome Epidemiology Network. PLoS Med.* – 2009. No 6. – P.28.
- 16 Little J., Higgins J.P., Ioannidis J.P. Strengthening the reporting of Genetic Association studies (STREGA): an extension of the STROBE Statement // *Ann Intern Med.* – 2009. No 150. – P. 206–215.
- 17 Lee S.H., Kim M.K., Park M.S., Choi S.M., Kim J.T., Kim B.C., Cho K.H. Beta-Fibrinogen Gene -455 G/A Polymorphism in Korean Ischemic Stroke Patients // *J Clin Neurol.* – 2008. No 4. – P. 17-22.
- 18 Mahmutbegovic E., Marjanovic D., Medjedovic E., Mahmutbegovic N., Dogan S., Valjevac A., Czerska E., Pawińska-Matecka A., Madlani A., Adler G. Prevalence of F5 1691G>A, F2 20210G>A, and MTHFR 677C>T polymorphisms in Bosnian women with pregnancy loss // *Bosn J Basic Med Sci.* – 2017. No 17. – P. 309-314.
- 19 Coulam C. B. Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2006. – Vol.55, No 5. – P. 360–368.
- 20 Karami F., Askari M., Modarressi M.H. Investigating Association of rs5918 Human Platelets Antigen 1 and rs1800790 Fibrinogen β Chain as Critical Players with Recurrent Pregnancy Loss // *Med Sci (Basel).* – 2018. No 6. – P. 98.
- 21 Xu Z., Zhang Y., Liu W., Liu Y., Su Y., Xing Q., He X., Wei Z., Cao Y., Xiang H. Polymorphisms of F2, PROC, PROZ, and F13A1 Genes are Associated With Recurrent Spontaneous Abortion in Chinese Han Women // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2018. No 24. – P. 894-900.
- 22 Tempfer C.B., Riener E.K., Hefler L.A., Keck C. Genetic thrombophilia has pleiotropic effects in pregnancy // *Per Med.* – 2004. No 1. – P. 105-114.
- 23 Perez N., Ostojic S., Kapovic M., Peterlin B. Systematic review and meta-analysis of genetic association studies in idiopathic recurrent spontaneous abortion // *Fertil Steril.* 2017. No 107. – P. 150-159.
- 24 Kobashi G., Kato E.H., Morikawa M., Shimada S., Ohta K., Fujimoto S., Minakami H., Yamada H. MTHFR C677T Polymorphism and factor V Leiden mutation are not associated with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology in Japanese women // *Semin Thromb Hemost.* 2005. No 31. – P. 266-271.
- 25 Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / В.С.Баранов – Санкт-Петербург: Издательство Н-Л, 2009. – 67 с.
- 26 Rull K., Nagirnaja L., Laan M. Genetics of recurrent miscarriage: challenges, current knowledge, future directions // *Front Genet.* – 2012. No 3. – P.34.

References

- 1 Pinjala R.K., Reddy L.R., Nihar R.P., Praveen G.V., Sandeep M. (2012) Thrombophilia – how far and how much to investigate? *Indian J Surg.*, no 74, pp. 157–162.
- 2 Ajlamazjan Je.K., Zajnulina M.S., Petrishhev N.N. (2007) Rol' trombofilii v razvitii akusherской patologii [The role of thrombophilia in the development of obstetric pathology]. *Akusherstvo i ginekologija*, no 5, pp. 38–42.
- 3 Zajnulina M.S., Kornjushina E.A., Bikmullina D.R. (2010) Trombofilija: jetiologicheskij faktor ili patogeneticheskij aspekt oslozhnennogo techenija beremennosti? [Thrombophilia: etiological factor of pathogenetic aspect of complicated pregnancy?]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej*. T. LIX, no 1, pp. 6–10.
- 4 Pasquier E., Bohec C., Mottier D. (2009) Inherited thrombophilias and unexplained pregnancy loss: an incident case-control study. *J Thromb Haemost.*, no 7, pp. 306–311.
- 5 Goodman C.S., Coulam C.B., Jeyendran R.S. (2006) Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? *Am J Reprod Immunol.*, no 56, pp. 230–236.
- 6 Parad A., Zolghadri J., Nezam M., Afrasiabi A., Haghpanah S., Karimi M. (2013) Inherited thrombophilia and recurrent pregnancy loss. *Iran Red Cres Med J.*, vol. 15, no 12, doi: 10.5812/iremj.13708.
- 7 Andrew J. Gale. (2011) Current Understanding of Hemostasis. *Toxicol Pathol.*, no 39, pp. 273–280.
- 8 OMIM базасы. Online Mendelian Inheritance in Man. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>
- 9 Jorge A., Jairo Q. (2012) Mutation in the Prothrombin Gene G20210A as a Cause of miscarriage. *Case Rep Med.*, doi: 10.1155/2012/828050.
- 10 Udry S., Aranda F.M., Latino J.O. (2014) Paternal factor V Leiden and recurrent pregnancy loss: a new concept behind fetal genetics? *J Thromb Haemost.*, no 12, pp. 666–669.
- 11 Jivraj S., Makris M., Saravelos S., Li T.C. (2009) Pregnancy outcome in women with factor V Leiden and recurrent miscarriage. *BJOG.*, no 116, pp. 995–998.
- 12 Barlik M., Seremak-Mrozikiewicz A., Wolski H. (2014) The factor VII gene polymorphism and the risk of recurrent miscarriage. *Ginekol Pol.*, no 85, pp. 594–599.
- 13 Fatemeh Karami, Maliheh Askari, Mohammad Hossein Modarressi. (2018) Investigating Association of rs5918 Human Platelets Antigen 1 and rs1800790 Fibrinogen β Chain as Critical Players with Recurrent Pregnancy Loss. *Med Sci (Basel).*, no 6, pp. 98.
- 14 Neerman-Arbez M. (2006) Molecular basis of fibrinogen deficiency. *Pathophysiol Haemost Thromb.*, no 35, pp. 187–198.
- 15 Sagoo G.S., Little J., Higgins J.P. (2009) Systematic reviews of genetic association studies. *Human Genome Epidemiology Network. PLoS Med.*, no 6, pp. 28.
- 16 Little J., Higgins J.P., Ioannidis J.P. (2009) Strengthening the reporting of Genetic Association studies (STREGA): an extension of the STROBE Statement. *Ann Intern Med.*, no 150, pp. 206–215.
- 17 Lee S.H., Kim M.K., Park M.S., Choi S.M., Kim J.T., Kim B.C., Cho K.H. (2008) Beta-Fibrinogen Gene -455 G/A Polymorphism in Korean Ischemic Stroke Patients. *J Clin Neurol.*, no 4, pp. 17–22.
- 18 Mahmutbegovic E., Marjanovic D., Medjedovic E., Mahmutbegovic N., Dogan S., Valjevac A., Czerska E., Pawińska-Matecka A., Madlani A., Adler G. (2017) Prevalence of F5 1691G>A, F2 20210G>A, and MTHFR 677C>T polymorphisms in Bosnian women with pregnancy loss. *Bosn J Basic Med Sci.*, no 17, pp. 309–314.
- 19 Coulam C. B. (2006) Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage. *Am. J. Reprod. Immunol.*, vol. 55, no 5, pp. 360–368.
- 20 Karami F., Askari M., Modarressi M.H. (2018) Investigating Association of rs5918 Human Platelets Antigen 1 and rs1800790 Fibrinogen β Chain as Critical Players with Recurrent Pregnancy Loss. *Med Sci (Basel).*, no 6, pp. 98.
- 21 Xu Z., Zhang Y., Liu W., Liu Y., Su Y., Xing Q., He X., Wei Z., Cao Y., Xiang H. (2018) Polymorphisms of F2, PROC, PROZ, and F13A1 Genes are Associated With Recurrent Spontaneous Abortion in Chinese Han Women. *Clin Appl Thromb Hemost.*, no 24, pp. 894–900.
- 22 Tempfer C.B., Riener E.K., Hefler L.A., Keck C. (2004) Genetic thrombophilia has pleiotropic effects in pregnancy. *Per Med.*, no 1, pp. 105–114.
- 23 Perez N., Ostojic S., Kapovic M., Peterlin B. (2017) Systematic review and meta-analysis of genetic association studies in idiopathic recurrent spontaneous abortion. *Fertil Steril.*, no 107, pp. 150–159.
- 24 Kobashi G., Kato E.H., Morikawa M., Shimada S., Ohta K., Fujimoto S., Minakami H., Yamada H. (2005) MTHFR C677T Polymorphism and factor V Leiden mutation are not associated with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology in Japanese women. *Semin Thromb Hemost.* no 31, pp. 266–271.
- 25 Baranov V.S. (2009) Geneticheskij pasport – osnova individual'noj i prediktivnoj mediciny [Genetic passport – the basis of individual and predictive medicine] V.S.Baranov – Sankt-Peterburg: Izdatel'stvo N-L, pp. 67.
- 26 Rull K., Nagirnaja L., Laan M. (2012) Genetics of recurrent miscarriage: challenges, current knowledge, future directions. *Front Genet.*, no 3, pp. 34.

МРНТИ 34.15.00; 31.27.00; 34.15.27

**Қуанбай Ә.Қ.¹, Жөндербек Ж.²,
Сапарбаев М.К.³, Ищенко А.А.⁴, Тайпақова С.М.⁵,
Бисенбаев А.К.⁶**

¹кіші ғылыми қызметкер, e-mail: kuanbai.aigerim93@gmail.com

²тағылымгер-зерттеуші, e-mail: Zhazira.9705@gmail.com

³PhD, профессор, ғылыми-зерттеу директоры 2, e-mail: murat.saparbaev@gustaveroussy.fr

⁴PhD, профессор, ғылыми-зерттеу директоры 2, e-mail: alexander.ishchenko@gustaveroussy.fr

⁵PhD, жетекші ғылыми қызметкер, e-mail: sabira.taipakova@gmail.com

⁶биология ғылымдары докторы, профессор, ҚР-ҰҒА академигі, бас ғылыми қызметкер,
e-mail: Amangeldy.Bisenbaev@kaznu.kz

^{1,3,4}ДНҚ репарациясы лабораториясы, Густав Роззи институты, Франция, Париж қ.

^{1,2,5,6}Биология және биотехнология мәселелері Ғылыми-зерттеу институты молекулалық генетика лабораториясы, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

***ARABIDOPSIS THALIANA* ӨСІМДІГІНІҢ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗА) ПОЛИМЕРАЗА 3 ҚДНҚ ГЕНІН *E. COLI* ЖҮЙЕСІНДЕ КЛОНДАУ**

Arabidopsis thaliana геномы PARP ферменттерін кодтайтын үш белгілі генді қамтиды: AtPARP1 (At4g02390), AtPARP2 (At2g31320) және AtPARP-3 (At5g22470). AtPARP1 және AtPARP2 ядроға орналасқан және зақымдалған ДНҚ бар болған кезде АДФ-рибоза үзінділерін НАД⁺-тен *in vitro* және *in vivo* жағдайында өздеріне (авто-модификациялар) және акцепторлық белоктарға ауыстырады. *Arabidopsis thaliana*-ның PARP1 және PARP2 белоктары АДФ-рибозасын ДНҚ-ның олигонуклеотидтерімен тікелей байланыстыра алатыны белгілі. PARP өсімдік белоктары жануарлар PARP белоктарымен ұқсас домен құрылымына ие. Арабидопсис пен сүтқоректілердің ферменттері аминқышқылдар деңгейінде жоғары консервативтілікті сақтайды, бұл өсімдіктерде PARP жануарлар жүйесіндегідей функциялар атқаратындығын көрсетеді. Алайда, жануарлар PARP-мен салыстырғанда, өсімдіктер поли-АДФ-рибозилденуі туралы аз білгілі.

Бұл жұмыста біз *Arabidopsis thaliana* поли (АДФ-рибоза) полимераза 3 кодтайтын AtPARP-3 қДНҚ генін кері транскрипциялы полимеразады тізбекті реакция (RT-PCR) арқылы бөліп алдық. Оқшауланған AtPARP-3 қДНҚ-сының нуклеотидтік ретін анықтау және трансляцияланан белоктың амин қышқылдық тізбегін теңестіру NCBI дерекқорында белгіленген нұсқасымен (инвентарлық нөмірі GenBank NM_001343735.1.) 100% ұқсастық көрсетті. 6xHis-таңбаланған AtPARP-3 *E. coli*-де экспрессияланды және никельді аффинді хроматография әдісімен тазартылды. MALDI-TOF масс-спектрометрия көмегімен рекомбинантты белоктың поли(АДФ-рибоза)-полимеразалар классына жататындығы анықталды. Геннің экспрессия өнімі 815 амин қышқылынан тұратын молекулалық массасы 91,5 кДа (pI 5,14) глобулярлы белок екендігі көрсетілді. AtPARP-3 белогы болжанатын молекулалық массасы кДа болатын аминқышқыл қалдықтарынан тұрады. AtPARP-3 доменінің құрылымын талдау ZnF_C3H1 мырыш саусағының аймағын, содан кейін WWE доменін және PARP доменін анықтады.

Түйін сөздер: Поли(АДФ-рибоза) полимераза, PARP3, поли-АДФ рибозилдеу, NAD⁺, *Arabidopsis thaliana*.

Kuanbay A.K.¹, Жөндербек Ж.², Saparbayev M.K.³, Ishchenko A.A.⁴,
Taipakova S.M.⁵, Bissenbaev A.K.⁶

¹Junior researcher, e-mail: kuanbai.aigerim93@gmail.com

²Research student, e-mail: Zhazira.9705@gmail.com

³PhD, professor, director of research, e-mail: murat.saparbaev@gustaveroussy.fr

⁴PhD, professor, director of research, e-mail: alexander.ishchenko@gustaveroussy.fr

⁵PhD, leading researcher, e-mail: sabira.taipakova@gmail.com

⁶Doctor of Biological Science, professor, academician of NAS of RK, Chief Researcher,
e-mail: Amangeldy.Bisenbaev@kaznu.kz

^{3,4}laboratory DNA repair, Institute Gustave Roussy, Genomes and cancers Unit (UMR 8200), France, Villejuif

^{1,2,5,6}Laboratory Molecular genetics SSE Scientific Research Institute of Biology and Biotechnology Problems,
al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

Cloning of the *Arabidopsis thaliana* poly (ADP-ribose) polymerase 3 cDNA gene in *E. Coli*

Arabidopsis thaliana genome contains three known genes encoding PARP enzymes: AtPARP1 (At4g02390), AtPARP2 (At2g31320) and AtPARP-3 (At5g22470). Both AtPARP1 and AtPARP2 localize to the nucleus and in the presence of damaged DNA transfer ADP-ribose moieties from NAD⁺ to themselves (auto-modification) and to acceptor proteins *in vitro* and *in vivo*. It is also known that, PARP1 and PARP2 proteins of *Arabidopsis thaliana* can directly bind ADP-ribose to DNA oligonucleotides. Plant PARP proteins has a similar domain structure as PARP proteins of animals. *Arabidopsis* and mammalian enzymes are highly conserved at the level of the amino acid sequence, which indicates that in PARP plants it performs the same functions as in animal systems. However, in comparison with animal PARP, little is known about poly-ADP-ribosylation in plants.

Here, we isolated the AtPARP-3 cDNA gene encoding the *Arabidopsis thaliana* Poly(ADP-ribose) polymerase 3 using the reverse transcription – polymerase chain reaction (RT-PCR). Sequencing isolated AtPARP-3 cDNA and subsequent alignment of a translated protein sequence revealed 100% level of similarity to the version of NCBI (GenBank accession number NM_001343735.1.). 6xHis-tagged AtPARP-3 expressed in *E. coli* and purified by nickel affinity chromatography. The AtPARP-3 protein sequence seems to consist of 815 amino acid residues (pI 5.14) with a predicted molecular mass of 91,5 kDa. Amino acid sequencing of the putative recombinant protein by MALDI-TOF MS and its analysis using NCBI BLAST indicated that the enzyme belongs to poly (ADP-ribose) polymerases family. Analysis of the domain structure of AtPARP-3 revealed ZnF_C3H1 zinc finger domain followed by a WWE domain and a PARP domain.

Key words: Poly(ADP-ribose) polymerase, PARP3, poly-ADP-ribosylation, NAD⁺, *Arabidopsis thaliana*.

Қуанбай Ә.К.¹, Жөндербек Ж.², Сапарбаев М.К.³, Ищенко А.А.⁴,
Тайпақова С.М.⁵, Бисенбаев А.К.⁶

¹младший научный сотрудник, e-mail: kuanbai.aigerim93@gmail.com

²стажер-исследователь, e-mail: Zhazira.9705@gmail.com

³PhD., профессор, директор по исследованиям 2, e-mail: murat.saparbaev@gustaveroussy.fr

⁴PhD., директор по исследованиям 2, e-mail: alexander.ishchenko@gustaveroussy.fr

⁵PhD, ведущий научный сотрудник, e-mail: sabira.taipakova@gmail.com

⁶доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК, главный научный сотрудник,
e-mail: Amangeldy.Bisenbaev@kaznu.kz

^{3,4}лаборатория репарации ДНК, Институт Густава Рози, Франция, г. Париж

^{1,2,5}лаборатория молекулярной генетики Научно-исследовательского института проблем биологии
и биотехнологии, Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

Клонирование кДНК гена поли (АДФ-рибоза) п олимеразы 3 *Arabidopsis thaliana* в *E. COLI*

Геном *Arabidopsis thaliana* содержит три известных гена, кодирующих ферменты PARP: AtPARP1 (At4g02390), AtPARP2 (At2g31320) и AtPARP-3 (At5g22470). AtPARP1 и AtPARP2 локализируются в ядре и в присутствии поврежденной ДНК переносят фрагменты АДФ-рибозы от НАД⁺ к себе (ауто-модификации) и к акцепторным белкам *in vitro* и *in vivo*. Также известно, что белки PARP1 и PARP2 *Arabidopsis thaliana* могут напрямую связывать АДФ-рибозу с олигонуклеотидами ДНК. Растительные белки PARP имеют сходную доменную структуру с белками PARP животных. Ферменты арабидопсиса и млекопитающих высоко консервативны на уровне аминокислотной последовательности, что указывает на то, что у растений PARP выполняет те же функции, что и в системах животных. Однако по сравнению с PARP животных мало известно о поли-АДФ-рибозилировании у растений.

Нами был кДНК ген AtPARP-3, кодирующий поли (АДФ-рибоза) полимеразу 3 *Arabidopsis thaliana*, с применением реакции обратной транскрипции (РОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Секвенирование выделенной кДНК AtPARP-3 и последующее выравнивание транслированной последовательности белка выявили 100% уровень сходства с версией NCBI (инвентарный номер GenBank NM_001343735.1.). Осуществлена функциональная экспрессия 6xHis-меченного AtPARP-3 в *E. coli* и очищена никель аффинной хроматографией до гомогенного состояния. С помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии установлена принадлежность рекомбинантного белка к семейству поли(АДФ-рибоза)-полимераз. Выявлено, что продуктом экспрессии гена является глобулярный белок массой 91,5 кДа, состоящий из 815 аминокислот (рI 5,14). Анализ доменной структуры AtPARP-3 выявил домен цинкового пальца ZnF_C3H1, за которым следуют домен WWE и домен PARP.

Ключевые слова: Поли(АДФ-рибоза) полимеразы, AtPARP-3, поли-АДФ-рибозилирование, NAD⁺, *Arabidopsis thaliana*.

Введение

Поли-АДФ-рибозилирование представляет собой модификацию белка и ДНК, что является важной в регуляции транскрипции, пролиферации клеток, дифференциации и в апоптозе. *Поли-АДФ-рибозилирование* встречается практически во всех ядродержащих клетках, включая млекопитающие, растения и низшие эукариоты, однако отсутствуют в дрожжах. Этот процесс представляет собой немедленный клеточный ответ на повреждение ДНК, вызванные ионизирующей радиацией, алкилирующими агентами и свободными радикалами (Schreiber V., 2006: 517–528; Hassa P. O., 2006: 789–829).

Семейство белков Поли(АДФ-рибоза) полимеразы (PARP), также называемые дифтерия-токсин-подобные АДФ-рибозилтрансферазы (ARTD) в соответствии с новой номенклатурой, включают 18 известных белков (Ame' J-C., 2004: 882-893, Morales J.C., 2014: 15-28, Dantzer F., 2004: 1595–1607, Loseva O., 2010: 8054–8060). И только двое из них PARP1 и PARP2 активируются в ответ на повреждения ДНК (Woodhouse B.C, 2008: 1077-1086). Поли(АДФ-рибоза) полимеразы (PARP) катализируют синтез полимеров АДФ-рибозы ковалентно-прикрепленные к акцепторным белкам. При этом донором остатков АДФ-рибозы выступает НАД⁺ (Kim M.Y., 2005: 1951-1967). Недавно, обнаружено, что PARP ферменты млекопитающих могут непосредственно АДФ-рибозилировать 5'- и 3'-концы ДНК-олигонуклеотидов. Показано, что PARP1 предпочтительно катализирует ковалентное присоединение остатков АДФ-рибозы к концам ДНК-дуплексов с одно-цепочечным выступом, содержащих 3'-кордицеппин, 5'- или 3'-фосфат, а также к 5'-фосфату одноцепочечного олигонуклеотида (Talhaoui I., 2016: 9279–9295).

PARP3 является третьим членом семейства PARP и характеризуется моно-АДФ-рибозилирующей активностью (MARylation) в местах разрывов ДНК (Loseva, O., 2010: 8054–8060; Grundy, G.J., 2016: 12404). Установлено, что PARP3 человека (hPARP3) взаимодействует с белками пути нехомологичного соединения концов (Non-homologous end joining, NHEJ), включая ДНК зависимую ДНК протеинкиназу (ДНК-ПК), ДНК-лигазу IV, Ku70/80 и aprataxin полинуклеотид киназа-подобный фактор (APLF). Кроме этого, hPARP3 АДФ-рибозилирует некоторые из них (Ku70/80 и другие), тем самым облегчает их сборку в двойных разрывах ДНК (DSB) и, следовательно, стимулирует как более ранние, так и более поздние этапы точного C-NHEJ (Beck, C., 2014: 5616–5632; Rouleau, M., 2007: 385–401; Rulten, S.L., 2011: 33–45). PARP3 и PARP1 действуют синергетически в ответ на рентгеновское облучение в клетках человека и мыши (Boehler, C., 2011: 2783–2788). В отсутствие PARP3 клетки становятся более чувствительными к противоопухолевым препаратам, генерирующим DSB, и приводят к значительной задержке восстановления DSB (Beck, C., 2014: 5616–5632; Boehler, C., 2011: 2783–2788). Экспрессия hPARP3, в отличие от PARP1 и PARP2, преимущественно экспрессируется в крайних дифференцированных клетках (Schreiber, V., 2002: 23028–23036).

Геном *Arabidopsis thaliana*, широко используемого модельного растительного организма, кодирует по меньшей мере три предполагаемых PARP фермента: AtPARP1 (At4g02390), AtPARP2 (At2g31320) и AtPARP3 (At5g22470) (Briggs A.G., 2011: 372-80; Vainonen J.P., 2016: 713-723). Показано, что PARP растений являются структурно гомологичными к PARP белкам млекопитающих (Briggs A.G., 2011: 372-80; Lamb R.S., 2012: 175-89). Высокая степень

консервативности на уровне аминокислотной последовательности между ферментами арабидопсиса и млекопитающих позволяет предположить, что в растениях PARP выполняет аналогичные функции как в животных системах. Помимо структурных сходств, PARP растений также обладают ферментативной активностью функционально гомологичными PARP ферментам млекопитающих (Briggs A.G., 2011: 372-80; Lamb R.S., 2012: 175-89).

В отличие от млекопитающих, значительно мало известно о поли-АДФ-рибозилировании в растениях. Практически не известно о акцепторных белках поли-АДФ-рибозы и белках, взаимодействующих с АДФ-рибозой. В растениях не обнаружены поли-АДФ-рибозилированные белки, кроме гистонов и PARP. Идентификация новых акцепторных белков поможет понять регуляторную роль поли-АДФ-рибозилирования в развитии растений и стрессовых реакциях.

Целью представленной работы является клонирование кДНК генов Поли-АДФ-рибоза полимеразы 3 *Arabidopsis thaliana*.

Материалы и методы исследования

Материалы исследования

Объектом исследования явились нуклеиновые кислоты выделенные из *A. thaliana* линии Col0 (растения дикого типа), относящейся к коллекции инсерционных мутантов SALK, полученные из Биологического ресурсного центра (*Arabidopsis Biological Resource Center*, <http://www.arabidopsis.org>).

В ходе работы использовали клеточные линии: NovaXG Zappers (*F- mcrA Δ(mcrC-mrr) endA1 recA1 φ80dlacZΔM15 ΔlacX74 araD139 Δ(ara-leu)7697 galU galK rpsL nupG λ- tonA*) для наработки плазмидной ДНК и экспрессионный штамм Rosetta(DE3) (*F^{ompT hDCN_B(r_Bm_B)gal dcm}*(DE3) pRARE (Cam^R)) фирмы «Novagen».

Для приготовления буферных растворов использовали реактивы марок х.ч., ч.д.а., и о.с.ч., производимых фирмами «Sigma» (США), «Amresco» (Германия), «Serva» (Германия) и «Реахим» (Россия). В ходе работы использовали ферменты модификации ДНК и белков производства фирм «Sigma-Aldrich» (США), «New England Biolabs» (Англия), «Thermo Fisher Scientific» (США), «Promega» (США), «Roche» (США).

Выделение тотальной РНК из листьев A. thaliana

Для выращивания растений *A. thaliana* линии Col0 (растения дикого типа) на твердых пи-

тательных средах использовали чашки Петри, содержавшие соли *Мурасиге-Скуга (MS)* (Murashige T., 1962: 473–497) в концентрации 0.5 нормы, 1% сахарозы и 1% агар. После раскладки семян чашки выдерживали 2 суток в темноте при +4°C. Затем растения выращивали в *условиях длинного светового дня (≥14 ч) при 22°C*. Через 14 дней растения использовали для выделения нуклеиновых кислот. Для выделения РНК брали 100 мг листьев *A. thaliana*. Гомогенизировали в заранее охлажденной фарфоровой ступке в присутствии 1,3 мл TRI реагента (Sigma-Aldrich, США) и продолжали растирать. Гомогенат перенесли в микропробирку и центрифугировали при 12000 об/мин в течение 5 минут при 4°C. Супернатант перенесли в стерильную пробирку и добавили 300 мкл холодного хлороформа перемешивали путем инвертирования пробирки 25 раз и инкубировали на льду в течение 3 минут. Далее центрифугировали при 12000 об/мин в течение 15 минут при 4°C. Верхнюю водную фазу осторожно перенесли в новую пробирку и добавили 0,5 мл холодного изопропилового спирта. После перемешивания раствор инкубировали 10 минут на льду и центрифугировали при 12000 об/мин 10 минут при 4°C. Супернатант удаляли пипеткой и осадок промывали в 1 мл 75% этанола. Образец осаждали при 12000 об/мин в течение 5 минут при 4°C и сушили при комнатной температуре 10 минут. Осадок растворяли в 30 мкл d H₂O. Концентрацию и качество выделенной РНК определяли с помощью спектрофотометра Nanodrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, США), агарозного гель-электрофореза. Образец хранился при -70°C.

Выделение мРНК

Выделение мРНК объем полученного нами препарата тотальной РНК довели до 600 мкл dH₂O. Препарат инкубировали в течении 5 мин при 65°C в водяной бане, затем к препарату добавили 500 мкл двухкратного связывающего буфера (1M NaCl, 20mM Tris pH 7.5, 2mM EDTA, 0.1% ДСН). Полученную смесь переносили в пробирку с промытой олиго-dT целлюлозой и инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре на качалке. Смесь центрифугировали при 14000 об/мин в течение 10 минут, удаляли супернатант. Осадок промывали два раза однократным связывающим буфером и два раза промывочным буфером (0.2M NaCl, 10mM Tris pH 7.5, 1mM EDTA, 0.05% ДСН). мРНК элюировали с помощью олиго-dT целлюлозы, добавлением 250 мкл буфера для элюции и инкубированием при 37°C в течении 5 мин. Далее смесь

центрифугировали и осторожно отбирали супернатант в чистую пробирку. Повторяли элюцию. Объединяли элюаты и доводили объем водой до 200 мкл. Для осаждения поли-А РНК к раствору добавляли 40 мкл 5М ацетата аммония, 2,5 объема этанола и поместили на 30 мин -70°C , или на ночь на -20°C . Осадок собирали центрифугированием и растворяли в 50 мкл dH_2O .

Реакция обратной транскрипции

Для синтеза кДНК на основе мРНК, в стерильную пробирку добавляли в указанной последовательности: РНК (1-500 нг поли-А РНК), праймер (15-20 пмоль ген-специфичного праймера) и затем объем довели до 12,5 мкл стерильную с dH_2O . Реакционную смесь прогревали при 70°C в течение 5 минут и охлаждали на льду. Далее, к смеси добавляли (в указанной последовательности): 4мкл пятикратного реакционного буфера (250мМ Tris-HCl pH 8.3 при 25°C , 250мМ KCl, 20мМ MgCl_2 , 50мМ DTT), 0,5мкл (или 20ед.) RiboLock™ RNase Inhibitor, 2мкл 10мМ смеси dNTP (конечная концентрация-1мМ), 1мкл (или 200ед.) RevertAid™ H Minus M-MuLV Reverse Transcriptase (Fermentas, Латвия). Конечный объем реакционной смеси составлял 20мкл. Затем смесь осторожно перемешивали и инкубировали в течение 5 мин при 37°C . Реакцию проводили в течение 1,5 часов при 42°C в водяной бане. Реакцию останавливали прогреванием в течении 10 мин при 70°C . Полученный продукт хранили при -20°C .

Полимеразная цепная реакция

Для получения в достаточном количестве кДНК использовали метод ПЦР. К 2 мкл реакционной смеси обратной транскрипции добавляли олигонуклеотиды, являющиеся прямым и обратным праймерами до конечной концентрации 0,2 мМ. Далее в смесь добавляли 12,5 мкл 2X PCR Master mix (Fermentas, Латвия), содержащие 0,625 единиц Taq ДНК полимеразы в буфере (750 мМ Tris HCl, pH 8,8, 200мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 % Tween 20), 50 мМ MgCl_2 и 5 мМ каждого dNTP, а также 15,5 мкл деонизированной стерильной воды на 25 мкл реакции. Продукты ПЦР анализировали в 1% агарозном геле и затем очищали методом элюции из геля.

Результаты исследования и их обсуждение

Все известные поли(ADP-рибоза) полимеразы (КФ 2.4.2.30) относятся к одному семейству с гомологичным каталитическим PARP доменом. Первым ферментом этого семейства была описана PARP1 млекопитающих. Известна про-

странственная структура этого фермента и его отдельных доменов. PARP 1 фермент состоит из несколько важных регуляторных доменов, как показано на рис. 1. Два домена с мотивами *цинковых пальцев* на N-конце (Zn1 и Zn2), третий цинк-связывающий домен, Zn3, расположен ближе к середине. Область аутомодификации (AD) содержит домен BRCT. Домен WGR участвует в связывании ДНК и опосредует доменно-доменные контакты, необходимые для ДНК-зависимой активности. Домен CAT, который состоит из двух поддоменов (спиральный под домен — HD и ART), отвечает за связывание субстрата NAD + и за синтез поли-ADP-рибозы. В отличие от PARP1 и PARP2 белков PARP3 млекопитающих не содержат N-концевые домены цинкового пальца и BRCT (Langelier M.F., 2014: 7762–7775).

Геном *Arabidopsis thaliana* кодирует три белка PARP (обозначены как PARP1-3) с 27-47% идентичностью последовательностей с HsPARP-1 и HsPARP-2. PARP1 и PARP2 арабидопсиса являются активными ферментами, в то время как прямые доказательства о функциональной активности AtPARP-3 ADP-рибозилтрансферазы отсутствуют (Babiychuk., 1998: 635-45; Feng., 2015: 1004936).

В связи с этим, нами был проведен анализ нуклеотидной последовательности геномного гена AtPARP-3. По данным компьютерного анализа геномный ген (accession number AT5G22470) расположен в хромосоме 5 и содержит сигнал инициации и терминации транскрипции, а также 16 экзонов и 15 интронов. Анализ нуклеотидной последовательности мРНК (кДНК) гена AtPARP-3 (accession number NM_001343735.1.), показала, что кДНК ген AtPARP-3 (2837 нуклеотидов) содержит 5'- и 3' нетранслируемые последовательности (5'- и 3' НТП длиной 83 и 306 нуклеотидов соответственно), а также открытую рамку считывания из 815 аминокислот. Расчетная молекулярная масса составляет 91,5 кДа. Далее с применением программы MUSCLE 3.8.31 было проведено выравнивание аминокислотной последовательности белков AtPARP-3 *A. thaliana* и hPARP-3 человека (рисунок 2). Было показано что белки имеют 113 идентичных, 198 схожих позиций и 13,186 % идентичности. При этом идентичность каталитического домена составило 20,083%. Анализ доменной структуры AtPARP-3 показало, что фермент содержит WGR и CAT-домены, как и у PARP-3 млекопитающих. (рис. 1А). Интересно что, в противоположность к PARP3 млекопитающих,

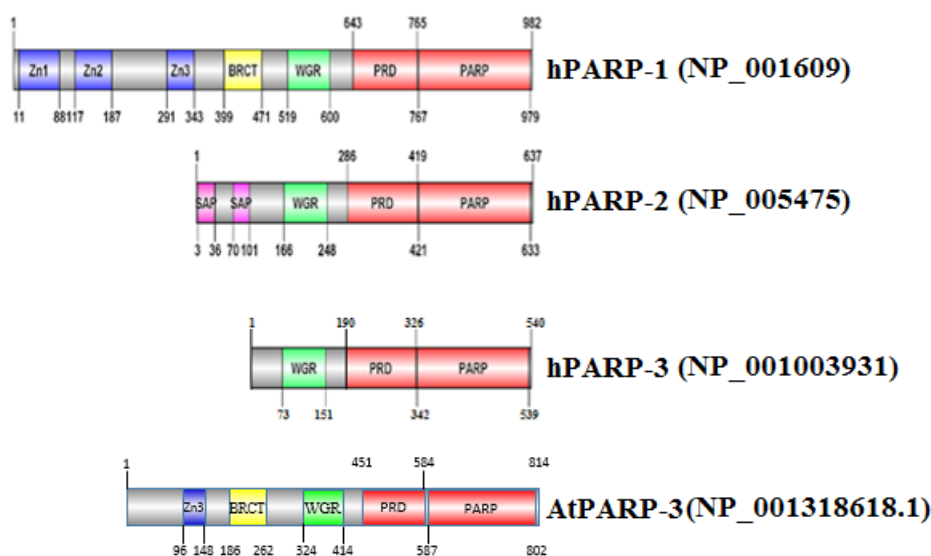


Рисунок 1 – Доменная структура PARP млекопитающих и AtPARP-3 *A. thaliana*

AtPARP-3 намного длиннее (на 275 аминокислотных остатков) и на N-конце дополнительно содержит цинк-связывающий (Zn3) и BRCT домены.

На основании анализа нуклеотидной последовательностей мРНК (кДНК) – гена *AtPARP-3* проведен расчет и осуществлен синтез олигонуклеотидных праймеров для амплификации вышеуказанного гена из *A. thaliana* на матрице, соответствующей мРНК с применением реакции обратной транскрипции (РОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Последовательности этих олигонуклеотидных праймеров следующие: смысловой праймер *AtPARP-3* Dir: 5' – ACGCCATATGAAGGTTACGAAACCCGC – 3' и антисмысловой праймер *AtPARP-3* Rev: 5' – TAGTGGATCCTATTCCGGTTCAAC – 3' с подчеркнутыми сайтами рестрикции *NdeI* и *BamHI*, соответственно. Сайты выбирались с учетом рамки считывания плазмиды. В качестве источника мРНК для реакции ОТ-ПЦР были выбраны листья 14-дневных проростков *A. thaliana*. Для этого тотальный препарат РНК выделяли из 14-дневных проростков растений тризоль методом, как описано в разделе методы исследования.

Электрофоретический анализ РНК на 0,8% агарозном геле показал наличие 28S рРНК и 18S рРНК (рисунок 3А). Отношения A260/A280 и A260/A230 были 1,9 и 2,0, соответственно. Это

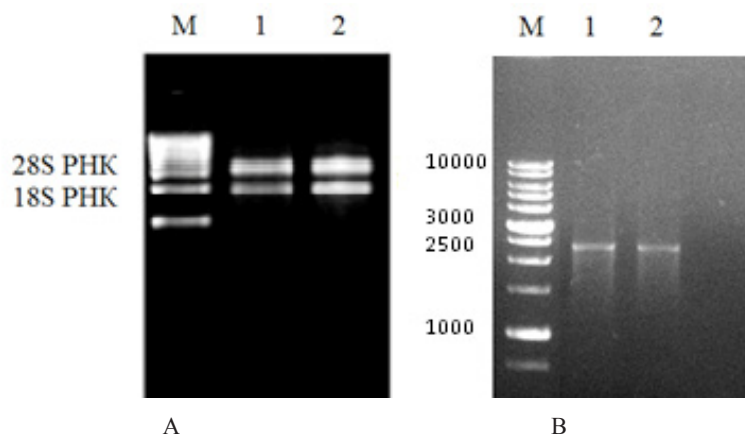
свидетельствует о высоком качестве препарата и низкой загрязненности изолированных образцов белковыми компонентами и вторичными метаболитами. Далее препарат РНК использовали для амплификации кДНК *AtPARP-3* с применением сайт специфических праймеров с помощью реакции обратной транскрипции (РОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Условия проведения этих реакций указаны в разделе «Материалы и методы», а результаты приведены на рисунке 3Б. Из приведенной электрофореграммы видно, что главным продуктом амплификации является кДНК с ожидаемым размером около 2500 пар нуклеотидов, соответствующий длине кДНК гена *AtPARP-3*, соответственно.

В следующих экспериментах, для функциональной экспрессии кДНК *AtPARP-3* в прокариотической системе нами был выбран вектор рЕТ28с (Novagen, Германия), который обладает необходимыми для экспрессии генов качествами: сильным, *lac* индуцибельным промотором бактериофага Т7, с 6xHis•tag последовательностью на С – конце, что позволяет аффинной очистке белкового продукта на основе никель-основанной хроматографии и подходящей для вставки емкостью, и простотой селекции. Для создание рекомбинантной ДНК-конструкции продукт ОТ – ПЦР *AtPARP-3* кДНК клонировали в плазмиду рЕТ28с по сайтам рестрикции *NdeI* и *BamHI* (рисунок 4).


```

AtPARP-3 MKVHETRSHAHMSGDEQKKGNLRKHKAEGLPESEQSQKKAKPENDDGRSVNGAGDAASE
hPARP-3 -----
AtPARP-3 YNEFCKAVEENLSIDQIKEVLEINGQDCSAPEETLLAQCDLLFYGALAKCPLCGGTLIC
hPARP-3 -----MSLLFL-AMAPKP-----
.*** *:* *
AtPARP-3 DNEKRFCVCGGEISEWCSCVVFSTKDPKRKEEPVKIPDSVMNSAISDLIKKHQDPKSRPKRE
hPARP-3 -----KPWV-----QTEGPEKKKGRQ
. * : :.*... * :
AtPARP-3 LGSADKPFVGMISLMGRLRTRHQYWKKKIERNGGKVSNTVQGVTVCLVVSFAERERGGTS
hPARP-3 AGREEDPF-----RSTAEALKAI---PAEKR-----
* :.* * .*:...: * :
AtPARP-3 KMVEAMEQGLPVVSEAWLIDSVEKHEAQPLEAYDVVSDLSVEGKGIPWDKQDPSEEAIES
hPARP-3 --IIRVDPTCPLSSNP-----
: : * : * :
AtPARP-3 FSaelkMYGKRGVYMDTKLQERGGKIFEKDGLLYNCAFSICDLGKGRNEYCIQMLVTVPD
hPARP-3 -----GTQVYED----YNCTLNQTNIEENNNKFYIIQLLQDSN
* : : * . *** : : . : . * : : * : * : :
AtPARP-3 SNLNMYFKRGKVGDDPNAEERLEEWEDEEAAIKEFARLFEEIAGNEFEPWEREKKIQKKP
hPARP-3 RFFTCWNRWGRVGE--VGQSKINHFTRLEDAKKDFEKKFREKTNN---WAERDHFVSHF
: . : . * . * : : . : : : * * * * : * * : * : * : : *
AtPARP-3 HKFFPIDMDDGIEVRSGALG----LRQLGIASAHCKLDSFVANFIKVLGQEIYNYALM
hPARP-3 GKTYLIEVQAEDEAQEAUVKVDVDRGVPVTVTKRVQPCSLDPATQKLITNIFSKEMFKNTMA
* : * : : * . : : : * : * . * . : : * . : : * : : :
AtPARP-3 ELGLDPPDLPMGLTDIHLKRCEEVLLFVEKVKTTKETGQKAEAMWADFSSRWFSLMHS
hPARP-3 LMDLDVKKMPLGKLSKQIARGFEALEALEEALKGPTDGGQSLEELSSHFYTVIPHNFGH
: . * : . * : * * : : * * * : * : * : : * : * : : * : :
AtPARP-3 TRPMRLHDVNELADHAASAFETVRDINTASRLIG---DMRGDTLDDPLSDRYKKLGCKI
hPARP-3 SQPPPINS-PELLQAKKDLLVLADIELAQALQAVSEQEKTVVEVPHPLDRDYQLLKCQL
: . * : : . * : : . : : * : * . * : : : * : * : * : * :
AtPARP-3 SVVDKESDYKMWVVKYLETTYEPVKVSDVEYGVSVQNVFAVESDAIPS-LDDIKKLPNKV
hPARP-3 QLLDSGAPEYKVIQTYLEQTGSNHRCP-----TLQHIWKVNQEGEEDRFQHSKLGNRK
: . * : . : * : : . * * * . . . : * : : : * : : . : : * * *
AtPARP-3 LLWCGSRSSNLLRHIYKGF LPAVC SLVPVGYMFGRAIVCSDAAEAAARY--GFTAVDRPE
hPARP-3 LLWHGTNMAVVAAILTSGL---RIMPHSGGRVKGKIYFASENSKSAGYVIGMKCGAHHV
* * * * : : : : * : * . * . * . * : : * * * * : :
AtPARP-3 GFLVLAVASLGEEVT-----EFTSPPEDTKTLEDKKIGVKGLGRKTEESEHFMRDDI
hPARP-3 GYMFLGEVALGREHHINTDNPSLKSPPPFGDSV----IARGHTEPDPTQDTELELDGQQV
* : : * . : * * * . : * * * . : : * . . * : : * : : :
AtPARP-3 KVPCGRLVPS-EHKDSPLEYNEYAVYDPKQTSIRFLVEVKYEEKGTEIVDVEPE
hPARP-3 VVPQQQPVPCPEFSSSTFSQSEYLIYQESQCLRLRYLLEVHL-----
* * * . * * . * . : : . * * : : * : * : * : * :
    
```

Рисунок 2 – Выравнивание аминокислотной последовательности PARP-3 белков *A. thaliana* и человека



А – Препараты тотальной РНК: М – GeneRuler™ RNA Ladder. 1-2 – суммарный препарат рибонуклеиновых кислот. Справа указано положение 28S рРНК, 18S рРНК. Б – РТ-ПЦР продукты: М – маркерные ДНК, размеры которых указаны в нуклеотидах слева. 1 и 2 – продукты последовательных реакций РОТ и ПЦР.

Рисунок 3 – Препараты нуклеиновых кислот, выделенных из проростков *A. thaliana* и РОТ-ПЦР продукты

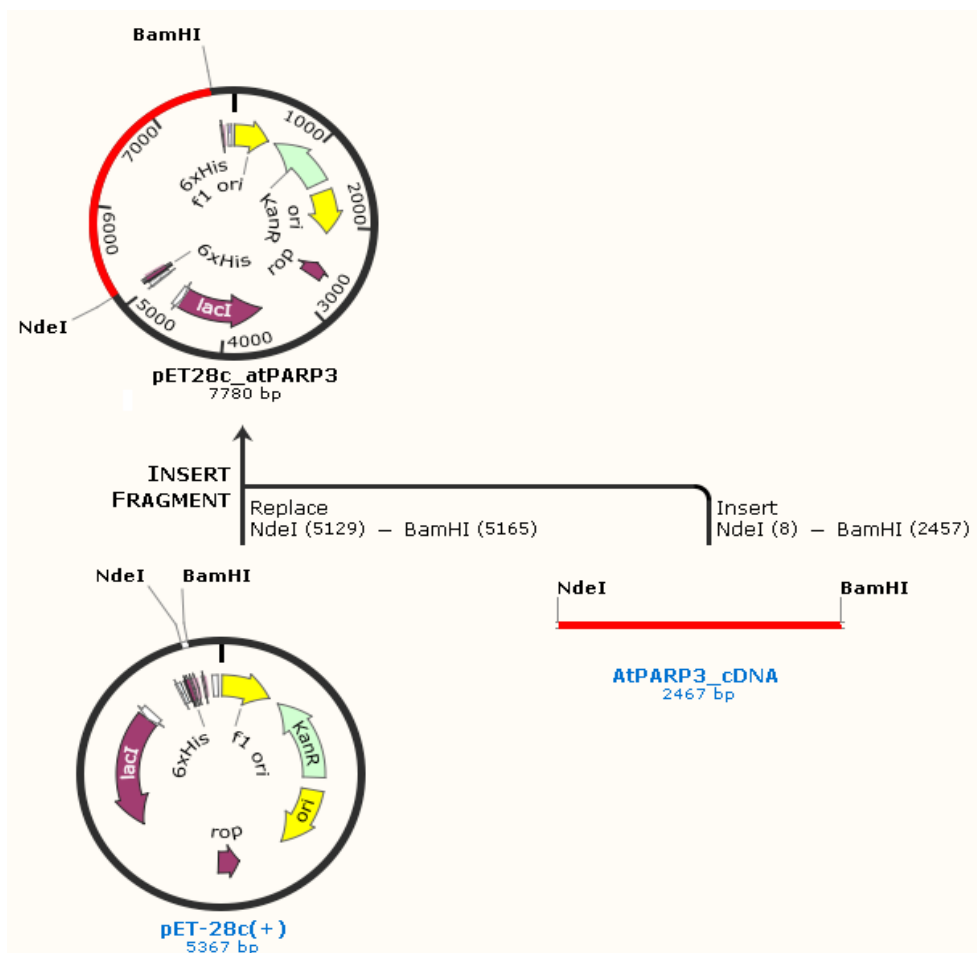


Рисунок 4 – Конструкция рекомбинантной плазмиды pET28c/AtPARP-3

Полученную конструкцию pET28c/AtPARP-3 трансформировали в *E. coli* штамма NovaXG Zappers для наработки рекомбинантной плазмиды. Селекцию клонов проводили на агаризованной среде LB с канамицином (50мкг/мл). Далее плазмидная ДНК, выделенная в соответствии с протоколом набора GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Thermo Scientific #K0503), была использована для тестирования клонов на наличие рекомбинантных плазмид, содержащих в своем составе ген *AtPARP-3* с помощью рестрикционного и ПЦР анализа.

Результаты рестрикционного анализа плазмиды представлены на рисунке 5Б. Как видно из рисунка клоны, содержащие плазмиды pET28c/AtPARP-3 при обработке эндонуклеазами рестрикции *NdeI* и *BamHI* на 1% агарозном геле, дают четко выраженные две полосы с длиной около 5,4 т.п.н. и 2.4 т.п.н. По размеру первая полоса соответствовала длине плазмиды pET28c без вставки, а вторая длине гена

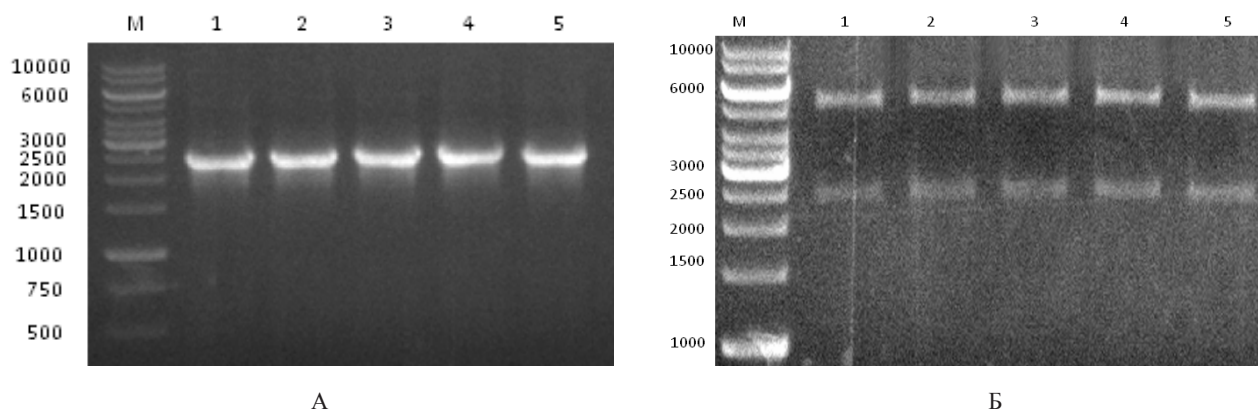
AtPARP-3. При проведении ПЦР анализа с использованием ген – специфических праймеров и плазмидной ДНК, выделенных из трансформантов, фрагменты, обнаруженные в результате агарозного геля – электрофореза полностью соответствовали длине клонированного гена *AtPARP-3* (рисунок 5А).

В результате скрининга удалось идентифицировать 5 колоний, содержащих рекомбинантные плазмиды. Клоны были секвенированы в обоих направлениях. Определение нуклеотидной последовательности показал полное соответствие первичной структуры гена ранее опубликованной нуклеотидной последовательности гена *AtPARP-3 A. thaliana*.

Для идентификации продукта гена *AtPARP-3* в клетках *E. coli* использовали систему экспрессии на основе РНК-полимеразы фага Т7. Для синтеза поли (АДФ-рибоза) полимеразы 3 *A. thaliana* в бактериальных клетках нами был выбран экспрессионный штамм *E. coli*

Rosetta(DE3), разновидность штамма K-12. Этот штамм содержит в хромосоме копию гена, кодирующий T7 РНК полимеразу под контролем *lacUV5*-промотора. Rosetta(DE3) создан на основе штамма BL21 *lacZY* для увеличения экспрес-

сии эукариотических белков содержащих редко используемые в *E. coli* кодоны. Этот штамм содержит гены тРНК к следующим кодонам: AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA в устойчивых к хлорамфениколу плазмиде.

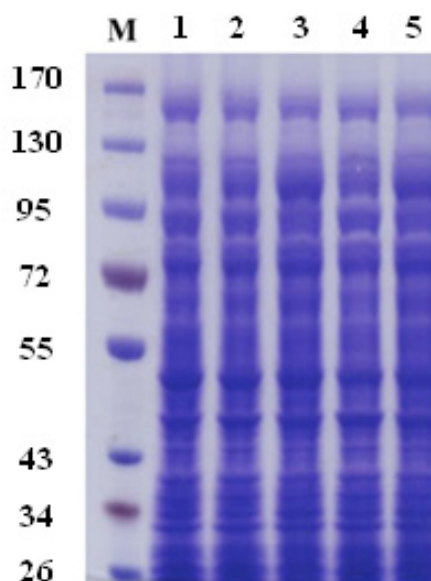


А – Рестрикционный анализ рекомбинантной плазмиды pET28c/AtPARP-3;
Б – ПЦР анализ рекомбинантной плазмиды pET28c/AtPARP-3; М: ДНК маркер; 1-4 клоны.

Рисунок 5 – Анализ клонов, трансформированных pET28c/AtPARP-3 штаммов *E. coli* на наличие рекомбинантной плазмиды

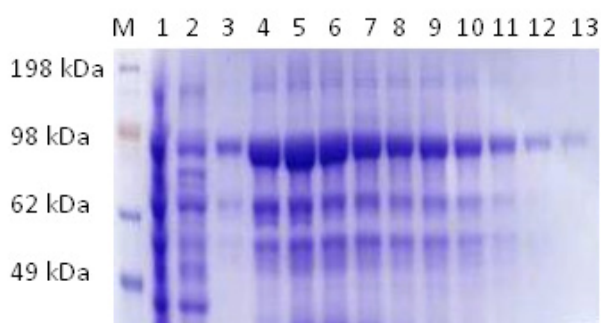
Экспрессию гена *AtPARP-3* в трансформированных клетках *E. coli* штамма Rosetta(DE3), выявляли с помощью ДСН-ПААГ электрофореза и определения ферментативной активности. Индукцию проводили в присутствии ИПТГ в конечной концентрации 0,5 мМ. Отбор проб для анализа проводили до и после индукции с ИПТГ в течение 12 часов (ночная культура). Отбор проб для анализа проводили до и после индукции с ИПТГ 12 часов (ночная культура). Электрофорез белковых образцов, концентрацию которых определяли методом Брэдфорда (Bradford M. M. 1976:248-254) и приготовили кипячением клеточных лизатов в 2х образцовом буфере, проводили в 10% ДСН-ПААГ в Трис-глицинном буфере при 12 V/см.

По результатам ДСН-ПААГ электрофореза удалось установить, что рекомбинантный штамм продуцирует белок с молекулярной массой 93,7 кДа, что находится в соответствии с молекулярной массой, предсказанной для AtPARP-3. В отсутствие индуктора накопление белка с соответствующей молекулярной массой не происходило (рисунок 6). Что свидетельствует об эффективной экспрессии данных генов.



М – Маркер; 1 – клеточный экстракт *E. coli* несущий пустой вектор pET28c; 2-5- клеточный экстракт *E. coli* несущий pET28c/AtPARP-3 после 12 h инд. с ИПТГ.

Рисунок 6 – Экспрессия кДНК гена *atPARP-3* *A. thaliana* в *E. coli*



Очистка на Ni-NTA матрице для белков, содержащих гистидиновую метку. М – белковый маркер, размеры которых указаны в кДа слева. 1 – Неиндуцированный клеточный лизат. 2 – Индуцированный клеточный лизат. 3 – Проскок через колонку NiTrap; 4-13 – Очищенные фракции белка.

Рисунок 7 – Аффинная хроматография экстракта клеток *E.coli*, экспрессирующих AtPARP-3-His₆ белок

Так как для экспрессии кДНК поли (АДФ-рибоза) полимеразы 3 *A. thaliana* в *E.coli* был выбран вектор pET28c с 6xHis•tag последовательностью на С– конце, экспрессированный рекомбинантный белок содержит шесть идентичных гистидиновых остатков на С– конце которые действуют как сайт связывания металлов для очистки и экспрессии белков. В связи с этим рекомбинантный белок с His-концом был очищен металлоаффинной хроматографией на ионах никеля (Ni²⁺) с использованием NiTrap

Chelating колонки объемом 1 мл и после элюирован из колонки с помощью имидазола в градиенте 20-500мМ с регистрацией оптической плотности на длине волны 280 нм. Степень очистки полученного белка определяли с помощью гель-электрофореза по Лэммли (Laemmli U.K., 1970:680-5) (Рисунок7).

Заклучение

В результате проведенных нами работ был проведен компьютерный анализ нуклеотидной и аминокислотной последовательности белка. На основании анализа аминокислотной последовательности белка была построена доменная структура AtPARP-3. В результате анализа нуклеотидной последовательности кДНК гена *AtPARP-3* проведен расчет и осуществлен синтез олигонуклеотидных праймеров. С применением сайт специфических праймеров нами был выделен *AtPARP-3* кДНК ген методом ОТ-ПЦР и и успешно экспрессирован в *E. coli* под контролем T7 промотора. Анализ ДСН-ПААГ показал, что *AtPARP-3* представляет собой основной белок, продуцируемый в *E.coli* с молекулярной массой 91,5 кДа, что соответствует массе белка предсказанной на основе аминокислотной последовательности. MALDI-TOF масс-спектрометрия предполагаемого рекомбинантного белка и его анализ с использованием NCBI BLAST показали, что фермент содержит предполагаемые консервативные домены присущие PARP-3 *A. thaliana*.

Литература

- 1 Schreiber V., Dantzer F., Ame J. C., de Murcia G. Poly(ADP-ribose): novel functions for an old molecule // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2006. – Vol. 7. – P. 517–528.
- 2 Ame J-C., Spenlehauer C., de Murcia G. The PARP superfamily // BioEssays. – 2004. – Vol. 26. – P.882–893.
- 3 Morales J.C., Li L., Fattah F.J., Dong Y., Bey E.A., Patel M., Gao J., David A. Boothman D.A. Review of Poly (ADP-ribose) Polymerase (PARP) Mechanisms of Action and Rationale for Targeting in Cancer and Other Diseases // Crit Rev Eukaryot Gene Expr. – 2014. – Vol. – 24, №1. – P. 15–28.
- 4 Dantzer F., Giraud-Panis M-J., Jaco I., Amé J-C., Schultz I., Blasco M., Koering C-E., Gilson E., de Murcia J.M., de Murcia G., Schreiber M. Functional Interaction between Poly(ADP-Ribose) Polymerase 2 (PARP-2) and TRF2: PARP Activity Negatively Regulates TRF2 // Mol Cell Biol. – 2004. – Vol. 24, № 4. – P. 1595–1607.
- 5 Loseva O., Jemth A-S., Bryant H.E., Schuler H., Lehtio L., Karlberg T., Helleday T. PARP-3 Is a Mono-ADP-ribosylase That Activates PARP-1 in the Absence of DNA // The journal of biological chemistry. – 2010. – VOL. 285, № 11. – P. 8054–8060.
- 6 Hassa P. O., Haenni S. S., Elser M., Hottiger M. O. Nuclear ADP-Ribosylation Reactions in Mammalian Cells: Where Are We Today and Where Are We Going? // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2006. – Vol. 70. – P. 789–829.
- 7 Woodhouse B.C., Dianov G.L. Poly ADP-ribose polymerase-1: an international molecule of mystery // DNA Repair. – 2008. – Vol. 7. – P.1077–1086.
- 8 Kim, M.Y., Zhang, T. and Kraus, W.L. Poly(ADP-ribosyl)ation by PARP-1: ‘PAR-laying’ NAD⁺ into a nuclear signal // Genes Dev. – 2005. – Vol. 19. – P. 1951–1967.
- 9 Talhaoui I., Lebedeva N.A. Poly(ADP-ribose) polymerases covalently modify strand break termini in DNA fragments in vitro // Nucleic Acids Res. – 2016. – Vol.44 – P. 9279–9295
- 10 Loseva, O., Jemth, A.S., Bryant, H.E., Schuler, H., Lehtio, L., Karlberg, T. and Helleday, T. PARP-3 is a mono-ADP-ribosylase that activates PARP-1 in the absence of DNA // J. Biol. Chem. – 2010. – Vol. 285. – P. 8054–8060.

- 11 Grundy,G.J., Polo,L.M., Zeng,Z., Rulten,S.L., Hoch,N.C., Paomephan,P., Xu,Y., Sweet,S.M., Thorne,A.W., Oliver,A.W. et al. PARP3 is a sensor of nicked nucleosomes and monoribosylates histone H2B(Glu2) // *Nat. Commun.* – 2016. – Vol. 7. – P. 12404.
- 12 Beck,C., Boehler,C., Guirouilh Barbat,J., Bonnet,M.E., Illuzzi,G., Ronde,P., Gauthier,L.R., Magroun,N., Rajendran,A., Lopez,B.S. et al. PARP3 affects the relative contribution of homologous recombination and nonhomologous end-joining pathways // *Nucleic Acids Res.* – 2014. – Vol. 42. – P. 5616–5632.
- 13 Rouleau,M., McDonald,D., Gagne,P., Ouellet,M.E., Droit,A., Hunter,J.M., Dutertre,S., Prigent,C., Hendzel,M.J. and Poirier,G.G. PARP-3 associates with polycomb group bodies and with components of the DNA damage repair machinery // *J. Cell. Biochem.* – 2007. – Vol. 100. – P. 385–401.
- 14 Rulten,S.L., Fisher,A.E., Robert,I., Zuma,M.C., Rouleau,M., Ju,L., Poirier,G., Reina-San-Martin,B. and Caldecott,K.W. PARP-3 and APLF function together to accelerate nonhomologous end-joining // *Mol. Cell.* – 2011. – Vol. 41. – P. 33–45.
- 15 Boehler,C., Gauthier,L.R., Mortusewicz,O., Biard,D.S., Saliou,J.M., Bresson,A., Sanglier-Cianferani,S., Smith,S., Schreiber,V., Boussin,F. et al. Poly(ADP-ribose) polymerase 3 (PARP3), a newcomer in cellular response to DNA damage and mitotic progression // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2011. – Vol. 108. – P. 2783–2788.
- 16 Schreiber,V., Ame,J.C., Dolle,P., Schultz,I., Rinaldi,B., Fraulob,V., Menissier-de Murcia,J. and de Murcia,G. Poly(ADP-ribose) polymerase-2 (PARP-2) is required for efficient base excision DNA repair in association with PARP-1 and XRCC1 // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277. – P. 23028–23036.
- 17 Briggs A.G., Bent A.F. Poly(ADP-ribosyl)ation in plants // *Trends Plant Sci.* – 2011. – Vol. 16. – № 7. – P.372–80.
- 18 Vainonen J.P., Shapiguzov A., Vaattovaara A., Kangasjärvi J. Plant PARPs, PARGs and PARP-like Proteins // *Current Protein and Peptide Science.* – 2016. – Vol. 17. – P.713-723
- 19 Lamb R.S., Citarelli M., Teotia S. Functions of the poly(ADP-ribose) polymerase superfamily in plants // *Cell Mol Life Sci.* – 2012. – Vol. 69. – № 2. – P.175–89.
- 20 Langelier M.F., Riccio A.A., Pascal J.M. PARP-2 and PARP-3 are selectively activated by 5' phosphorylated DNA breaks through an allosteric regulatory mechanism shared with PARP-1 // *Nucleic Acids Res.* – 2014. – Vol. 42. – 7762-7775.
- 21 Babiychuk E., Cottrill P.B., Storozhenko S., Fuangthong M., Chen Y., O'Farrell M.K., Van Montagu M., Inzé D., Kushnir S. Higher plants possess two structurally different poly(ADP-ribose) polymerases // *Plant J.* – 1998. – Vol. 15. – P. 635-45.
- 22 Feng, B., Liu, C., de Oliveira, M. V. V., Intorne, A. C., Li, B., Babilonia, K., et al. Protein poly(ADP-ribosyl)ation regulates Arabidopsis immunogene expression and defense responses // *PLoS Genet.* – 2015. – Vol. 11. – P. 1004936.
- 23 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.*, 1962. – Vol. 15, № 13. – P. 473–497.
- 24 Bradford M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol. 72. – P. 248-302.
- 25 Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* – 1970. – Vol. 227, № 5259. – P. 680-685.

**Мынбаева Д.О.¹, Омирбекова Н.Ж.¹, Жунусбаева Ж.К.¹,
Жусупова А.И.¹, Бегманова М.О.², Амиргалиева А.С.²**

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби,

Казахстан, г. Алматы, e-mail: dana_1206@mail.ru

²РГП «Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК, Казахстан, Алматы қ.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ У СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Буряя ржавчина является одной из основных болезней пшеницы, возбудителем которой является гриб *Puccinia triticina*, может привести к потерям урожая, а также к снижению качества зерна. Устойчивость к бурой ржавчине мягкой пшеницы является предпосылкой для получения стабильно высоких урожаев. В данной работе приведены результаты исследования пяти сортов (отечественные и российские) мягкой пшеницы на наличие генов устойчивости к бурой ржавчине с использованием молекулярных маркеров. С целью изучения устойчивости пшеницы к бурой ржавчине были выбраны 4 гена – Lr10, Lr22a, Lr34, Lr67. В результате молекулярного скрининга установлено, что все исследованные сорта пшеницы являются носителями генов Lr10, Lr22a и Lr67, которые обеспечивают устойчивость к бурой ржавчине. А по гену Lr34 сорта Новосибирская 29, Самгау и Женис имеют рецессивный аллель, а Казахстанская 19 и Ирень несут доминантный аллель и могут быть использованы в качестве его источников в селекционном процессе. С использованием молекулярных маркеров показано наличие у изученных материалов высоко- и частично эффективных генов устойчивости к бурой ржавчине.

Ключевые слова: бурая ржавчина, Lr-гены, мягкая пшеница, устойчивость, молекулярные маркеры

**Мынбайева Д.О.¹, Омирбек ова Н.Ж.¹, Жунусбайева Ж.К.¹,
Жусупова А.И.¹, Бегманова М.О.², Амиргалиева А.С.²**

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: dana_1206@mail.ru

²«Institute of General Genetics and Cytology» SC MES RK, Kazakhstan, Almaty

Identification resistance genes to brown rust in softwheat varieties

Brown rust is one of the major diseases of wheat, the causative agent of which is the fungus *Puccinia triticina*, which can lead to crop losses, as well as to a decrease in the quality of grain. Resistance to brown rust of soft wheat is a prerequisite for consistently high yields. This paper presents the results of a study of five varieties (domestic and Russian) of soft wheat for the presence of brown rust resistance genes using molecular markers. In order to study the resistance of wheat to brown rust, 4 genes were selected – Lr10, Lr22a, Lr34, Lr67. As a result of molecular screening, it was established that all the studied wheat varieties are carriers of the Lr10, Lr22a and Lr67 genes, which provide resistance to leaf rust. And according to the Lr34 gene, the Novosibirsk 29, Samgau and Zhenis varieties have a recessive allele, and the Kazakhstan 19 and Iren carry the dominant allele and can be used as its sources in the selection process. Using molecular markers, it was shown that the materials studied have high and partially effective brown rust resistance genes.

Key words: brown rust, Lr-genes, soft wheat, resistance, molecular markers

Мынбаева Д.О.¹, Омирбекова Н.Ж.¹, Жұнусбаева Ж.К.¹,
Жусупова А.И.¹, Бегманова М.О.², Амиргалиева А.С.²

¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: dana_1206@mail.ru

²ҚР БҒМ ҒК «Жалпы генетика және цитология институты», Қазақстан, Алматы қ.

Қоңыр татқа төзімділік гендерін жұмсақ бидай сорттарында анықтау

Қоздырғышы *Puccinia triticina* саңырауқұлағы болып табылатын қоңыр тат бидай астық тұқымдасының ең негізгі ауруларының бірі және ол егін өнімділігінің төмендеуіне және бидай дәнінің сапасының бұзылуына алып келеді. Жұмсақ бидайдың қоңыр татқа төзімділігі қалыпты жоғары көрсеткішті өнім алудың алғышарты болып есептеледі. Бұл мақалада молекулалық маркерлерді қолдану арқылы қоңыр тат аурына жұмсақ бидайдың бес сорттында (отандық және орыс сорттары) төзімділік гендерінің болуына жүргізілген зерттеу нәтижелері келтірілген. Қоңыр татқа төзімділікті зерттеуде 4 ген таңдалды: Lr10, Lr22a, Lr34 және Lr67. Молекулалық скрининг жүргізу нәтижесі бойынша барлық зерттелген сорттар Lr10, Lr22a және Lr67 қоңыр татқа төзімділікке әсер ететін гендердің тасымалдаушылары екендігі анықталды. Lr34 гені бойынша Новосибирская 29, Самғау және Жеңіс сорттары рецессивті аллель тасымалдаушылары, ал Казахстанская 19 және Ирен сорттары болса доминантты аллельге ие және бұл сорттарды селекциялық жұмыстарда төзімділік гендерінің көзі ретінде пайдалану бидай өнімінің бірнеше есе жоғарылауына алып келеді. Молекулалық маркерлер көмегімен зерттелген материалдарда жоғары және ішінара тиімді қоңыр татқа қарсы төзімділік гендері анықталды.

Түйін сөздер: қоңыр тат, Lr-гендер, жұмсақ бидай, төзімділік, молекулалық маркерлер

Сокращения и обозначения

Lr – гены устойчивости (*leaf rust*), ПЦР – полимеразная цепная реакция, APR – возрастные гены устойчивости.

Введение

Реализация производительности современных сортов пшеницы ограничивается потерями урожая от грибковых заболеваний, которые интенсивно развиваются в условиях повышенной влажности и температуры воздуха [1].

По данным ФАО [2], мировые потери урожая пшеницы от вредных организмов составляют 34%, в том числе от болезней – 12%. В Казахстане озимая и яровая пшеница поражается несколькими видами ржавчины (бурая, желтая, стеблевая) [3]. Распространение и развитие болезней пшеницы заметно варьируется в зависимости от погодных условий, зон возделывания и сортовых особенностей культуры [4]. Производство зерна было и остается важным стратегическим ресурсом Казахстана, базовой отраслью сельскохозяйственного производства. Республика производит зерно не только для обеспечения внутренней потребности страны, но и экспортирования в зарубежные страны [5]. В продовольственном зерне Казахстан покрывал потребность не только свою, но и республик Средней Азии. Сильная и твердая пшеница, выращенная в Казахстане, экспортируется для переработки в макаронные изделия, а также для улучшения

хлеба в Прибалтийские и другие республики. Казахстан, как один из основных производителей зерна в мире, при уровне урожайности пшеницы 15-20 ц/га, ежегодно теряет от 3,5 до 9,5 ц/га пшеницы [2;4]. Одной из основных причин такого ущерба являются массовые вспышки грибковых болезней, среди которых наиболее распространенными и вредоносными являются бурая листовая ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss., *Puccinia recóndita* Rob.)

Основным критерием высокого уровня продовольственной безопасности является устойчивое воспроизводство зерна, масла и других сельскохозяйственных продуктов. Регион Центральной Азии является одним из важнейших мировых производителей пшеницы, которая выращивается на площади 15 млн. га. На этой территории в последние годы получила распространение бурая ржавчина пшеницы *Puccinia recóndita* f. sp. *tritici*, которая наносит серьезный экономический ущерб, снижая и качество зерна. В связи с этим, одной из главных задач агропромышленного комплекса Казахстана является повышение урожайности и качества стратегически важных сельскохозяйственных культур. Использование генетически устойчивых сортов является наиболее эффективным, экономически и экологически надежным методом контроля болезней, позволяющим снизить или элиминировать применение фунгицидов и свести к минимуму потери урожая от ржавчины [6].

Практически все виды ржавчинных заболеваний относятся к факторам, лимитирующим

увеличение производства зерна. Бурая ржавчина специфическое заболевание пшеницы встречается в Аргентине, Бразилии, Западной Европе, Канаде, Китае, США, где она вызывает эпифитотии. Встречается в Алтайском крае, Грузии, Закавказье, Зауралье и Западной Сибири, Поволжье, Приморском крае, Северном Казахстане [7]. Бурая ржавчина (возбудитель *Puccinia recondita*) – одна из самых распространенных и вредоносных болезней пшеницы мягкой *Triticum aestivum* L. среди листовых заболеваний. Пораженные растения покрываются пустулами красно-бурого цвета. Вред бурой ржавчины заключается в уменьшении ассимиляционной поверхности растений и усилении транспирации. Это приводит к нарушению водного баланса, преждевременному отмиранию листьев, снижению зимостойкости растений [8]. В борьбе с бурой ржавчиной наиболее эффективным методом является селекция болезнеустойчивых сортов. Анализ современного сортимента районированных сортов свидетельствует о наличии незначительного количества сортов, обладающих устойчивостью к болезням [9].

Ни один агротехнический прием не обеспечивает надежного контроля болезней зерновых культур с воздушно-капельной и почвенной инфекциями, наиболее эффективным против видов ржавчины и грибковых пятнистостей является возделывание устойчивых сортов. Однако среди 80 сортов яровой мягкой пшеницы, допущенных к использованию в Казахстане, практически нет устойчивых к видам ржавчины и септориозу. В 2016 г. в Северном Казахстане двумя видами ржавчины и септориозом в средней и сильной и степени было поражено большинство посевов пшеницы и требовалось проведение химической защиты на площади не менее 6-7 млн га. Однако это нереально в экономическом плане и нецелесообразно в экологическом. Потери зерна пшеницы из-за комплекса болезней с воздушно-капельной инфекцией составили не менее 15-20%, а на отдельных полях утрачено более 1/3 урожая. Создание и внедрение в производство сортов яровой пшеницы, устойчивых к болезням с листостебельной инфекцией позволит повысить продуктивность полей, экспортный потенциал страны, а также расходы на химическую защиту посевов в среднем на 3500-4000 тенге на гектар. В связи с расширением ареала новой агрессивной расы стеблевой ржавчины пшеницы Ug99 в Африке и Азии особенно возрастает актуальность этой проблемы. В перспективе потенциальная площадь яровой пшеницы, занятая

устойчивыми сортами, должна составить не менее 50-60% [10].

Несмотря на проведение мероприятий по защите зерновых культур от пятнистостей, потери достигают 30–40% [11]. Основная причина этого явления – высокая пластичность и приспособляемость возбудителей к экологическим условиям во взаимодействии с сортовыми особенностями [12]. Создание сортов, сочетающих высокий потенциал урожайности с генетической его защитой от болезней, один из центральных вопросов в селекции, который является наиболее экономичным, экологичным и необходимым методом борьбы с вредными организмами. Этот метод включает поиск доноров эффективных генов устойчивости к болезням [13].

В научной литературе имеется обширная информация о генах устойчивости пшеницы к возбудителю бурой ржавчины. К настоящему времени в каталоге генов пшеницы имеется информация о 68 *Lr*-генах [14]. Однако одной из основных проблем недолгой эффективности большинства *Lr*-генов является появление вирулентных рас патогена, которые способны преодолеть устойчивость. Вследствие этого многие из известных *Lr*-генов устойчивости становятся неэффективными [15].

На данный момент, существует большое количество идентифицированных *Lr*-генов. Многим из них свойственна недолгая эффективность. Причиной является появление вирулентных рас патогена, которые способны преодолеть устойчивость. Вследствие этого многие из известных генов устойчивости становятся неэффективными. Особая опасность бурой ржавчины обусловлена способностью патогена к мутации и быстрой смене генераций, что ускоряет расообразовательный процесс [16]. Тем не менее, *Lr34*, *Lr68* и *Lr67* гены устойчивости обеспечивают частичную, но длительную устойчивость [17]. Эти гены способствуют замедленному типу развития ржавчины и являются эффективными ко всем расам патогена. Дополнительное действие этого типа гена приводит к повышению устойчивости до уровня иммунности.

Поэтому необходим поиск источников новых генов устойчивости к ржавчине пшеницы. Для того чтобы с большей надежностью контролировать болезнеустойчивость, очень важно иметь в распоряжении молекулярные маркеры, сопряженные с этим признаком. В настоящем исследовании внимание было обращено на часть эффективных генов устойчивости к бурой ржавчине – *Lr10*, *Lr22a*, *Lr34*, *Lr67*.

Материалы и методы

Материалами исследований являются сорта и перспективные линии мягкой озимой пшеницы: Казахстанская 19, Женис, Новосибирская 29, Самгау и Ирень. Сорта предоставлены КазНУ, лаборатория генетики и селекции растений. Выделение геномной ДНК из растительного материала осуществлено из проростков пшеницы на основе СТАВ метода с использованием 7-днев-

ных проростков по методике *Riede* и *Anderson* [18]. Для идентификации *Lr*-генов устойчивости использован метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с специфическими праймерами, маркирующими отдельные гены (Таблица 1). Амплификация проведена в амплификаторе *Mastercycler nexus gradient* (Eppendorf, Германия).

Программы амплификации выбраны в зависимости от исследуемого *Lr*-гена устойчивости (Таблица 2).

Таблица 1 – Праймеры, использованные для идентификации генов устойчивости

Lr гены	Название маркера	Тип маркера	Локализация	Последовательность, 5'→3'	Литература
Lr10	FL2245lr10-6/r2	STS	1AS	GTG TAA TGC ATG CAG GTT CC AGG TGT GAG TGA GTT ATG TT	Feuillet C., 2003
Lr22a	WMS296	SSR	2DS	AAT TCA ACC TAC CAA TCT CTG GCC TAA TAA ACT GAA AAC GAG	Hiebert C.W. et al., 2007
Lr34	csLV34	STS	7DS	GTT GGT TAA GAC TGG TGA TGG TGC TTG CTA TTG CTG AAT AGT	Lagudah E. et al, 2006
Lr67	Xcfd23-4D	CFD	4D	CAA TAA GTA GGC CGG GAC AA TGT GCC AGT TGA GTT TGC TC	Guyomarch et al. 2002

Таблица 2 – Условия проведения полимеразной цепной реакции с использованием праймеров к соответствующим Lr-генам устойчивости

Lr-гены	Начальная денатурация, °C (мин)	Количество циклов	Денатурация, °C (сек)	Отжиг, °C (сек)	Экстенция, °C (сек)	Последняя экстенция °C (мин)
Lr10	94 (3)	35	94 (60)	58 (60)	72 (120)	72 (5)
Lr22a	94 (2)	30	94 (60)	55 (60)	73 (50)	73 (5)
Lr34	94 (10)	30	94 (30)	60 (30)	72 (30)	72 (7)
Lr67	94 (2)	30	95 (60)	60 (60)	72 (60)	73 (5)

Продукты амплификации разделяли в 1,4% агарозном геле в трис-ацетатном буфере. Гели документировали с помощью системы геледокументации *Vilber Lourmat* (Франция). В качестве маркера молекулярной массы был использован коммерческий маркер *GeneRuler 100bp DNA Ladder* (*ThermoScientific*, США).

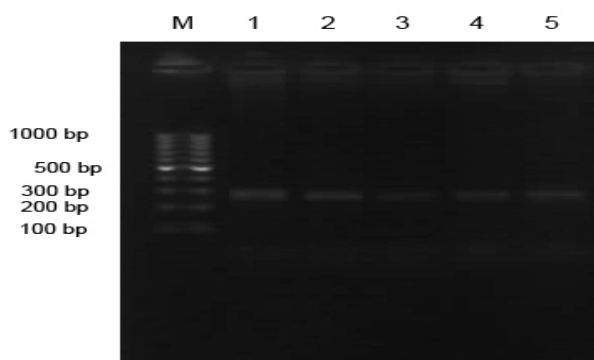
Результаты и обсуждения

Ген устойчивости *Lr10* был идентифицирован в геноме пшеницы и картирован на коротком плече хромосомы 1A. *Schachermayr* с соавторами впервые выделили этот ген и описали его структуру [19]. Ген *Lr10* получил широкое рас-

пространение в сортах пшеницы по всему миру. Он обнаружен во многих австралийских сортах, сортах Северной Америки и линиях, ведущих свое происхождение из селекционных программ СИММИТ (*International Maize and Wheat Improvement Center*). В связи с быстрым адаптационным процессом вирулентных рас патогена направленный на преодоление эффекта генов устойчивости *Lr10* не является высокоэффективным. По данным исследования СИММИТ показано, что сочетание 4-5 генов устойчивости играет важную роль в комбинации с другими генами устойчивости к бурой ржавчине. В результате ПЦР-анализа с использованием специфичного для данного гена FL2245lr10-6/r2 STS-маркера,

был установлен фрагмент длиной около 290 п.н. Данный фрагмент наблюдался во всех исследованных образцах (Рисунок 1).

Схожие работы были выполнены А.А. Токубаевой и ее коллегами на 57 сортах (отечественные и зарубежные) сортах пшеницы [20].



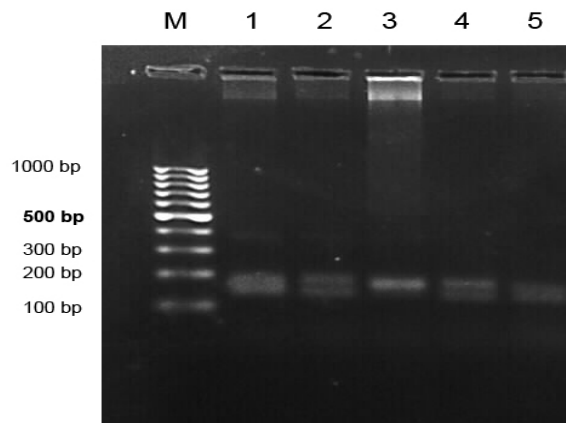
М – молекулярный маркер (*GeneRuler 100 bp DNA Ladder, ThermoFisherScientific, США*);
1 – Новосибирская 29; 2 – Казахстанская 19;
3 – Ирень; 4 – Самгау; 5 – Женис

Рисунок 1 – Продукты амплификации ДНК с геном *Lr10*

Lr22a APR ген ответственен за возрастную устойчивость к бурой ржавчине. *Lr 22* идентифицировали *G.G. Rowland* и *E.R Kerber*. Найдено два аллеля этого гена – а и б. Локализованы они в хромосоме 2DS [21]. Источником гена является *Aegilops tauschii*. Для идентификации носителей гена *Lr22a* проводили ПЦР, с использованием SSR маркера WMS296 [9]. В результате анализа размер фрагмента ДНК *Lr22a* гена колеблется от 120 до 185 п.н. По идентификации данного гена в Казахстане проводилось ограниченное число исследований. Например, А.М. Кохметова с коллегами выявила два фрагмента этого гена с различной длиной. Представленное различие между размерами ДНК фрагмента может объясняться тем, что локус *Lr22a* является специфичным у разных сортов (Рисунок 2).

Lr34 относится к числу наиболее высокоэффективных генов устойчивости к бурой ржавчине. В отличие от других *Lr* генов, он не связан с расспецифичностью и обеспечивает общую устойчивость сортов пшеницы на протяжении всего вегетационного периода. В этом отношении ген представляет большую ценность. В основном, это обусловлено экспрессией *Lr34* в ли-

стьях, однако этот ген может функционировать и в зародышах [22]. *Lr34* ген относится к группе генов, обеспечивающих устойчивость как качественного, так и количественного проявления. К этой немногочисленной группе генов также относятся *Lr46* и *Lr67*.



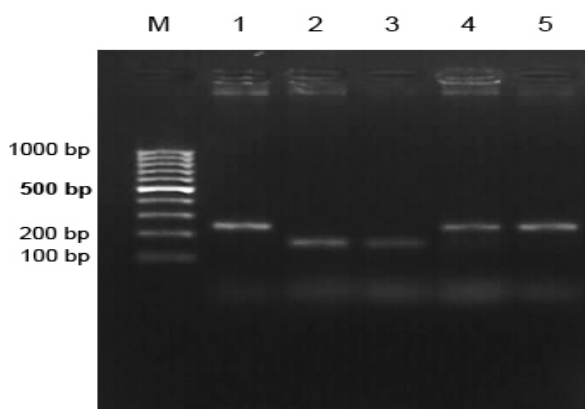
М – молекулярный маркер (*GeneRuler 100 bp DNA Ladder, ThermoFisherScientific, США*);
1 – Новосибирская 29; 2 – Казахстанская 19;
3 – Ирень; 4 – Самгау; 5 – Женис

Рисунок 2 – Продукты амплификации ДНК с геном *Lr22a*

В данном исследовании для выявления гена *Lr34* был использован csLV34STS-маркер. Ген локализован в 7DS хромосоме. В результате ПЦР у сортов выявляются фрагменты разной длины, от 185 до 258 п.н. Сегмент хромосомы, в состав которого входит ген *Lr34*, содержит также ген устойчивости к желтой ржавчине *Yr18*, стеблевой ржавчине, желтой карликовости ячменя *Bdv1* [23]. Этот факт является усилителем ценности данного локуса.

Маркер csLV34 гена *Lr34*, позволяет оценить аллельное состояние в образцах озимой мягкой пшеницы. Доминантный аллель указывает на наличие в образцах фрагмента амплификации с молекулярным весом 150 п.н., а рецессивный аллель с молекулярным весом 229 п.н. Если в образце находятся оба фрагмента, то в этом случае ген *Lr34* находится в гетерозиготном состоянии или это показывает о гетерогенности исходного материала. На рисунке 4 видны фрагменты амплификации, идентифицирующие наличие в исследуемых образцах гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* в различных аллельных состоя-

ниях. Сорты Новосибирская 29, Самгау и Женис имеют рецессивный аллель гена *Lr34*. А сорта Казахстанская 19 и Ирень несут доминантный аллель гена *Lr34* и могут быть использованы в качестве его источников в селекционном процессе (Рисунок 3).



М – молекулярный маркер (*GeneRuler 100 bp DNA Ladder, ThermoFisherScientific, США*);
1 – Новосибирская 29; 2 – Казахстанская 19;
3 – Ирень; 4 – Самгау; 5 – Женис

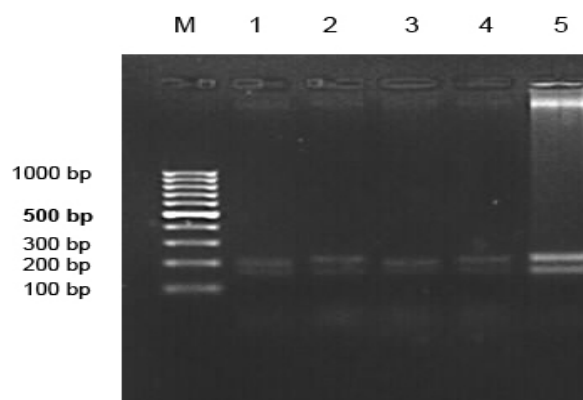
Рисунок 3 – Продукты амплификации ДНК с геном *Lr34*

Ген *Lr67* в комплементарном взаимодействии с другими генами устойчивости обеспечивает полевую устойчивость к *Puccinia recondita* в виде APR гена. Для поиска гена был использован генетический маркер Xcfd23-4D. Ген *Lr67* локализован в хромосоме 4D. На рисунке 5 представлены результаты электрофореза продуктов ПЦР, отражающие наличие в исследуемых образцах гена *Lr67* и было показано, что фрагмент амплификации присутствует во всех образцах (Рисунок 4).

У всех, взятых для исследования образцов мягкой пшеницы идентифицированы *Lr*-гены: *Lr10*, *Lr22a*, *Lr34*, *Lr67*. Известно, что APR ген *Lr34* очень широко распространен у коммерческих сортов пшеницы. Также известно, что комплекс генов *Lr34* и *Lr68* относится к генам с длительным развитием ржавчины, “*slow rusting genes*”, которые обеспечивают длительную и неспецифическую устойчивость взрослого растения. По данным Колмера [24], ген остается эффективным в контроле бурой ржавчины более 30 лет. По-видимому, этим объясняется стабильная полевая устойчивость к

ржавчине этой линии на инфекционном фоне. Это могут подтвердить многие проведенные исследования.

Важно, что на сегменте хромосомы, который содержит ген *Lr34*, расположены также другие гены устойчивости, в частности, к стеблевой ржавчине (*Yr18*) [25]. Этот локус на хромосоме 7D представляет практический интерес для решения обсуждаемой проблемы у мягкой пшеницы.



М – молекулярный маркер (*GeneRuler 100 bp DNA Ladder, ThermoFisherScientific, США*);
1 – Новосибирская 29; 2 – Казахстанская 19;
3 – Ирень; 4 – Самгау; 5 – Женис

Рисунок 4 – Продукты амплификации ДНК с геном *Lr67*

Ранее не исследованные на наличие генов устойчивости к бурой ржавчине сорта пшеницы Казахстанская 19, Новосибирская 29, Ирень, Самгау и Женис могут быть предложены в качестве доноров генов устойчивости различным селекционным проектам. Сорты пшеницы, являющиеся устойчивыми на протяжении 5 и более лет, теряют эту способность. Связано это напрямую со способностью патогенных вредителей эволюционировать с высокой скоростью (новые расы, патотипы). Появляется необходимость увеличения числа устойчивых сортов. В этом направлении ведется небольшое количество исследований. В связи с этим и проводилась данная работа.

Проведенный анализ наглядно демонстрирует значимость генетических скринингов *Lr* генов у используемых доноров и новых сортов пшеницы и необходимость использования этой информации при районировании.

Заключение

Таким образом, в связи с агрессивным развитием ржавчинных болезней необходимо выявление новых доноров генов устойчивости к бурой ржавчине и создание на их основе селекционного материала пшеницы. В результате молекулярного скрининга было установлено, что сорта пшеницы Казахстанская 19 и Ирень являются носителями генов *Lr10*, *Lr22a*, *Lr34* и *Lr67*, которые обеспечивают устойчивость к бурой ржавчине. По гену *Lr34* сорта Новосибирская 29, Самгау и Женис имеют рецессивный аллель, а Казахстанская 19 и Ирень несут доминантный аллель и могут быть использованы в качестве его источников в селекционном процессе.

Использование молекулярных маркеров оказывается более быстрым и надежным методом для идентификации отдельных генов. Их

можно применять на любой стадии онтогенеза растения.

Благодарности

Авторы искренне благодарны сотрудникам лаборатории молекулярной генетики РГП «Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК за помощь в организации исследований на базе лаборатории. Работа выполнена в рамках программы грантового финансирования Комитета науки МОН РК по проекту AP05134104 «Физиолого-биохимические механизмы неспецифической устойчивости модельного объекта *Brachypodium distachyon* L. к бурой листовой ржавчине».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

- 1 Ретьман С.В. Абіотичні чинники та розвиток септоріозу листя / С.В.Ретьман, О.В.Шевчук // Карантин і захист рослин. – 2009. – №12. – С.2-3.
- 2 FAO statistical year book. World food in agriculture// Rome, – 2013. P. 289.
- 3 Койшыбаев М. Болезни зерновых культур. – Алматы: Бастау, 2002: – С 38-40.
- 4 Рсалиев Ш.С., Койшыбаев М.К., Моргунов А.И., Колмер Д. Анализ состава популяций стеблевой и листовой ржавчины пшеницы на территории Казахстана // Материалы международной научно-практической конференции. Алматы: Алейрон. – 2005. – С. 267-272
- 5 Производство зерна в некоторых странах мира и СНГ// Фактографическая справка.- Научно-технический центр межотраслевой информации. (НТЦ МИ) – Алматы, 1999.
- 6 Маркелова Т.С. Иммунологические основы и методы создания исходного материала пшеницы для селекции на устойчивость к болезням в Поволжье: дис. ... док. с-х. наук: 06.01.11. – Саратов, 2007. – 44 с.
- 7 Пересыпкин В. Ф. Болезни зерновых культур при интенсивных технологиях возделывания / В.Ф. Пересыпкин, С.Л. Тютерев, Т.С. Баталова.– М.: Агропромиздат. 1991.– 272с.
- 8 Пересипкін В. Ф. Сільськогосподарська фітопатологія. // В. Ф. Пересипкін. – К.: Аграрна освіта, 2000. – 262 с.
- 9 Біляєва І.М. Динаміка ураження сортів озимої м'якої пшениці бурюю іржею і втрати урожайності від патогена за різної вологозабезпеченості рослин / І.М. Біляєва // Зрошуване землеробство: міжвід. темат. наук. зб. – К., 2009. – Вип. 51. – С.111–115.
- 10 М.Койшыбаев журнал "Аграрный сектор" №3(29), 2016 г.
- 11 Ретьман С. В. Плямистості озимої пшениці в Лісостепу України й концептуальні основи захисту: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра с.-г. наук: спец. 06.01.11 «Фітопатологія» / Ретьман Сергій Васильович. – 2009. – 43 с.
- 12 Ковалишина Г. М. Селекція озимої пшениці на стійкість проти хвороб / Г. М. Ковалишина // Інтегрований захист рослин на початку ХХІ століття: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. – 2004 – С. 709 –718.
- 13 Лісовий М. П. Стан та перспективи селекції на стійкість щодо збудників основних хвороб рослин в Україні / М. П. Лісовий // Вісник аграрної науки. – 2000. – № 12. – С.70 –72.
- 14 McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X. Catalogue of gene symbols for wheat: 2010 supplement // <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene>. – 2010.
- 15 Кохметова А.М., Сапахова З.Б., Маденова А.К., Есенбекова Г.Т. Идентификация носителей генов устойчивости к желтой Yr5, Yr10, Yr15 и бурой ржавчине Lr26, Lr34 на основе молекулярного скрининга образцов пшеницы // Биотехнология. Теория и Практика. – 2014. – №1. – С. 71-78 DOI: 10.11134/btp.1.2014.10.
- 16 Кохметова А.М., Седловский А.И., Тюпина Л.Н., Есенбекова Г.Т., Идентификация гермоплазмы пшеницы, устойчивой к ржавчине с использованием генетических и молекулярных маркеров // Бюллетень Никитского ботанического сада. – Выпуск 99. – С. 41-45.
- 17 Lagudah E.S. Molecular genetics of race non-specific rust resistance in wheat // Euphytica. – 2011. – 179. – P. 81-91.
- 18 Riede C.R. and Anderson J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat // Crop Science. – 1996. – Vol. 36. – P. 905-909.

- 18 Schachermayr G., Feuillet C., Keller B. Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds // *Mol. Breed.* – 1997. – V. 3. P. 65-74.
- 19 Токубаева А.А., Шулембаева К.К., Бекманов Б.О. Идентификация генов устойчивости мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L) к бурой ржавчине с помощью молекулярных маркеров // *Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. Сер. биол. и мед.* – 2013. – С. 213-218.
- 20 Dyck P.L., Kerber E.R. Aneuploid analysis of a gene for leaf rust resistance derived from the common wheat cultivar Terenzio // *Canadian Journal of Genetics and Cytology.* – 1981. -V. 23. – P. 405 – 409.
- 21 Manninger K. Effective resistance genes as sources of resistance against Hungarian wheat rust // *Czech J. Genet. Plant Breed.* – 2002. – Vol. 38, №3-4. – P.153–154
- 22 Liu J.Q., Kolmer J. A. Genetics of stem rust resistance in wheat cv's Pasqua and Taber // *Phytopathology.* – 1998. – V. 88. P. 171-176
- 23 Kolmer J.A. Genetics of resistance to wheat leaf rust // *Annu. Rev. Phytopathology.* – 1996. – 34(1). – P. 435-455.
- 24 Урбанович О.Ю., Малышев С.В., Долматович Т.В., Картель Н.А. Определение генов устойчивости к бурой ржавчине в сортах пшеницы с использованием молекулярных маркеров // *Генетика.* – 2006. – Т. 42, №5. – С. 675–685.

References

- 1 Belayeva I.M. (2009) Dinamika urojenya sortov ozimoi myagkoi pshenicy burou rjavchinoi I vtrati urozainosti vid patogena za riznoi vologazabezpechnosti roslin, Vip. 51. pp.111–115.
- 2 Dyck P.L., Kerber E.R.(1981) Aneuploid analysis of a gene for leaf rust resistance derived from the common wheat cultivar Terenzio. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, V. 23.pp. 405 – 409.
- 3 FAO statistical year book (2013) World food in agriculture. Rome, pp. 289
- 4 Koishybayev M. (2002) Bolezni zernovykh kultur. Almaty: Bastau, pp. 38-40.
- 5 Koishybayev M. (2016) Bolezni zernovykh kultur. "Agrarnyi sektor" №3(29)
- 6 Kovalishina G.M. (2004) Selectcia ozimoi pshenicy na stoikost protiv chorob, pp. 709 –718.
- 7 Kohmetova A.M., Sapahova P.B., Madenova A.K., Esenbekova G.T. (2014) Identifikaciya nositelei genov ustoichivosti k zholtoi Yr5, Yr10, Yr15 I buroi rjavchine Lr26, Lr34 na osnove molekularnogo skringinga obrazcov pshenicy. *Biotehnologia. Teoria I praktika*, №1, pp. 71-78 DOI: 10.11134/btp.1.2014.10
- 8 Kohmetova A.M., Sedlovski A.I., Tupina L.N., Esenbekova G.T. Identifikaciya germoplazmy pshenicy, ustoichivoi k rjavchine s ispolzovaniem geneticheskikh I molekularnykh markerov. *Bulleten Nikitskogo batanicheskogo sada*, pp. 41-45.
- 9 Kolmer J.A. (1996) Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annu. Rev. Phytopathology*, pp. 435-455.
- 10 Lisovski N.P. (2000) Stan ta perspective selekcyi na stoikost shodo zbudnikovosnovnykh chorob roslin v Ukraine, № 12, pp.70 –72.
- 11 Lagudah E.S. (2011) Molecular genetics of race non-specific rust resistance in wheat. *Euphytica*, pp. 81-91.
- 12 Liu J.Q., Kolmer J. A.(1998) Genetics of stem rust resistance in wheat cv's Pasqua and Taber. *Phytopathology*, V. 88., pp. 171-176
- 13 Markelova T.S. (2007) Immunologicheskie osnovy I metody sozdaniya ishodnogo materiala pshenicy dlya selekcyi na ustoichivost k bolezhnyam v Povoljje, pp. 44.
- 14 McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X. (2010) Catalogue of gene symbols for wheat: 2010 supplement. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene>
- 15 Manninger K. (2002) Effective resistance genes as sources of resistance against Hungarian wheat rust. *Czech J. Genet. Plant Breed*, Vol. 38, №3-4, pp.153–154
- 16 *Proizvodstvo zerna v nekotorykh stranah mira i SNG. Faktograficheskaya spravka* (1999) Nauchno – tehnichecki centr mejetroslevoi informacii, Almaty
- 17 Peresyppkin V.F., Tuterov S.L., Batalov T.S. (1991) Bolezni zernovykh kultur pri intensivnykh tehnologiakh vozdeleyvaniya, pp.272
- 18 Peresyppkin V.F (2000) Selskogospodarstvo fitopatologia, Afrarna osvita, pp. 262
- 19 Retman S.V., Shevchuk O.V. (2009) Abiotichna chimiki ta rozvitok septoriozu listia, *Karantin I zahist roslin*, №12, pp.2-3
- 20 Retman S.V. (2009) Plamistost ozimoi pshenicy v Litostepu Ukrainy I konceptualnyi osnovy zahistu, *Fitopatologia*, pp. 43
- 21 Rsaliev Sh.S., koisyybayev M.K., Morgunov A.I., Kolmer D. (2005) Analiz sostava populyacii steblovoi I listovoi rjavchiny pshenicy na territorii Kazakhstana. *Materialy mejdunarodnoi nauchno – prakticheskoi konferencii*, Almaty: Aleiron, pp. 267-272
- 22 Riede C.R. and Anderson J.A. (1996) Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat. *Crop Science*, vol. 36, pp. 905-909.
- 23 Schachermayr G., Feuillet C., Keller B. (1997) Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds. *Mol. Breed.* V. 3, pp. 65-74.
- 24 Tokubayeva A.A., Shulembayeva K.K., Bekmanov B.O. (2013) Identifikaciya genov ustoichivosti myagkoi pshenicy (*Triticum aestivum* L) k buroi rjavchine s pomoshju molekularnykh markerov. *Izvestia nacionalnoi akademii nauk RK. Seria biologiya I medicina*, pp. 213 – 218
- 25 Urbanovich O.U., Malyshev S.V., Dolmatovich T.V., Kartel N.A. (2006) Opređenje genov ustoichivosti k buroi rjavchine v sortah pshenicy s ispolzovaniem molekularnykh markerov. *Genetika*, №5, pp. 675–685.

5-бөлім
ГИДРОБИОЛОГИЯ

Section 5
HYDROBIOLOGY

Раздел 5
ГИДРОБИОЛОГИЯ

Аубакирова М.О.^{1,2,3}, Крупа Е.Г.⁴

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы,
e-mail: aubakirovamoldirkaznukz@gmail.com

²Институт зоологии, Казахстан, г. Алматы

³Научно-производственный центр рыбного хозяйства, Казахстан, г. Алматы

⁴Казахское Агентство Прикладной Экологии, Казахстан, Алматы

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ НАКОПИТЕЛЕЙ СТОЧНЫХ ВОД СИСТЕМЫ ПРАВОБЕРЕЖНОГО СОРБУЛАКСКОГО КАНАЛА

Складирование сточных вод г. Алматы в накопителях системы Правобережного Сорбулакского канала создает угрозу попадания загрязняющих веществ в естественные водоемы и подземные воды. В связи с этим актуальной прикладной задачей является мониторинг экологического состояния накопителей. Химические и биологические пробы были отобраны летом 2017 г. в водохранилище Сорбулак и двух конечных накопителей Правобережного Сорбулакского канала. Отбор и обработка химических и биологических проб были проведены стандартными методами. В период исследований накопители характеризовались низким содержанием тяжелых металлов и повышенным содержанием легко окисляющихся органических веществ. Зоопланктон был представлен 33 таксонами. Численность планктонных беспозвоночных находилась на высоком уровне и достигала 305,4–375,0 тыс. экз/м³. Величина биомассы сообществ изменялась от 2,6 г/м³ в накопителе Сорбулак до 10,4 г/м³ в накопителях Правобережного Сорбулакского канала. Согласно значениям индекса Шеннона, разнообразие зоопланктона в накопителе Сорбулак находилось на умеренном уровне, в накопителях ПСК на низком уровне. За последние десятилетия видовое богатство и количественные показатели зоопланктонных сообществ возросли. Описанные изменения структуры зоопланктона могут быть обусловлены уменьшением количества токсических веществ, на фоне роста уровня органического загрязнения обследованных накопителей. Высокие количественные показатели зоопланктонных сообществ, зарегистрированные нами, свидетельствуют об интенсивности процессов биологической очистки накопителей от поступающих загрязняющих веществ в летний период. Возможно вторичное ухудшение экологической ситуации в накопителях сточных вод поздней осенью и зимой, при отмирании короткоциклических организмов и высвобождении накопленных ими загрязняющих веществ.

Ключевые слова: накопители, зоопланктон, структура, токсические вещества, органические вещества.

Aubakirova M.O.^{1,2,3}, Krupa E.G.⁴

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty,
e-mail: aubakirovamoldirkaznukz@gmail.com

²Institute of zoology, Kazakhstan, Almaty

³Fisheries Research and Production Center

⁴The Kazakhstan Agency of Applied Ecology, Kazakhstan, Almaty

Comprehensive assessment of the ecological state of sewage ponds system Right-Bank Sorbulak Canal

The storage of Almaty sewage water in the Sorbulak sewage ponds creates the possibility of pollutants entering natural water bodies and groundwater. In this regard, the topical applied task is monitoring the ecological state of the sewage ponds. Chemical and biological samples were taken in summer 2017

at Sorbulak reservoir and two ponds of final Right-Bank Sorbulak Canal. The sampling and processing of chemical and biological samples were performed by standard methods. During the study period, the sewage ponds were characterized by a low content of heavy metals and a high content of easily oxidizable organic substances. Zooplankton was represented by 33 taxa. The abundance of plankton invertebrates was at a high level and reached 305.4-375.0 thousand ind/m³. The community biomass varied from 2.6 g / m³ in the Sorbulak reservoir to 10.4 g/m³ in ponds of the Right-Bank Sorbulak Canal. According to the values of the Shannon index, the diversity of zooplankton in the Sorbulak reservoir was at a moderate level, in the Right-Bank Sorbulak Canal – at a low level. Over the past decades, the species richness and quantitative variables of zooplankton communities have increased. The described changes in zooplankton structure may be due to a decrease amount of toxic substances and increasing levels of organic pollution. High quantitative variables of zooplankton communities show the intensity of the biological cleaning processes of sewage ponds from incoming pollutants in the summer period. A secondary deterioration of the ecological situation in sewage ponds in late autumn and winter is possible, due to the death of short-cycle organisms and the release of pollutants accumulated by them.

Key words: sewage ponds, zooplankton, structure, toxic substances, organic substances.

Аубакирова М.О.^{1,2,3}, Крупа Е.Г.⁴

¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.,
e-mail: aubakirovamdirdkaznukz@gmail.com

²Зоология институты, Қазақстан, Алматы қ.

³Балық шаруашылығы ғылыми-өндірістік орталығы, Қазақстан, Алматы қ.

⁴Қазақстан Қолданбалы Экология Агенттігі, Қазақстан, Алматы қ.

Сарқынды суларды жинақтағыш Оң Жағалаулық Сорбұлақ канал жүйесінің экологиялық жағдайын кешенді бағалау

Алматы қаласының сарқынды суларын Сорбұлақ оң жағалау каналында сақтау ластаушы заттардың табиғи сұқоймаларға және жер асты суларына түсу қаупін тудырады. Сол себепті су жинақтағыштардың экологиялық жағдайын мониторингтеу өзекті мәселе. Биологиялық және химиялық сынамалар 2017 жылдың жазында Сорбұлақ сұқоймасынан және Сорбұлақ оң жағалау каналының екі су жинақтағышынан жиналды. Химиялық және биологиялық сынамаларды жинау және өңдеуде стандартты әдістер қолданылды. Зерттеу кезеңінде су жинақтағыштар ауыр металдардың төмен құрамымен және жеңіл тотығатын органикалық заттардың жоғары құрамымен сипатталды. Зоопланктонда 33 таксон анықталды. Планктондық омыртқасыздардың саны жоғары деңгейде болды және 305,4-375,0 мың инд./м³ құрады. Қауымдастықтың биомассасының көлемі Сорбулак су қоймасында 2,6 г / м³-ден СОЖ каналында 10,4 г / м³ дейін өзгерді. Шенон индексінің мәніне сәйкес Сорбулак су қоймасындағы зоопланктонның алуан түрлілігі қалыпты деңгейде, СОЖ каналында – төмен деңгейде. Соңғы он жылда зоопланктондар қауымдастығының түрлік байлығы мен сандық көрсеткіштері артты. Зоопланктон құрылымында сипатталған өзгерістер органикалық ластану деңгейінің жоғарылығына және улы зат мөлшерінің азаюына байланысты болуы мүмкін. Зоопланктон қауымдастықтарының жоғары сандық көрсеткіштері жаз кезінде су жинақтағыштардың ластаушы заттардан биологиялық жолмен қарқынды тазаланатынын көрсетеді. Сарқынды сулардың экологиялық жағдайының екінші реттік нашарлануы қыста және күзде қысқа мерзімді организмдердің өлімі кезінде және олардың салдарынан жинақталған ластаушы заттардан тазартылуы нәтижесінде болуы мүмкін.

Түйін сөздер: су жинақтағыштар, зоопланктон, құрылым, улы заттар, органикалық заттар.

1. Введение

Утилизация и вторичное использование сточных вод является глобальной проблемой [1]. Даже после предварительной очистки сточные воды содержат большое количество разнообразных загрязняющих веществ, среди которых наибольшую опасность представляют тяжелые металлы [2, 3], пестициды [4], нефтепродукты [5, 6]. Складирование сточных вод в накопителях создает угрозу их прорыва и попадания

загрязненных сточных вод в естественные водоемы и подземные воды [7]. Несмотря на неудовлетворительное качество сточных вод, возрастающий дефицит чистой пресной воды обуславливает необходимость их вторичного использования [8]. Эта практика получает все большее распространение в различных странах [9, 10]. Особенно остро нехватка чистой пресной воды ощущается в аридных регионах [11], к которым относится большая часть территории Казахстана.

Сточные воды г. Алматы и окрестностей складываются в накопителе Сорбулак. Его наполнение находится в опасной близости от предельно допустимого уровня. В случае землетрясения или при увеличении количества атмосферных осадков может произойти прорыв заградительных дамб. Для разгрузки Сорбулака был построен Правобережный Сорбулакский Канал (ПСК), отводящий сточные воды в систему прудов-накопителей и далее в реку Или. Перед сбросом стоков в реку, предусмотрено обеззараживание воды жидким хлором [12], что, в свою очередь, представляет дополнительную серьезную угрозу речной экосистеме [2]. Вышесказанное свидетельствует о необходимости объективной оценки экологического состояния накопителей сточных вод. Поэтому целью настоящего исследования является характеристика экологического состояния накопителей сточных вод системы ПСК по химическим и биологическим показателям.

2. Материалы и Методы

Основным накопителем предварительно очищенных сточных вод г. Алматы и окрестностей является водохранилище Сорбулак (Рисунок 1). По условиям существующего рельефа наполнение водохранилища возможно до отметки 622,0 м, при максимальном объеме около 1000 млн. м³. Водохранилище имеет неправильную форму, вытянутую в долготном направлении. Максимальные глубины достигают 26,0 м. Канал сточных вод впадает в юго-восточную часть накопителя. При угрозе переполнения Сорбулака, часть сточных вод по Правобережному Сорбулакскому каналу сбрасывается в пруды (накопители ПСК), в которых происходит естественная биологическая доочистка воды. Они представляют систему мелководных водоёмов, вытянутых с запада на северо-восток. Далее сточные воды могут сбрасываться в реку Или, в 5 км ниже плотины Капшагайской ГЭС.

Исследование зоопланктона водохранилища Сорбулак и двух конечных прудов-накопителей сточных вод ПСК проведено в июле 2017 г. по сетке из 15 станций (рисунок 1). На каждой станции определяли координаты, высоту над уровнем моря, глубину, прозрачность, температуру воды, величину рН, тип грунта, зарастаемость водной растительностью. Для характеристики условий обитания планктонных животных было отобрано 15 проб для определения химического состава воды и содержания тяжелых металлов.

Использовались общепринятые методы химического анализа воды [13]. Все пробы воды анализировали в трех-четырёх повторениях. Определение содержания тяжелых металлов в воде выполнены с использованием атомно-абсорбционного спектрофотометра ААС-1 (Германия) и масс-спектрометра Agilent 7500 А (Agilent Technologies, США) (СТ РК ИСО 17294-2-2006).



Рисунок 1 – Карта – схема обследованных накопителей сточных вод системы Правобережного Сорбулакского канала

Отбор и обработка гидробиологических проб были проведены стандартными методами [14] с использованием определителей для соответствующих групп и отдельных родов [15-20].

Для характеристики структуры зоопланктона определяли общее и среднее число видов на пробу, величину средней индивидуальной массы особи (m), число доминирующих видов (по численности и биомассе). Для характеристики видового разнообразия зоопланктонных сообществ, с учетом соотношения численностей и биомасс отдельных видов, рассчитывали индекс Шеннона (по численности, бит/экз, по биомассе, бит/мг) [21].

3. Результаты и Обсуждение

В период исследований вода накопителя Сорбулак характеризовалась средней минерализацией, жесткостью и высокой окисляемостью (таблица 1). При относительно невысоком содержании нитритов, концентрации нитратов и ионов аммония находились на повышенном уровне. В накопителях ПСК вода мягкая, пресная, с повышенными концентрациями нитритов, нитратов и ионов аммония. Содержание тяжелых металлов во всех водоемах находилось на низком уровне.

Таблица 1 – Физические и химические показатели накопителей сточных вод системы Правобережного Сорбулакского канала, июль 2017 г.

Показатель	Единица измерения	Сорбулак	ПСК
Высота над уровнем моря (над у.м.)	мг/дм ³	614	618
Минерализация	мг/дм ³	1234,2±31,9	567,5±32,9
Жесткость	мг-экв/ дм ³	4,89±0,02	2,7±0,2
Глубина	м	20±0,0	5,0±0,6
Прозрачность	м	1,5±0,3	0,3±0,1
Окисляемость	мгОмг/дм ³	11,21±0,03	13,6±2,8
NO ₂	мг/дм ³	0,04±0,003	0,4±0,3
NO ₃	мг/дм ³	0,67±0,3	2,1±1,1
NH ₄	мг/дм ³	0,58±0,1	0,4±0,1
Fe	мг/дм ³	0,7±0,1	1,1±0,2
Si	мг/дм ³	2,1±0,3	8,4±0,1
Mn	мг/дм ³	0,05±0,001	0,002±0,001
Pb	мг/дм ³	0,0001±0,00001	0,0001±0,00001
Cu	мг/дм ³	0,001±0,0007	0,02±0,02
Zn	мг/дм ³	0,01±0,003	0,02±0,01
Cd	мг/дм ³	0,00001±0,0	0,00001±0,0
Ni	мг/дм ³	0,005±0,0002	0,006±0,0003
Cr	мг/дм ³	0,006±0,0003	0,006±0,0003

В составе зоопланктона накопителей было выявлено 33 таксона, из которых коловраток – 16, ветвистоусых – 9, веслоногих – 7, факультативных планктеров – 1 (таблица 2). Наибольшее видовое богатство животного планктона было зарегистрировано в накопителе Сорбулак. Фоновыми видами являлись коловратки *Asplanchna girodi*, *Hexarthra mira*, *Keratella quadrata dispersa*, *Polyarthra sp.*, *Synchaeta kitina*, ветвистоусые *Daphnia (Ctenodaphnia) magna*, *Daphnia (Daphnia) pulex*, *Bosmina (Bosmina) longirostris*, веслоногие *Acanthocyclops trajani*, *Cyclops vicinus*, *Cyclops scutifer*. Сравнительно часто встречались коловратка *Brachionus calyciflorus dorcax* и ветвистоусый рачок *Diaphanosoma mongolianum*. Зоопланктон накопителя ПСК был представлен 14 таксонами. Фоновыми видами являлись коловратки *Hexarthra mira*, *Keratella quadrata dispersa*, ветвистоусые

Chydorus sphaericus, *Daphnia (Ctenodaphnia) magna*, *Daphnia (Daphnia) pulex*, и веслоногие *Acanthocyclops trajani*, *Sinodiaptomus sarsi*. На отдельных участках часто встречалась коловратка *Keratella quadrata dispersa*.

Численность зоопланктона обследованных накопителей находилась на высоком уровне (таблица 3). В Сорбулаке по численности доминировали коловратки (57%), субдоминировали веслоногие (33%). Состав доминирующих видов был представлен коловратками *S. kitina* (17%), *H. mira* (15%), *Polyarthra sp.* (12%) и циклопом *A. trajani* (30%). По биомассе доминировали кладоцеры (87%) с абсолютным лидером *D. (Daphnia) pulex* (72%). Основу численности планктонного зооценоза накопителя ПСК формировали веслоногие с абсолютным лидером *A. trajani* (79%). За счет крупных дафний *D. (C.) magna* биомасса зоопланктона этих мелководных прудов была более чем в 3 раза выше, чем в Сорбулаке.

Таблица 2 – Таксономический состав и частота встречаемости планктонных беспозвоночных накопителей сточных вод системы Правобережного Сорбулакского канала, июль 2017 г.

Название таксона	Частота встречаемости, %	
	Сорбулак	ПСК
Rotifera-Коловратки		
<i>Bdelloida</i> gen.sp.	20	0
Notommatidae gen.sp.	10	0
<i>Synchaeta kitina</i> (Roussel.)	90	0
<i>Synchaeta stylata</i> (Wierzejski)	30	0
<i>Polyarthra</i> sp.	100	40
<i>Asplanchna girodi</i> (Guerne)	100	0
<i>Lecane (s.str.) luna</i> (Muller)	10	0
<i>Euchlanis dilatata</i> (Ehrenberg)	20	0
<i>Brachionus calyciflorus dorcas</i> Gosse	10	0
<i>Brachionus angularis</i> (Gosse)	0	20
<i>Brachionus calyciflorus dorcas</i> Gosse f. <i>spinosus</i>	50	20
<i>Brachionus plicatilis longicornis</i> (Fadeev)	10	0
<i>Brachionus variabilis</i> (Hempel)	10	0
<i>Keratella quadrata dispersa</i> Carlin	100	60
<i>Hexarthra mira</i> (Hudson)	100	80
<i>Pompholyx sulcata</i> (Hudson)	20	0
Cladocera – Ветвистоусые		
<i>Alona quadrangularis</i> (O.F. Muller)	20	0
<i>Alona rectangula</i> (Sars)	30	0
<i>Bosmina (Bosmina) longirostris</i> (O.F. Muller)	90	20
<i>Ceriodaphnia pulchella</i> (Sars)	30	0
<i>Chydorus sphaericus</i> (O.F. Muller)	90	100
<i>Daphnia (Daphnia) galeata</i> (G.O. Sars)	70	20
<i>Daphnia (Ctenodaphnia) magna</i> (Straus)	100	100
<i>Daphnia (Daphnia) pulex</i> (De Geer)	100	100
<i>Diaphanosoma mongolianum</i> (Veno)	60	0
Соперода – Веслоногие		
<i>Acanthocyclops trajani</i> (Mirabdullayev et Defaye)	100	100
Cyclopoida gen.sp.	10	0
<i>Cyclops scutifer</i> (Sars)	80	0
<i>Cyclops vicinus</i> (Uljanin)	100	20
<i>Leydigia leydigii</i> (Schoedler)	20	0
<i>Limnocletodes behningi</i> (Borutzky)	10	0
<i>Sinodiaptomus sarsi</i> (Rylov)	0	100
Факультативные планктеры		
Ostracoda gen.sp.	20	20
Всего	31	14

Таблица 3 – Структурные показатели накопителей сточных вод системы Правобережного Сорбулакского канала, июль 2017 г.

Показатель	Единица измерения	Сорбулак	ПСК
Численность	(экз/м ³)	305,4±91,8	375,0±108,6
Биомасса	(г/м ³)	2,6±0,6	10,4±0,0
Индекс Шеннона-Уивера	бит/экз	2,48±0,6	1,24±0,1
Индекс Шеннона-Уивера	бит/мг	1,77±0,3	1,17±0,2
Средняя индивидуальная масса	мг/особь	0,02±0,01	0,03±0,01

Согласно, значениям индекса Шеннона [22], разнообразие зоопланктона накопителя Сорбулак находилось на умеренном уровне (таблица 3). Распределение видов по биомассе было менее равномерным, за счет выраженного доминирования крупных видов ракообразных. Разнообразие зоопланктонных сообществ накопителей ПСК было более низким, чем в Сорбулаке. Крупно-размерный состав зоопланктона обследованных накопителей отражали значения средней индивидуальной массы особи, равные 0,02-0,03 мг.

Таким образом, в период наших исследований 2017 г. накопители сточных вод характеризовались низким содержанием тяжелых металлов и повышенным содержанием легко окисляемых органических веществ. Сравнение с литературными данными [2, 23] показало, что за последние 15 лет уровень токсического загрязнения накопителей существенно снизился, а количество органических веществ, напротив, возросло.

Видовой состав зоопланктона водохранилища Сорбулак существенно изменился за последние десятилетия [2, 23]. Появились новые представители планктонных беспозвоночных, которые ранее [2, 23] здесь не обитали. Это коловратки *Brachionus calyciflorus dorcas*, *B. angularis*, *B. variabilis*, *Euchlanis dilatata*, *Keratella quadrata dispersa*, *Lecane (s.str.) luna*, *Pompholyx sulcata*, *Synchaeta kitina*, *S. stylata*, ветвистоусые *Alona quadrangularis*, *A. rectangula*, *Ceriodaphnia pulchella*, *Diaphanosoma mongolianum*. Изменение видового состава животного планктона накопителей ПСК было менее выражено. В них появились всего два новых вида коловраток *B. calyciflorus dorcas*, *Hexarthra mira* и один вид ветвистоусых *Bosmina (Bosmina) longirostris*.

В период наших исследований численность планктонных беспозвоночных накопителей находилась на высоком уровне, что характерно и для других водоемов с высоким содержи-

ем органических веществ [24, 25]. Сравнение с известными ранее данными [2, 23] показало, что за последние десятилетия численность зоопланктона накопителей увеличилось более чем в два раза, а биомасса в накопителях ПСК возросла в среднем в десять раз. В накопителе Сорбулак изменился состав доминирующих видов. В предыдущий период исследований [2, 23], доминантный комплекс включал коловраток *Polyarthra sp.*, *Keratella quadrata*, ветвистоусых *Daphnia galeata*, *D. longispina*, *D. pulex*, *Bosmina longirostris* и веслоногих *Acanthocyclops trajani*, *Cyclops vicinus*. Летом 2017 г. из доминантов прошлых лет сохранился лишь циклоп *Acanthocyclops trajani*, который является характерным компонентом планктона загрязненных водоемов Казахстана [26]. Помимо циклопа, доминирующее положение в сообществе накопителей занимали коловратки *Synchaeta kitina*, *Hexarthra mira*, *Polyarthra sp.* и ветвистоусый рачок *Daphnia (Daphnia) pulex*. Следует отметить, что летом 2017 г. в популяциях циклопов не были обнаружены особи с морфологическими отклонениями, которые постоянно присутствовали ранее [27, 28]. Это свидетельствует о снижении уровня токсического загрязнения накопителей в настоящее время, что подтверждается данными химического анализа.

Изменения структуры зоопланктонных сообществ отражала динамика значений индекса Шеннона. По сравнению с данными прошлых лет [2, 23], в накопителе Сорбулак значения индекса видового разнообразия значительно возросли, а в накопителях ПСК, напротив, снизились. Подобные значения индекса Шеннона и средней индивидуальной массы были отмечены в Шардаринском водохранилище при усилении уровня органического загрязнения в осенний период [29].

Описанные изменения структуры зоопланктонных сообществ связаны с уменьшением

количества токсических веществ, поступающих в накопители. Повышение количества органических веществ на фоне снижения уровня токсического загрязнения стимулирует рост количественных показателей зоопланктонных сообществ и способствует интенсификации процессов самоочищения водоемов [29 – 32].

Заключение, выводы

Летом 2017 г. накопители сточных вод характеризовались низким содержанием тяжелых металлов и повышенным содержанием легко окисляющихся органических веществ. Зоопланктон накопителей был представлен 33 таксонами. Повсеместно встречались 6 видов планктонных беспозвоночных – коловратки *H. mira*, *K. quadrata dispersa*, ветвистоусые *Ch. sphaericus*, *D. (Ctenodaphnia) magna*, *D. (Daphnia) pulex* и циклоп *A. trajani*. Численность планктонных беспозвоночных находилась на высоком уровне и достигала 305,4-375,0 тыс. экз/м³. Величина биомассы сообщества

изменялась в среднем от 2,6 г/м³ до 10,4 г/м³. Разнообразие планктонного зооценоза в водохранилище Сорбулак находилось на умеренном уровне, в накопителях ПСК на низком уровне. Сравнительный анализ выявил тенденцию увеличения видового богатства и количественных показателей зоопланктона за последние десятилетия. Структура зоопланктонных сообществ и данные химического анализа свидетельствовали об удовлетворительном экологическом состоянии накопителей сточных вод в период наших исследований.

Источник финансирования

Работа частично выполнена в рамках реализации грантового проекта 1846/ГФ 4 «Разработка методов контроля экологического состояния водоемов Казахстана» (2015-2017 гг.).

Конфликт интересов

Авторы не имеют конфликта интересов.

Литература

- 1 Drechsel P., Evans A.E.V. Wastewater use in irrigated agriculture // Irrig. Drainage Syst. – 2010. -Vol. 24. – P. 1–3.
- 2 Крупа Е.Г., Амиргалиев Н.А., Шаповалов В. Характеристика гидроценоза накопителя Сорбулак по токсикологическим и биологическим показателям // Тезисы докл. Всероссийской конференции «Современные проблемы водной токсикологии». – Борок, 2002. – С. 166-167.
- 3 Begum A. M., Ramaiah H., Khan I., Veena K. Heavy metal pollution and chemical profile of Cauvery River water // E-Journal of Chemistry. – 2009. -Vol. 6, No 1. – P. 47–52.
- 4 Berenzen N., Hümmer S., Liess M., Schulz R. Pesticide Peak Discharge from Wastewater Treatment Plants into Streams During the Main Period of Insecticide Application: Ecotoxicological Evaluation in Comparison to Run off // Bull. Environ. Contam. Toxicol. – 2003. – Vol. 70. – P. 891–897.
- 5 Velikovic V.B., Stamenkovic O.S., Tasic M.B. The wastewater treatment in the biodiesel production with alkali-catalyzed transesterification // Renew. Sust. Energ. Rev. – 2014. -Vol. 32. – P. 40–60.
- 6 Daud N.M., Sheikh Abdullah S.R., Abu Hasan H., Yaakob Z. Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: a review // Process Saf. Environ. Prot. – 2015. – Vol. 94. – P. 487–508.
- 7 Samuel M, Wondimu T, Dams R, Moens L. Pollution status of Tinisu Akaki River and its tributaries (Ethiopia) evaluated using physic-chemical parameters, major ions and nutrients // Bull.Chem. Soc. Ethiop. –2007. -Vol. 21. -P. 13–22.
- 8 Ganoulis J. Risk analysis of wastewater reuse in agriculture // Int. J. Recycl. Organ Waste Agric. –2012. -Vol.1. -P. 1–9
- 9 Murtaza G, Ghafoor A, Qadir M, Owens G, Aziz M.A., Zia Saifullah M.H. Disposal and use of sewage on agricultural lands in Pakistan: a review // Pedosphere. – 2010. -Vol. 20. -P. 23–34.
- 10 Al-Omari A, Al-Quraan S, Al-Salihi A, Abdulla F. A water management support system for Amman Zarqa Basin in Jordan // Water Resour. Manag. – 2009. -Vol. 23, №15. -P. 3165–3189.
- 11 Jalali M., Merikhpour H., Kaledhonkar M.J., Seatm V.D.Z. Nickel in a tropical soil treated with sewage sludge and cropped with maize in a long-term field study // Agric. Water Manag. – 2007. -Vol. 95. -P. 143–153.
- 12 Рыскулбекова Л.М. Современное состояние по мониторингу окружающей среды на объектах водоотведения сточных вод города Алматы // Изв. НАН РК сер. геолог. – 2010. – №2. – С. 70-75.
- 13 Семенова А. Д. (ред.). Руководство по химическому анализу поверхностных вод. – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – 541 с.
- 14 Винберг Г. Г., Лаврентьева Г. М. (под ред.). Зоопланктон и его продукция. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. – Л.: ГосНИОРХ, 1984. – 33 с.
- 15 Мануйлова Е.Ф. Ветвистоусые рачки фауны СССР. – М., Л.: Наука, 1964. – 328 с.
- 16 Боруцкий Е.В., Степанова Л.А., Кос М.С. Определитель Calanoida пресных вод. – СПб.: Наука, 1991. – 504 с.
- 17 Кутикова Л.А. Коловратки фауны СССР. – Л., 1970. – 744 с.

- 18 Рылов В.М. Фауна СССР. Ракообразные. Cyclozoidea пресных вод. – Т. 3. – Вып. 3. – М., Л.: АН СССР, 1948. – 320 с.
- 19 Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. – С-Пб: Наука, 1995. – 628 с.
- 20 Orlova-Bienkowska M.Y. Cladocera: Anomopoda. Daphniidae: genus Simocephalus. – Leiden: Backhuys Publishers, 2001. – 130 с.
- 21 Мэггаран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. – М.: Мир, 1998. – 184 с.
- 22 Андроникова И.Н. Структурно-функциональная организация зоопланктона озерных экосистем разных трофических типов. – СПб.: Наука, 1996. – 189 с.
- 23 Крупа Е.Г., Стуге Т.С., Фаломеева А.П., Трошина Т.Т., Киселева В.А. Структурные характеристики зоопланктона накопителей сточных вод // Мат-лы Всероссийской конференции по водной токсикологии «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы». – Борок, 2008. – Ч. 2. – С. 262-264.
- 24 Gagneten A. M., Paggi J. C. Effects of Heavy Metal Contamination (Cr, Cu, Pb, Cd) and Eutrophication on Zooplankton in the Lower Basin of the Salado River (Argentina) // *Water Air Soil Pollut.* –2009. -Vol. 198. -P. 317–334.
- 25 Qin B.Q., Gao G., Zhu G., Zhang Y., Song Y., Tang X., Xu H., Deng J. Lake eutrophication and its ecosystem response // *Chinese Science Bulletin.* – 2013. -Vol. 9. -P. 961–970.
- 26 Крупа Е.Г., Айнабаева Н.С., Аубакирова М.О. Методические рекомендации (методическое руководство) для оценки экологического состояния водоемов по биологическим и химическим показателям. – Алматы: МПК Кристалл, 2017. – 18 с.
- 27 Крупа, E.G., On the Morphological Deviations of *Acanthocyclops americanus* Marsh and *Cyclops Vicinus uljanin* (Crustacea, Copepoda) from the Polluted Water Bodies of Almaty Region (Southeastern Kazakhstan) // *Russian J. of Aquatic Ecology.* – 1998. No 7. – P. 11–16.
- 28 Krupa E.G. A Comparative Analysis of some Crustacean species inhabited polluted waterbodies // 8th International Conf. of Copepoda. – Keelung, 2002. – P. 86–90.
- 29 Krupa E.G. Structural Characteristics of Zooplankton of the Shardarinskoe Reservoir and Their Use in Water Quality Assessment // *Water Resources.* – 2007. – Vol. 34, No 6, – P. 712–717.
- 30 Ochocka A., Paształeniec A. Sensitivity of plankton indices to lake trophic conditions // *Environ. Monit. Assess.* – 2016. – Vol. 188, No 622. – P.1-16.
- 31 Adamczuk M., Mieczan T., Tarkowska-Kukuryk M., Demetraki-Paleolog A. Rotatoria–Cladocera–Copepoda relations in the long-term monitoring of water quality in lakes with trophic variation (E. Poland) // *Environ. Earth Sci.* – 2015. -Vol. 73. – P.8189–8196.
- 32 Salem Z., Drira Z., Ayadi H. What factors drive the variations of phytoplankton, ciliate and mesozooplankton communities in the polluted southern coast of Sfax, Tunisia? // *Environ. Sci. Pollut. Res.* –2015. – Vol. 22. -P. 11764–11780.

References

- 1 Adamczuk M., Mieczan T., Tarkowska-Kukuryk M., Demetraki-Paleolog A. (2015) Rotatoria–Cladocera–Copepoda relations in the long-term monitoring of water quality in lakes with trophic variation (E. Poland). *Environ. Earth Sci.* vol. 73, pp. 8189–8196.
- 2 Al-Omari A, Al-Quraan S, Al-Salihi A, Abdulla F. (2009) A water management support system for Amman Zarqa Basin in Jordan. *Water Resour. Manag.*, vol. 23, no 15, pp. 3165–3189.
- 3 Andronikova I.N. Strukturno-funktsionalnaya organizatsiya zooplanktona ozernykh ekosistem raznykh troficheskikh tipov [Structural and functional organization of zooplankton of lake ecosystems of different trophic types]. – СПб.: Nauka, 1996. – 189 s.
- 4 Begum, A. M., Ramaiah, H., Khan, I., Veena, K. (2009) Heavy metal pollution and chemical profile of Cauvery River water. *E-Journal of Chemistry*, vol. 6, no 1, pp. 47–52.
- 5 Berenzen N., Hummer S., Liess M., Schulz R. (2003) Pesticide Peak Discharge from Wastewater Treatment Plants into Streams During the Main Period of Insecticide Application: Ecotoxicological Evaluation in Comparison to Run off. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 70. pp. 891–897.
- 6 Borutskiy E.V., Stepanova L.A., Kos M.S. Opredelitel Calanoida presnykh vod [Freshwater Calanoida identification key]. – СПб.: Nauka, 1991. – 504 s.
- 7 Drechsel P., Evans A.E.V. (2010) Wastewater use in irrigated agriculture. *Irrig. Drainage Syst.*, vol. 24, pp. 1–3.
- 8 Daud N.M., Sheikh Abdullah S.R., Abu Hasan H, Yaakob Z. (2015) Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: a review. *Process Saf Environ Prot.*, vol. 94, pp. 487–508.
- 9 Gagneten A. M., Paggi J. C. (2009) Effects of Heavy Metal Contamination (Cr, Cu, Pb, Cd) and Eutrophication on Zooplankton in the Lower Basin of the Salado River (Argentina) // *Water Air Soil Pollut.*, vol. 198, pp. 317–334.
- 10 Ganoulis J. (2012) Risk analysis of wastewater reuse in agriculture. *Int. J. Recycl. Organ Waste Agric.*, vol.1, pp. 1–9.
- 11 Jalali M., Merikhpour H., Kaledhonkar M.J., Seetm V.D.Z. (2007) Nickel in a tropical soil treated with sewage sludge and cropped with maize in a long-term field study. *Agric Water Manag.*, vol. 95, pp. 143–153.
- 12 Krupa E.G., Amiraliev N.A., Shapovalov V. (2002) Harakteristika gidrotsenoza nakopatelya Sorbulak po toksikologicheskim i biologicheskim pokazatelyam [Characteristics of the hydrocenothesis of Sorbulak accumulator by toxicological and biological indicators] // Tezisy dokl. Vserossiyskoy konf. «Sovremennyye problemy vodnoy toksikologii», pp. 166-167.
- 13 Krupa E.G., Stuge T.S., Falomeeva A.P., Troshina T.T., Kiseleva V.A. (2008) Strukturnyye harakteristiki zooplanktona nakopiteley stochnykh vod [Structural characteristics of zooplankton wastewater storage] // Mat-lyi Vserossiyskoy konf. po vodnoy toksikologii «Антропогенное влияние на водные организмы i ekosistemyi», vol. 2, pp. 262-264.

- 14 Krupa, E.G., (1998) On the Morphological Deviations of *Acanthocyclops americanus* Marsh and *Cyclops Vicinus* uljanin (Crustacea, Copepoda) from the Polluted Water Bodies of Almaty Region (Southeastern Kazakhstan). *Russian J. of Aquatic Ecology*, no 7, pp. 11–16.
- 15 Krupa E.G. (2002) A Comparative Analysis of some Crustacean species inhabited polluted waterbodies // 8th International Conf. of Copepoda, pp 86–89.
- 16 Krupa E.G. (2007) Structural Characteristics of Zooplankton of the Shardarinskoe Reservoir and Their Use in Water Quality Assessment. *Water Resources*, vol. 34, no 6, pp. 712–717.
- 17 Krupa E.G., Aynabaeva N.S., Aubakirova M.O (2017) Metodicheskie rekomendatsii (metodicheskoe rukovodstvo) dlya otsenki ekologicheskogo sostoyaniya vodoemov po biologicheskim i himicheskim pokazatelyam [Methodical recommendations (methodical manual) for an assessment of an ecological condition of reservoirs on biological and chemical indicators. – P18.
- 18 Kutikova L.A. (1970) Kolovratki faunyi SSSR [Rotifers of the USSR fauna] – P 744.
- 19 Manuylova E.F. (1970) Vetvistousyie rachki faunyi SSSR [Crustaceans of the USSR fauna]. – P 328.
- 20 Murtaza G, Ghafoor A, Qadir M, Owens G, Aziz M.A., Zia Saifullah M.H. (2010) Disposal and use of sewage on agricultural lands in Pakistan: a review. *Pedosphere*, vol. 20, pp. 23–34.
- 21 Megarran E. (1998) Ekologicheskoe raznoobrazie i ego izmerenie [Ecological diversity and its measurement]. – P 184.
- 22 Opredelitel presnovodnykh bespozvonochnykh Rossii i sopredelnykh territoriy (1995)[Key to freshwater invertebrates in Russia and adjacent territories]. – P 628.
- 23 Orlova-Bienkowskaja M.Y. (2001) Cladocera: Anomopoda. Daphniidae: genus *Simocephalus*. – P130.
- 24 Ochocka A., Pasztaleniec A. (2016) Sensitivity of plankton indices to lake trophic conditions. *Environ. Monit. Assess.* vol. 188, no 622. pp.1-16.
- 25 Qin B.Q., Gao G., Zhu G., Zhang Y., Song Y., Tang X., Xu H., Deng J. (2013) Lake eutrophication and its ecosystem response. *Chinese Science Bulletin*, vol. 9, pp. 961–970.
- 26 Ryilov V.M. Fauna SSSR. Rakoobraznyie. Cyclopoida presnykh vod. – T. 3. – Vyip. 3. – M., L.: AN SSSR, 1948. – 320
- 27 Ryiskulbekova L.M. (2010) Sovremennoe sostoyanie po monitoringu okruzhayushey sredy na obektakh vodootvedeniya stochnykh vod goroda Almaty [The current state of environmental monitoring on the objects of wastewater disposal in Almaty]. *Izv. NAN RK ser. geolog.*, no 2, pp. 70-75.
- 28 Salem Z., Drira Z., Ayadi H. (2015) What factors drive the variations of phytoplankton, ciliate and mesozooplankton communities in the polluted southern coast of Sfax, Tunisia?. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 22, pp. 11764–11780.
- 29 Samuel M, Wondimu T, Dams R, Moens L. (2007) Pollution status of Tinshu Akaki River and its tributaries (Ethiopia) evaluated using physic-chemical parameters, major ions and nutrients. *Bull.Chem. Soc. Ethiop.*, vol. 21, pp. 13–22.
- 30 Semenova, A. D. (Ed.) (1977) *Rukovodstvo po himicheskomu analizu poverhnostnykh vod* [Guideline for chemical analysis of surface water]. – P 541.
- 31 Velikovic V.B., Stamenkovic O.S., Tasic M.B. (2014) The wastewater treatment in the biodiesel production with alkali-catalyzed transesterification. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, vol. 32, pp. 40–60.
- 32 Vinberg G. G., Lavrenteva G. M. (pod red.). (1984) *Zooplankton i ego produktsiya. Metodicheskie rekomendatsii po sboru i obrabotke materialov pri gidrobiologicheskikh issledovaniyakh na presnovodnykh vodoemakh* [Zooplankton and its products. Guidelines for the collection and processing of materials in hydrobiological studies on freshwater bodies]. – P 33.

6-бөлім
ЗООЛОГИЯ

Section 6
ZOOLOGY

Раздел 6
ЗООЛОГИЯ

Тарасовская Н.Е., Жумадилов Б.З.

Павлодарский государственный педагогический университет,
Казахстан, г. Павлодар, e-mail: zhumadilov_bulat@mail.ru

**ДИНАМИКА ЗАРАЖЕННОСТИ
ОСТРОМОРДОЙ ЛЯГУШКИ НЕМАТОДОЙ
OSWALDOCRUZIA FILIFORMIS
В ПОЙМЕННЫХ БИОТОПАХ Р. ИРТЫШ**

Нематода *Oswaldocruzia filiformis*, паразитирующая у широкого круга наземных холоднокровных позвоночных, развивается с облигатными личиночными стадиями во внешней среде, нуждающимися в травянистой растительности, в этой связи может стать индикатором состояния околоводных биотопов и растительного покрова.

В бесснежный период 2005-2017 гг. в припойменных биотопах Павлодарской области было отловлено и подвергнуто гельминтологическому вскрытию 2084 экз. остромордой лягушки. Материал за 1984-1987 гг. включал 593 экз. остромордой лягушки.

Во все годы исследования *O.filiformis* у остромордой лягушки давала по два подъема показателей зараженности в бесснежный период, соответствующий двум генерациям нематоды. Снижение индекса обилия *O.filiformis* в середине лета, связанное с выходом сеголеток, было слабо выражено в те годы, когда было нарушено размножение лягушек.

Среднегодовой уровень интенсивности инвазии и индекса обилия *O.filiformis* достигал максимума в 2006 г. Затем показатели численности существенно снизились в 2009-2010 г., и после небольшого подъема в бесснежный период 2011 года в дальнейшем флуктуировали на сравнительно невысоком уровне. Минимум этих показателей пришелся на 2014 год (с ранним и кратковременным паводком). Затем интенсивность инвазии и индекс обилия испытали небольшой подъем в 2015-2016 гг., и еще немного увеличились в 2017 г. (на фоне значительных летних техногенных попусков).

Ключевые слова: остромордая лягушка, нематода *Oswaldocruzia filiformis*, сезонная динамика показателей зараженности, пойма, режим реки

Tarasovskaya N.E., Zhumadilov B.Z.

Pavlodar State Pedagogical University,
Kazakhstan, Pavlodar, e-mail: zhumadilov_bulat@mail.ru

**Seasonal and age dynamics of infection indicators
of moor frog by nematodes *Oswaldocruzia filiformis* in flood landscapes
in the connection of Irtysch river hydrological regime**

Nematode *Oswaldocruzia filiformis* occurring in wide circle of cold-blooded tetrapods develops with obligate larval stages in environment, needing grass plants, and in this connection this parasite may be the indicator of near-water areas and plant cover.

During snowless period of 2005-2017 years in flood-plain landscapes of Irtysch river in Pavlodar region 2084 exemplars of moor frog were caught and subjected to helminthological autopsy. Material from 1984-1987 years included 593 exemplars of moor frog.

Every observed year *O.filiformis* nematode in moor frog gave two rising of infection indicators in the snowless period corresponding to 2 generations of nematodes. Decreasing of abundance index (medium nematodes quantity in every infected host) in the middle of summer connecting with the metamorphose of young frogs was lightly expressed in the years when the frogs' reproduction was disturbed.

Average year level of infection intensity and abundance index of *O. filiformis* reach maximal means in 2006. Then quantity indexes was perceptibly decreased in 2009–2010 years and after small increasing in the snowless period of 2011 subsequently fluctuated on comparatively low level. Minimum of infection indicators fell on 2014 year (with early and short-time spring floods). Then the infection intensity and abundance index had the small peak in 2015–2016 years and lightly increased in 2017 (in the conditions of high summer technically caused floods).

Key words: moor frog, nematode *Oswaldocruzia filiformis*, body size, seasonal dynamics of infection indicators, flood plain, regime of river

Тарасовская Н.Е., Жумадилов Б.З.

Павлодар мемлекеттік педагогикалық университеті,
Қазақстан, Павлодар қ., e-mail: zhumadilov_bulat@mail.ru

Ертіс өзенің гидрологиялық режимімен байланыста *Oswaldocruzia filiformis* жұмырқұрттарының сүйіртүмсық бақаның жайылма алқабының аймақтарында маусым мен жылды залалдануы көрсеткіштерінің динамикасы

Oswaldocruzia filiformis жұмырқұрттар, жер бетіндегі суықтай қанды омыртқалардың кең ауқымында паразиттік, сыртқы ортада міндетті дәрнесіл саттармен дамиды, шөп өсімдіктерін қажет етеді, осыған байланысты су маңындағы биотоптар мен өсімдік жамылғыларының жағдайының индикаторы болуы мүмкін.

2005–2017 жж. қарсыз кезеңінде Павлодар облысының дәнекер биотоптарында 2084 дана сүйіртүмсық бақа ауланып, гельминтологиялық ашылуға ұшырады. 1984–1987 жж. материал 593 бақа данадан тұрды.

O. filiformis зерттеуінің барлық жылдарында өткір бақаларда жұмырқұрттарының екі генерациясына сәйкес қарсыз кезеңде жұқтыру көрсеткіштерін екі көтеруден берді. Жаздың ортасында *O. filiformis* көптігі индексінің төмендеуі, бірінші жылды бақалардың шығуымен байланысты, бақалардың көбеюі бұзылған жылдары нашар байқалды.

Содан кейін сан көрсеткіштері 2009–2010 ж. айтарлықтай төмендеді және 2011 жылғы қарсыз кезеңде аздап көтерілгеннен кейін одан әрі салыстырмалы төмен деңгейде тербелет. Бұл көрсеткіштердің минимумы 2014 жылға келді (ерте және қысқа мерзімді су тасқыны). Содан кейін инвазия қарқындылығы мен молшылық индексі 2015–2016 жж. аздаған көтерілісті бастан кешірді және 2017 жылы біршама өсті (елеулі жазғы техногенді су жіберу аясында).

Түйін сөздер: сүйіртүмсық бақа, *Oswaldocruzia filiformis* жұмырқұрттары, залалдануы көрсеткіштерінің маусымдық динамикасы, жайылма алқап, өзен режимі

Введение

В качестве основных биоиндикаторов состояния поймы, в том числе режима реки, можно назвать покров травянистой растительности и фоновые, широко распространенные виды организмов. Гидрологический режим оказывает первоочередное влияние на количественный и качественный состав растительных сообществ, а также на организмы, которые напрямую зависят от растительного покрова. К таким организмам можно отнести паразитических нематод семейства *Trichostrongylidae*, у которых свободноживущая личинка дважды линяет во внешней среде, а для инвазии хозяина поднимается вверх по травянистым растениям. Стронгиляты наземных холоднокровных позвоночных (особенно космополитически распространенная *Oswaldocruzia filiformis*) являются не только индикаторами состояния растительного покрова, но и гельминтологической безопасности пастбищ в отношении трихостронгилид копытных животных,

имеющих такие же экологические требования и жизненный цикл. Эта нематода встречается у 12 видов амфибий [1] и 13 видов рептилий [2], и, несомненно, ее экологические особенности в разных регионах и у разных видов хозяев будут иметь определенные различия.

Находки *O. filiformis* на территории бывших советских республик и в Средней и Восточной Европе зафиксированы в Чехии у 14 видов амфибий (Prokopič, Křivanec [3]), травяной лягушки и 3 видов рептилий (Moravec, Vojtkova [4]), В.Н. Курановой [5] у остромордой лягушки в пойме Средней Оби, В.А. Однокурцевым и В.Т. Седалищевым [6] в Якутии у сибирской, остромордой и дальневосточной лягушек, В.И. Борисовой [7] у прудовой и остромордой лягушек, М.А. Кудиновой с соавт. [8] у травяной лягушки, К.Ф. Носовой с соавт. [9] у прудовой лягушки, Т.М. Будаловой с соавт. [10] у озерной и прудовой лягушек в Горьковской (ныне Нижегородской) области, М.В. Резванцевой [11, 12, 13] у озерной лягушки в окрестностях Тамбова,

W.Hendrix [14] у обыкновенной жабы в Нидерландах, С.Griffin [15] у травяной лягушки в Ирландии.

Экологические особенности *O.filiformis* ранее исследовались в Западной Европе и России [16, 17, 10, 8, 9, 4, 18, 14]. В Северной Америке были изучены биологические особенности другого вида – *O.pipiens* от лягушек *Rana sylvatica* [19].

Работ по морфологии половозрелых гельминтов были единицы. F. Moravec и L. Vojtkova [4] в Чехии изучили морфологию *O.filiformis* от разных видов хозяев на количественном и качественном уровне и провели ревизию европейских видов рода *Oswaldocruzia*. К.М. Рыжиков с соавт. в своей монографии по гельминтам амфибий [1] приводят данные по размерам освальдокруций от травяной лягушки с Украины.

В Казахстане Т.Н. Соболева [20] в середине 70-х гг. констатировала наличие *O.filiformis* у озерной и травяной лягушек в западных и южных районах республики. В Павлодарской области В.Г. Ваккер [21] обнаружил этот вид у прыткой ящерицы, В.Г. Ваккер и Н.Е. Тарасовская [22, 23], Н.Е. Тарасовская [24] – у остромордой лягушки в пойменных ландшафтах, степных озерах, различных биотопах Казахского Мелкосопочника и водоемах антропогенного происхождения в окрестностях г. Павлодара.

Данные по сезонной динамике численности и отдельным экологическим особенностям *O.filiformis* от остромордой лягушки были получены в конце 80-х гг. В.Г. Ваккером и Н.Е. Тарасовской [25]. Мы располагали данными по гельминтам остромордой лягушки из припойменных биотопов р. Иртыш в Павлодарской области за 13 лет, с 2005 по 2017 гг., причем ежегодно производились ежемесячные отловы амфибий (по 100-200 экз. за бесснежный период) с измерением сотен экземпляров нематод и подсчетом количественных показателей зараженности хозяев.

Материал и методика

В бесснежный период 2005-2012 гг. в нескольких биотопах Павлодарской области было отловлено 1241 экз. остромордой лягушки, в том числе в 2005 г. – 170, 2006 г. – 250, 2007 г. – 200, 2008 г. – 152, 2009 г. – 201, 2010 г. – 116, 2011 г. – 142 экз., в 2012 г. – 136 экз., 2013 г. – 86, 2014 г. – 92, 2015 г. – 224, 2016 г. – 152, 2017 г. – 163 экз. Базовым биотопом, в которой проводились ежемесячные исследования, была пойма р. Усолка – небольшого правобережного притока

р. Иртыш, протекающего в пределах ее поймы. В отдельные годы эпизодические отловы лягушек проводились в водоемах не пойменного происхождения.

Кроме того, мы сопоставляли данные по сезонной и годовой динамике зараженности лягушек *O.filiformis* за последние 13 лет с данными за 80-е годы, ранее полученные автором и опубликованные (или депонированные) [24, 25].

Материал за 1984-1987 гг. был собран в пойме р. Усолка (припойменный биотоп р. Иртыш), в таком же припойменном ландшафте, и включал результаты полных гельминтологических вскрытий остромордой лягушки общей численностью 593 экз. Сборы проводились в течение бесснежного периода ежемесячно, с интервалом в 20-30 дней; всего за каждый летний сезон было сделано 4-6 выборки.

Добытых амфибий подвергали полному гельминтологическому вскрытию по общепринятым методикам [26]. При установлении видового статуса гельминтов мы придерживались систематики и определительных ключей, изложенных в монографии К.М. Рыжикова с соавт. [1].

Из показателей зараженности лягушек гельминтами использовали экстенсивность инвазии (доля зараженных особей в определенный год или сезон), индекс обилия (среднее число гельминтов на одного хозяина данной выборки – показатель, используемый В.Н. Беклемишевым [27]) и интенсивность инвазии (среднее число гельминтов на одного зараженного хозяина). Количественные данные обрабатывали статистическими методами [28].

Данные по растительному покрову поймы р. Иртыш были отчасти получены путем собственных полевых наблюдений, а также взяты в материалах региональной статистической отчетности и ранее опубликованных эколого-географических исследованиях региона.

Результаты и их обсуждение.

Сезонная динамика показателей зараженности по данным за 80-е гг. (Ваккер, Тарасовская [25]).

Сопоставление сезонной динамики показателей зараженности остромордой лягушки нематодой *O.filiformis* за разные годы свидетельствует о том, что распространение гельминта происходит практически в течение всего бесснежного периода. Но все же наиболее интенсивное заражение лягушек происходит весной, после выхода из состояния зимнего покоя, а

также во второй половине лета и осенью, перед уходом на зимовку.

При исследовании сезонной динамики численности *O. filiformis* учитывались имагинальные формы в тонком и толстом кишечнике и инвазионные личинки третьей стадии в желудке как показатель начала инвазии. Накопление нематод в толстом отделе кишечника, если оно не связано с чрезмерно интенсивной инвазией и пространственной конкуренцией гельминтов, рассматривалось нами как показатель отмирания поколения гельминтов.

Колебания экстенсивности инвазии и индекса обилия имагинальных форм в разные годы имели весьма различный характер (таблицы 7, 8). Так, в 1984 году наблюдался один – летний – подъем обоих показателей зараженности со снижением в августе. Отсутствие данных за сентябрь (в результате того, что лягушки в хо-

лодную осень рано ушли на зимний покой) не позволяет ничего сказать об изменениях зараженности осенью.

В 1985 году отмечались два пика обоих показателей – в июне и в сентябре. Весной 1986 года показатели оставались на высоком уровне, затем индекс обилия снизился в августе и опять возрос в сентябре. Экстенсивность инвазии в этом году флюктуировала слабо и не испытывала статистически достоверных изменений.

В 1987 году оба показателя зараженности достигли наивысших значений в июне-июле, а индекс обилия имел еще и недостоверное повышение в сентябре. Показатели зараженности личиночными формами учитывались только в 1985-1987 гг. В 1985 году наблюдался один подъем экстенсивности инвазии – в июле, индекс обилия флюктуировал на низком уровне и не имел заметных различий.

Таблица 1 – Сезонная динамика экстенсивности инвазии *Oswaldocruzia filiformis* у остромордой лягушки в 80-е гг.

Год исследований	Месяц	Число исследованных хозяев	Экстенсивность инвазии лягушек <i>Oswaldocruzia filiformis</i>		
			Желудок	Тонкий и толстый кишечник	Толстый кишечник
1984	май	7		42,9±18,7	
	июнь	16		50,0±12,2	
	июль	69		87,0±4,1	
	август	31		67,7±8,4	
1985	апрель	16	6,3±6,1	75,0±10,8	25,0±10,8
	май	43	11,9±4,9	81,4±5,9	2,3±2,3
	июнь	26	15,4±7,1	73,1±8,7	3,9±3,8
	июль	27	29,6±8,7	63,0±9,3	3,7±3,6
	август	30	23,3±7,7	63,3±8,8	3,1±3,0
	сентябрь	70	11,4±3,8	85,7±4,2	22,9±5,0
1986	май	27	14,8±6,8	92,6±5,0	33,3±9,1
	июнь	26	3,85±3,8	88,5±6,3	3,85±3,8
	июль	18	5,5±5,4	88,9±7,4	5,5±5,4
	август	32	25,0±7,7	81,3±6,9	15,6±6,4
	сентябрь	23	13,0±7,0	78,3±8,6	8,7±5,9
1987	май	30	6,7±4,6	83,3±6,8	6,7±4,6
	июнь	27	37,0±9,3	96,3±3,6	29,6±8,8
	июль	24	45,8±10,4	95,8±4,1	12,5±6,8
	август	25	16,0±7,3	84,0±7,3	4,0±3,9
	сентябрь	26	11,5±6,3	84,6±7,1	23,1±8,3

В 1986 году был один подъем показателей зараженности – в августе. В сентябре 1985 г. и в мае 1986 г. экстенсивность инвазии личинками находилась на довольно высоком уровне и снизилась только к июню, образуя «ступеньку»

между 1985 и 1986 гг. Подобная же «ступенька», только менее выраженная, заметна и у индекса обилия. В 1987 году показатели зараженности личиночными формами достигли наибольших значений в июле.

Таблица 2 – Сезонная динамика индекса обилия *Oswaldocruzia filiformis* у остромордой лягушки в 80-е гг.

Год исследований	Месяц	Число исследованных хозяев	Индекс обилия (экз.) <i>Oswaldocruzia filiformis</i> у лягушек		
			Желудок	Тонкий и толстый кишечник	Толстый кишечник
1984	май	7		1,3±0,6	
	июнь	16		3,5±1,5	
	июль	69		3,7±0,4	
	август	31		2,3±0,5	
1985	апрель	16	0,06±0,06	2,8±0,7	0,8±0,5
	май	43	0,2±0,1	5,2±0,7	0,02±0,02
	июнь	26	0,2±0,1	7,0±1,9	0,08±0,08
	июль	27	0,4±0,1	2,1±0,5	0,04±0,04
	август	30	0,4±0,2	3,7±1,0	0
сентябрь	70	0,3±0,1	5,8±0,7	0,7±0,2	
1986	май	27	0,4±0,3	5,8±1,1	1,2±0,5
	июнь	26	0	5,5±0,9	0,04±0,04
	июль	18	0	4,7±0,9	0
	август	32	1,0±0,4	3,5±0,6	0,2±0,1
	сентябрь	23	0,3±0,2	5,8±1,5	0,4±0,3
1987	май	30	0,5±0,4	4,8±1,0	0,13±0,1
	июнь	27	0,9±0,5	6,6±1,2	0,6±0,2
	июль	24	1,7±0,8	6,7±1,4	0,2±0,1
	август	25	0,8±0,5	3,0±0,7	0,04±0,04
	сентябрь	26	0,4±0,3	4,5±0,9	0,3±0,1

Сопоставляя эти данные, можно предположить, что в 1984 году была сформирована одна генерация *O.filiformis*, в 1985 году – две генерации: первая, по-видимому, заразила хозяина весной и отмерла к середине лета, вторая инвазия лягушек произошла в сентябре. Вторая генерация, вероятно, перезимовала в хозяине: часть в кишечнике, часть в желудке, что подтверждается «ступенькой» показателей зараженности личиночными формами между 1985 и 1986 годами. В 1986 году отмирание перезимовавшей генерации происходило до конца лета, а к осени было сформировано новое поколение. В пользу этого говорит подъем показателей у личиночных форм в августе, который свидетельствует о на-

чале осеннего заражения. В 1987 году, вероятно, также была сформирована одна генерация, что подтверждается и одним подъемом инвазии личиночными формами.

Очевидно, имагинальные формы *O.filiformis* не отмирают во время зимней спячки остромордой лягушки, поскольку между показателями зараженности осенью и следующей весной не наблюдалось статистически достоверных различий. Г.С. Марков и М.Л. Рогоза [16, 17] отмечают лишь частичное, а не полное отмирание этой нематоды во время спячки *Rana temporaria*. Динамика численности *O.filiformis* в толстом отделе кишечника (данные только за 1985-1987 гг.) как показатель отмирания гельминта во все годы

носит сходный характер. Судя по повышению экстенсивности инвазии и индекса обилия *O.filiformis* в толстом кишечнике, отмирание происходит осенью, а также весной и ранним летом (в разные годы по-разному – с учетом формирования полутора генераций освальдокруций за бесснежный период).

Г.С. Марков и М.Л. Рогоза [16, 17] дают следующую картину сезонной динамики *O.filiformis* у травяной лягушки в Ленинградской области. Показатели зараженности этой нематодой весной сравнительно низки, и к июню нарастают, а осенью опять снижаются. То есть, судя по этим данным, *O.filiformis* имеет один пик инвазии – в середине лета и, вероятно, формирует одно поколение за бесснежный сезон. С данными вышеуказанных авторов сходна сезонная динамика показателей зараженности *O.filiformis* у остромордой лягушки в нашей местности в 1984 и 1987 гг.

Небезынтересно привести наблюдения М. Бейкера (Baker [19]) за сезонной динамикой *Oswaldocruzia pipiens* у лягушек *Rana sylvatica* за 1976-1977 гг. В обоих годах пик экстенсивности инвазии наблюдался весной (май-июнь), спадал летом и вновь возрастал осенью. Из показателей численности гельминтов М. Бейкер использовал интенсивность инвазии (среднее число гельминтов на одного зараженного хозяина). Интенсивность инвазии в обоих годах возрастала до пика в мае; в 1976 году этот показатель снизился поздней весной и оставался низким все лето и осень, тогда как в 1977 году за летним спадом последовал подъем в сентябре. На основании морфологического анализа гельминтов, собранных в разные месяцы, М. Бейкер утверждает, что *O.pipiens* зимует в лягушках, а заражение хозяев может происходить весной, все лето и ранней осенью. Косвенным доказательством зимовки освальдокруций в хозяевах вышеназванный автор считает и то, что обычные летние местообитания лягушек затопляются во время паводка, и свободноживущие стадии нематод там бы после зимовки неизбежно погибли. М. Бейкер считает начало осенней инвазии приуроченным к окончанию метаморфоза у *R.sylvatica*: плотность популяции хозяина увеличивается, и тем самым этот период является наиболее благоприятным для заражения лягушек на зиму. Указанный автор, ссылаясь на Lees'a (1962), пишет, что распространенность и интенсивность инвазии *O.filiformis* у *Rana temporaria* в Англии колебалась по сезонам так же, как и выявленные им показатели *O.pipiens* у *R.sylvatica*.

М. Бейкер не отмечал число генераций, ограничившись указанием, что *O.pipiens* заражает *R.sylvatica* на зиму и зимует в хозяине, а распространение гельминта может происходить весь теплый период. Тип динамики, подобный описанному М.Бейкером, наблюдался нами у *O.filiformis* от *R.arvalis* в Среднем Прииртышье 1985-1986 гг. По сообщениям В. Хендрикса (Hendrix [14]), *O.filiformis* у обыкновенной жабы в условиях Нидерландов формирует две генерации в год. В среднем Прииртышье два поколения у этой нематоды наблюдались только в 1985 году, причем отмирание второй генерации произошло уже следующим летом.

O.filiformis (как по нашим, так и по литературным данным) переживают неблагоприятный зимний период в организме хозяина, что экологически рационально по ряду причин. Во-первых, нахождение во внутренней среде организма хозяина предохраняет их от перемерзания, от которого не застрахованы яйца и личинки во внешней среде. Во-вторых, взрослые гельминты у всех видов холоднокровных и теплокровных позвоночных имеют сформированные адаптации к зимовке в хозяине, направленные на экономии вещества и энергии и перестройку своего метаболизма в соответствии с изменением метаболизма хозяина; в частности, у освальдокруций нами отмечено уплощение тела и уменьшение содержания влаги. В-третьих, при весеннем подъеме уровня воды в водоемах (особенно поймах крупных рек) обычные местообитания лягушек на достаточно длительное время затопляются водой, что неблагоприятно и даже губельно для нематод.

В целом следует отметить, что показатели зараженности остромордой лягушки *O.filiformis* очень высоки, что еще раз говорит о коротком жизненном цикле нематоды. Сопряженность экстенсивности инвазии и индекса обилия сильная у личиночных и значительная у имагинальных форм *O.filiformis* ($r = 0.83$ и 0.67 соответственно) – видимо, вследствие пероральной инвазии, при которой отход инвазионных личинок, попавших в хозяина, невелик.

Сезонная динамика показателей зараженности остромордой лягушки нематодой Oswaldocruzia filiformis в 2005-2017 гг.

Ход сезонной динамики численности и распространенности освальдокруции в пойменной популяции остромордой лягушки в 2005-2017 гг., и особенно в период до 2012 г. (до грубых нарушений режима компенсаторных попусков на р. Иртыш) во многом повторяет та-

ковой в середине и конце 80-х гг. – лишь с определенными различиями в уровне зараженности и его изменений по отдельным месяцам.

Так, в 2005 г. (данные имелись лишь с начала июля) показатели зараженности лягушек *O. filiformis* испытывали снижение в конце июля, когда в выборке оказались в основном лягушата-сеголетки (ранние и поздние). В конце августа произошел новый подъем инвазии лягушек нематодой – за счет массового заражения сеголеток. В 2005 г. была высокой экстенсивность инвазии – при сравнительно небольших значениях интенсивности инвазии и индекса обилия – то есть численных показателей зараженности нематодой.

В 2006 г. в первых числах июня уже был достигнут высокий уровень зараженности лягушек освальдокруциями, значительное снижение показателей произошло в начале июля, когда популяция пополнилась сеголетками. Постепенный подъем экстенсивности инвазии и индекса обилия происходил с конца июля по 3 сентября. Однако в выборке лягушек, добытой во второй половине сентября (что оказалось возможным в теплую осень), распространенность и особенно показатели численности нематоды снизились. Это могло быть обусловлено как отмиранием старых нематод перед уходом лягушек на зимовку, либо тем, что в поздней осенней выборке оказались в основном лягушата-сеголетки. Дело в том, что любые возможности питания осенью используют мелкие незрелые лягушки с неразвитым жировым телом, особенно малорослые поздние сеголетки. А у них зараженность освальдокруциями могла оказаться ниже, особенно интенсивность инвазии, ввиду небольшого пространства в кишечнике и недостаточных трофических ресурсах организма. Возможно, по этой причине почти во все годы исследования интенсивность инвазии и индекс обилия освальдокруции в конце мая – начале июня обычно не ниже, чем в сентябрьских выборках. Кроме того, данный факт может свидетельствовать о том, что значительная часть освальдокруций в хозяевах благополучно переживает зиму, а распространение нематоды весной и в начале лета происходит очень быстро, особенно при коротком паводке или компенсаторном попуске воды на пойме.

Летом 2007 года лягушата сеголетки вышли рано (уже 19-20 июня), и в районе пойменных водоемов в это время отлавливались исключительно сеголетки, свободные от нематод. Экстенсивность инвазии лягушек освальдокруцией

колебалась примерно в тех же пределах, что и в 2006 г., но с более резким снижением во время массового метаморфоза сеголеток. Интенсивность инвазии в 2006 и 2007 гг. существенно не различалась, однако индекс обилия (среднее число нематод на одну лягушку данной выборки) снизился почти вдвое. В 2008 г. испытали снижение как экстенсивность инвазии, так и показатели численности освальдокруций. В 2009 г. показатели зараженности лягушек *O. filiformis* продолжали снижаться, оставаясь примерно на таком же уровне в летний сезон 2010 года. Однако интенсивность инвазии в отдельные месяцы была значительной – в основном за счет высокой численности нематоды у крупных старых лягушек. В 2011 и 2012 г. как экстенсивность инвазии, так и индекс обилия *O. filiformis* возросли – примерно до уровня 2007-2008 гг.

Снижение индекса обилия *O. filiformis* в середине лета, связанное с «разбавлением» популяции лягушек незараженными сеголетками, не всегда сопровождается снижением интенсивности инвазии (а в отдельные годы, судя по данным таблицы 3, отмечается даже повышение этого показателя в июне-июле). Этот факт свидетельствует о том, что ранее отмеченные две волны зараженности нематодой, обусловленные формированием двух генераций паразита за беснежный сезон, не имеют столь четкой выраженности. Распространение освальдокруции, видимо, происходит в течение всего летнего сезона, как это отмечал М. Бейкер [19] в отношении *Oswaldocruzia pipiens* у лягушек *Rana sylvatica* в Америке. Но все же данный автор указывал, что начало осенней инвазии приурочено к окончанию метаморфоза у амфибий: плотность популяции хозяина увеличивается, появляются наиболее благоприятные возможности для заражения лягушек на зиму.

По-видимому, отмеченное нами в отношении *R. arvalis* повышение зараженности старых лягушек освальдокруциями в июне-июле является концентрацией половозрелых гемипопуляций нематоды для диссеминации инвазионных элементов во внешнюю среду к моменту массового метаморфоза сеголеток. При этом к осени происходит также реинвазия взрослых лягушек молодыми *O. filiformis*, которые будут переживать в хозяине зиму. В пользу этого предположения свидетельствует тот факт, что в конце июля и начале августа в кишечниках зимовавших лягушек старше года обнаруживаются как молодые, так и старые нематоды. Однако уже к концу августа или началу сентября гемипопуляции гельминтов

представлены в основном молодыми зрелыми особями, но самки накануне зимовки продуцируют мало яиц.

Годовая динамика численности освальдокруций может быть обусловлена колебаниями численности самих хозяев. В пойменных биотопах основным хозяином *O. filiformis* является остромордая лягушка, прыткая ящерица встречается редко (она чаще отлавливалась на надпойменных террасах и в степных биотопах). В этой связи очевидно, что данный полигостальный паразит эксплуатирует популяцию только одного вида хозяев, а значит, его численность будет зависеть от численности и плотности популяций остромордой лягушки в припойменных биотопах.

В пойменной популяции в 2005-2006 гг. лягушки были представлены в основном незрелыми особями, со значительной долей сеголеток. Затем с 2007 по 2011 г. прогрессивно увеличивалась доля амфибий старше 3 лет (и особенно – крупных, старых лягушек). В то же время в 2008-2009 г. сократилась численность сеголеток и годовиков, о чем можно судить по встречаемости этой возрастной группы лягушек и ее представленности в сборах, при которых проводился неизбирательный в размерном и возрастном отношении отлов амфибий. Не исключено, что причиной избирательной элиминации лягушек младших возрастных групп стало увеличение численности и распространенности со второй половины лета 2007 г. легочной трематоды *Haplometra cylindracea* – крупного гельминта-гематофага. В 2007 и первой половине лета 2008 г. гаплومتра регистрировалась в основном у сеголеток и годовиков – в количестве до 50 экз. в одной особи. Интенсивно зараженные лягушки проигрывали в линейном росте и упитанности, и, вероятно, значительная их часть не могла пережить зиму. Проведенное исследование межвидовых отношений паразитов лягушки не показало существенного антагонизма между освальдокруцией и гаплометрой. Однако в течение 2007-2009 гг. численность лягушек самых младших возрастных групп сократилась – не в последнюю очередь ввиду патогенного влияния гаплومتры – крупного гельминта-гематофага, энергетически накладного для молодых лягушек.

В 2010 г. численность гаплومتры несколько снизилась, как и в начале лета было заметно снижение общей численности и плотности популяции лягушек. Однако в середине лета 2010 г. в припойменных биотопах отмечалось большое количество крупных половозрелых амфибий. Не исключено, что часть этих взрослых лягушек

были мигрантами, пришедшими на освободившееся место при сокращении численности исследуемой припойменной популяции *Rana arvalis*. Однако зараженность этих крупных лягушек была не выше, а порой даже ниже, чем обычно у мелких годовиков и сеголеток в пойменной популяции. Логично предположить, что при миграции происходит снижение зараженности (за счет короткого жизненного цикла освальдокруции) и потеря значительного количества инвазионных элементов в неблагоприятных биотопах. Но вместе с тем при миграциях происходит обмен генами в популяциях паразитов, в пользу чего может свидетельствовать ситуация, сложившаяся в пойменных биотопах в летний сезон 2012 г.

Весной 2012 г. на р. Иртыш не было ни естественного паводка, ни компенсаторного попуска воды, пойменные биотопы были сухими, и до июня лягушек не отмечалось. Подавляющее большинство отловленных летом лягушек были крупными половозрелыми экземплярами, и, видимо, мигрантами. Сеголеток почти не было, что могло быть связано с неблагоприятными условиями для икрометания лягушек. Численные показатели инвазии отловленных лягушек освальдокруцией в течение летних месяцев менялись мало. Но именно в 2012 г. были достигнуты максимальные размеры *O. filiformis* – как самцов, так и самок.

Возможно, значительное пространство в кишечнике крупных амфибий, а также большое количество потребляемой ими пищи (как трофический ресурс для гастроинтестинальных гельминтов) позволило нематодам достичь значительной величины. Не исключено также и то, что популяция гельминтов в лягушках-мигрантах могла отличаться генотипически и фенотипически от тех освальдокруций, которые паразитировали в постоянно обитающих на Усолке лягушках. В пользу второго предположения свидетельствует в первую очередь тот факт, что в 2012 г. в незрелых (и, соответственно, более мелких по размеру) лягушках как самцы, так и самки освальдокруций достигали более крупных размеров, чем в крупных лягушках старше 3-4 лет.

Предположение о миграциях лягушек в летний сезон 2010 и 2012 гг. косвенно подтверждается тремя фактами. Во-первых, именно в эти годы и именно у крупных взрослых лягушек регистрировались находки трематоды *Pleurogenes intermedius*, которая в 80-е годы отмечалась с небольшой частотой, была достаточно распространена в припойменном биотопе в 2006 г. и до 2010

г. не отмечалась ни разу даже при многочисленных сборах амфибий. Во-вторых, в отдельные месяцы соотношение полов в выборках зрелых лягушек существенно менялось – либо это были преимущественно самцы, либо почти одни самки. В-третьих, в 2010 и 2012 гг. крупные взрослые амфибии, многочисленные с конца июля по начало или середину августа, затем исчезали, а

в осенних сборах оказывались преимущественно сеголетки и годовики. Кроме того, в августе 2012 г. в пойме р. Иртыш в районе Южного водозабора отловлен единственный экземпляр годовой озерной лягушки (*Rana ridibunda*), которая за все годы исследования не отлавливалась и не отмечалась в пойменных биотопах в окрестностях г. Павлодара.

Таблица 3 – Сезонная динамика показателей зараженности остромордой лягушки нематодой *Oswaldocruzia filiformis* в пойменных биотопах с 2005 по 2017 гг.

Дата сбора	Объем выборки	Число зараженных лягушек	Доля зараженных лягушек (%)	Число гелминтов	Индекс обилия	Интенсивность инвазии	Дисперсия
2005 г.							
Начало июля	31	21	67,74±8,40	138	4,45±1,21	6,57±1,603	45,72
30 июля	26	12	46,15±9,78	63	2,42±0,71	5,25±1,05	12,97
Август 2005 г.	27	19	70,37±8,79	86	3,18±0,69	4,35±0,77	12,695
2005 г. в целом	87	53	60,92±5,23	288	3,31±0,53	5,43±0,74	24,589
2006 г.							
1.06.06	26	19	73,08±8,70	189	7,27±1,39	9,95±1,48	50,045
3-11.07.06	33	17	51,51±8,70	36	1,09±0,36	2,12±0,60	4,2102
28-30.07.06	25	19	76,0±8,54	79	3,16±0,53	4,16±0,51	7,057
18.08.06	27	24	88,89±6,05	212	7,85±1,16	8,83±1,16	36,439
3.09.06	39	38	97,44±2,53	390	10,0±1,40	10,26±1,41	76,368
17-30.09.06	40	32	80,0±6,32	249	6,225±0,92	7,78±0,98	34,1788
2006 г. в целом	190	149	78,42±2,98	1155	6,08±0,49	7,75±0,545	44,9408
2007 г.							
2.06.07	33	30	90,91±5,004	399	12,09±1,92	13,30±1,98	122,1477
20.06.07	21	0	0	0	0	0	0
6.07.07	28	4	14,29±6,61	6	0,21±0,11	1,50±0,29	0,32275
4-5.08.07	34	17	50,0±8,57	41	1,21±0,27	2,41±0,34	2,4715
24.08-1.09.07	39	28	71,79±7,21	121	3,103±0,67	4,32±0,82	17,3050
18.09.07	24	17	70,83±9,28	107	4,46±1,07	6,29±1,27	27,5634
2007 г. в целом	179	96	53,63±3,73	674	3,765±0,52	7,02±0,83	47,6413
2008 г.							
28.05.08	34	30	88,23±5,53	128	3,76±0,65	4,27±0,68	13,7682
16-20.06.08	25	0	0	0	0	0	0
17.07.08	27	19	70,37±8,79	66	2,44±0,55	3,47±0,66	8,0247
15.08.08	30	19	63,33±8,80	74	2,47±0,56	3,89±0,71	9,2489
30.08-17.09.08	29	26	89,65±5,66	216	7,45±1,54	8,31±1,64	66,5921
2008 г. в целом	145	94	64,83±3,96	484	3,34±0,42	5,15±0,57	25,60304
2009 г.							
21.05-3.06.09	32	26	81,25±6,90	167	5,22±1,18	6,42±1,345	43,0459

Дата сбора	Объем выборки	Число зараженных лягушек	Доля зараженных лягушек (%)	Число гильминтов	Индекс обилия	Интенсивность инвазии	Дисперсия
21-24.06.09	30	9	30,0±8,37	82	2,73±0,95	9,11±1,925	26,3289
17.07.09	32	14	43,75±8,77	32	1,0±0,24	2,29±0,304	1,8125
8.08.09	28	12	42,86±9,35	33	1,18±0,35	2,75±0,55	3,2895
18.08.09	30	19	63,33±8,80	81	2,70±0,53	4,26±0,59	8,21
6.09-17.10.09	49	32	65,31±6,80	112	2,29±0,38	3,50±0,46	7,0204
2009 г. в целом	201	112	55,72±3,504	507	2,52±0,285	4,53±0,43	16,2694
2010 г.							
Апрель-май 2010	31	20	64,52±8,59	71	2,29±0,45	3,55±0,515	6,1415
22-27.06.10	30	15	50,0±9,13	98	3,27±1,06	6,53±1,77	32,6622
19-20.07.10	24	9	37,50±9,88	22	0,92±0,28	2,44±0,38	1,8264
Август-сентябрь 2010	31	19	61,29±8,75	90	2,903±0,88	4,74±1,27	23,1197
2010 г. в целом	116	63	54,31±4,625	281	2,42±0,39	4,46±0,61	17,3647
2011 г.							
22-25.05.11	24	22	91,67±5,64	159	6,625±1,13	7,23±1,15	29,65104
20.06.11	37	13	35,13±7,85	111	3,0±1,26	8,54±3,11	57,3513
20.07.11	24	16	66,67±9,62	50	2,08±0,43	3,125±0,46	4,3264
12-21.08.11	29	17	58,62±9,15	64	2,21±0,53	3,76±0,70	8,0262
4.09.11	28	18	64,29±9,05	64	2,29±0,53	3,56±0,66	7,7041
2011 г. в целом	142	86	60,56±4,101	448	3,15±0,43	5,21±0,62	26,4126
2012 г.							
2.06.12 г.	30	23	76,67±7,72	88	2,93±0,54	3,83±0,58	8,32889
27.06.12	33	26	78,79±7,12	97	2,94±0,504	3,73±0,54	8,11754
21.07.12	26	18	69,23±9,05	106	4,08±1,12	5,89±1,43	31,5325
12-13.08.12	27	21	77,78±8,001	90	3,33±0,74	4,29±0,85	14,4444
Сентябрь 2012 г.	20	13	65,0±10,66	62	3,10±1,04	4,77±1,41	20,69
2012 г. в целом	136	101	74,26±3,75	443	3,26±0,34	4,39±0,41	15,9264
2013 год, пойма р. Усолка							
9-22 июня	31	15	48,39±9,02	168	5,42±1,36	11,20±1,88	55,211
9-14 июля	27	9	33,33±9,07	29	1,07±0,42	3,22±0,91	4,513
Авг.-сент.	28	14	50,0±9,45	44	1,57±0,40	3,14±0,53	4,316
2013 г. в целом	86	38	44,19±5,355	241	2,802±0,56	6,34±1,01	26,6624
2014 год, пойма р. Усолка							
25-29 июня	30	6	20,0±7,30	22	0,73±0,42	3,67±1,73	5,129
20 июля	23	11	4,78±4,45	30	1,304±0,36	2,73±0,45	2,820
Авг.-сент.	38	27	71,05±7,36	117	3,08±0,67	4,33±0,83	16,652
2014 г. в целом	91	44	48,35±5,24	169	1,86±0,34	3,84±0,57	10,474
2015 год, пойма р. Усолка							
26.04-31.05.15 г.	39	34	87,18±5,35	294	7,54±1,06	8,65±1,095	42,863907
21.06.15 г.	31	0	0	0	0	0	0
18.07.15 г.	46	24	52,17±7,365	76	1,65±0,345	3,17±0,49	5,357278

Дата сбора	Объем выборки	Число зараженных лягушек	Доля зараженных лягушек (%)	Число гельминтов	Индекс обилия	Интенсивность инвазии	Дисперсия
Август 2015	44	32	72,73±6,71	112	2,545±0,43	3,5±0,502	8,1115704
Сентябрь 2015	64	41	64,06±6,0	125	1,95±0,29	3,05±0,36	5,4821778
2015 г. в целом	224	131	58,48±3,29	607	2,71±0,28	4,63±0,40	17,197046
2016 год, пойма р. Усолка							
25.05.16 г.	25	19	76,0±8,54	102	4,08±0,82	5,37±0,90	16,3136
5-12.06.16 г.	42	7	16,67±5,75	74	1,76±1,16	10,57±6,305	55,2766
5.07.16 г.	38	19	50,0±8,11	49	1,29±0,21	2,58±0,49	1,6627
29-30.07.16 г.	20	12	60,0±10,95	45	2,25±0,50	3,75±0,45	4,6875
Авг.-сент. 2016 г.	27	14	51,85±9,62	61	2,26±0,64	4,36±0,935	10,6365
2016 г. в целом	152	71	46,71±4,05	331	2,18±0,38	4,66±0,72	22,2513
2017 г.							
18-22.05.17	32	14	43,75±8,77	78	2,44±0,69	5,57±1,13	14,9336
11.06.17	26	17	65,38±9,33	140	5,38±1,53	8,235±2,03	58,4675
3-6.07.17	38	6	15,79±5,915	47	1,24±0,73	7,83±3,81	19,6018
30.07-2.08.17	34	15	44,12±8,515	38	1,12±0,33	2,53±0,58	3,6332
Авг.-сент. 2017 г.	34	20	58,82±8,44	88	2,59±0,62	4,4±0,84	12,5952
2017 г. в целом	164	72	43,902±3,875	391	2,38±0,37	5,43±0,69	22,5952

В бесснежный сезон 2012 г. спада показателей практически не было, а в 2013 г. он был выражен несущественно. Причина этого – нарушение размножения лягушек в исследованных пойменных биотопах (практически не было сеголеток).

В 2014-2017 гг. сезонная динамика показателей зараженности лягушек нематодой *O. filiformis* в целом повторяла тенденцию большинства предыдущих лет исследования: значительный уровень экстенсивности инвазии и индекса обилия весной и в начале лета, спад в период массового выхода лягушат новой генерации и опять подъем в августе (иногда с некоторым спадом в сентябре). Разница лишь в том, что существенный спад численности нематоды в разные годы приходится на различные месяцы – от начала июня до начала или середины июля, что обусловлено разными сроками выхода сеголеток (главным образом в связи с температурными условиями).

Следует отметить, что интенсивность инвазии (среднее число червей на каждую зараженную лягушку) ежегодно колебалась в меньшей степени, чем индекс обилия (среднее количество гельминтов на одного хозяина данной выборки).

Это свидетельствует о том, что инвазия лягушек освальдокруциями в течение бесснежного периода идет постоянно, а взрослые лягушки (старше 2-3 лет) являются основными кумуляторами инвазионного начала и поставщиками пропативных стадий нематоды во внешнюю среду.

Среднегодовой уровень интенсивности инвазии и индекса обилия *O. filiformis* достигал максимума в 2006 г. (когда нематоды имели наиболее мелкие размеры). Затем показатели численности существенно снизились в 2009-2010 гг., и после небольшого подъема в бесснежный период 2011 года в дальнейшем флюктуировали на сравнительно невысоком уровне. Минимум этих показателей пришелся на 2014 год (когда пойма была все лето затоплена постоянными техногенными попусками). Затем интенсивность инвазии и индекс обилия испытали небольшой подъем в 2015-2016 гг. (а в эти годы вода в Иртыше также стояла высоко, и даже осенью не было межени), и еще немного увеличились в 2017 г. (когда пойма была несколько суше).

Половозрастной состав популяции лягушек играет важную, но не всегда ведущую роль в формировании сезонной и годовой динамики

численности. Очевидно, что сеголетки лягушек, недавно прошедшие метаморфоз, еще не заражены освальдокруциями, и инвазия этой возрастной группы происходит уже только к осени. Причиной этого является экология самих нематод, у которых распространение инвазионных элементов происходит только на суше и совершенно исключено – в водной среде.

С учетом того, что крупные лягушки старших возрастных групп обычно выше заражены *O. filiformis* по сравнению с мелкими неполовозрелыми амфибиями (Ваккер, Тарасовская [25]; Тарасовская [29]), увеличение доли старых лягушек в отдельные периоды приводило к повышению интенсивности инвазии и индекса обилия. Приуроченность обилия освальдокруций к крупным лягушкам обусловлена, вероятно, как значительным пространством и трофическими ресурсами организма хозяина и органа локализации, так и тем, что, по нашим наблюдениям, крупные взрослые амфибии чаще держатся на участках с травянистой растительностью, где вероятность инвазии *O. filiformis* значительно выше. Однако

в отдельные месяцы 2010 и 2012-2013 гг. крупные зрелые лягушки-мигранты были не всегда интенсивно заражены нематодой. И, безусловно, такие события, как уменьшение или полное отсутствие паводка или компенсаторного попуска воды на пойменных лугах, вызывают существенные изменения в структуре и динамике популяций как самих амфибий, так и их паразитов.

Размеры и показатели зараженности лягушек нематодой Oswaldocruzia filiformis как индикатор увлажнения поймы и растительного покрова

С учетом того, что *O. filiformis* для развития свободноживущих личиночных стадий и инвазии хозяев нуждается, с одной стороны, в достаточных сухих площадях, с другой – в травянистой растительности, эта нематода может служить индикатором оптимального гидрологического режима поймы и растительного покрова.

Для подтверждения этой гипотезы мы сопоставили уровень весенних паводков (компенсаторных попусков) на р. Иртыш с показателями зараженности и средними размерами нематод.

Таблица 4 – Гидрологическая характеристика паводков (компенсаторных попусков) на р. Иртыш в 2001-2017 гг. и ее взаимосвязь с размерами и показателями зараженности остромордой лягушки нематодой *Oswaldocruzia filiformis*

Год	Продолжительность основной фазы, сутки	Экстенсивность инвазии	Индекс обилия	Интенсивность инвазии	Площадь затопления поймы	
					тыс.га	%
2005	19	60,92±5,23	3,31±0,53	5,43±0,74	255,1	75,3
2006	19	78,42±2,98	6,08±0,49	7,75±0,545	261,1	77,1
2007	18	53,63±3,73	3,765±0,52	7,02±0,83	262,8	77,65
2008	16	64,83±3,96	3,34±0,42	5,15±0,57	213,2	62,9
2009	16	55,72±3,504	2,52±0,285	4,53±0,43	195,6	57,7
2010	21	54,31±4,625	2,42±0,39	4,46±0,61	298,8	88,2
2011	17	60,56±4,101	3,15±0,43	5,21±0,62	263,5	77,8
2012	13	74,26±3,75	3,26±0,34	4,39±0,41	17,8	5
2013	17	44,19±5,355	2,802±0,56	6,34±1,01	303,4	89,6
2014	19	48,35±5,24	1,86±0,34	3,84±0,57	274,6	81,1
2015	21	58,48±3,29	2,71±0,28	4,63±0,40	305,3	90,1
2016	27	46,71±4,05	2,18±0,38	4,66±0,72	282,8	83,5
2017	24	43,902±3,875	2,38±0,37	5,43±0,69	307,2	90,7

Однако имеющиеся региональные данные по гидрологическому режиму р. Иртыш содержали сведения о весенних попусках, но не учитывали летние техногенные попуски, которые с 2014 по 2017 гг. существенно нарушали режим реки. По

нашим наблюдениям, нарушения гидрологического режима р. Иртыш с 2012 по 2017 г. оказали следующее влияние на характер растительности.

Весной 2012 г. на р. Иртыш не было ни паводка, ни компенсаторного попуска воды, ме-

жень наступил рано, со значительным падением уровня воды в реке. При отсутствии разлива наблюдалась значительная доля ксероморфных растений на многих площадях пойменных биотопов (ковыль перистый, кермек Гмелина, овсяница бороздчатая, ласточник сибирский, качим метельчатый).

Быстрый – ранний и кратковременный – паводок 2014 г. привел к нарушению размножения остромордой лягушки – вследствие того, что вода сошла раньше сроков икрометания. Пойма была достаточно сухой, с преобладанием на многих возвышенных участках ксероморфных растений.

Компенсаторные попуски воды летом и осенью 2015 г., в результате которых систематически повышался уровень воды, был нарушен обычный сезонный режим реки, привели к избытию стеблеродных придаточных корней у прибрежных ив, формированию летней генерации побегов из незимовавших почек (ивановых побегов) у ивы белой, козьей и остролистной – довольно коротких и с мелкими листьями, повторному цветению многих видов растений, цветущих в первой половине лета, с конца июля по сентябрь (солодка голая, подмаренник северный и настоящий, вербейник обыкновенный, лядвенец рогатый, чина луговая и клубневая, лабазник вязолистный, алтей лекарственный), формированию в основном или исключительно подводных листьев у полупогруженных растений (пузырчатка, стрелолиста, омежника, водокраса).

Высокий уровень воды на реке Иртыш в течение всего бесснежного периода 2016 и 2017 гг. привел к тому, что продуктивность сенокосных и пастбищных угодий резко снизилась, поскольку обширные площади луговых участков до середины и даже до конца августа были покрыты водой. К концу августа и началу сентября многие прибрежные участки оказались голыми, полностью свободными от растительности, были покрыты черным илом, оставшимся от речных наносов. Почти полностью исчезли заросли хвоща полевого – даже на тех приречных участках, где хвощ был доминирующим и даже единственным видом травянистых растений. Единичные мелкие экземпляры хвоща в августе-сентябре отмечались на высоких берегах реки. Многие спороносные колоски погибли из-за высокого уровня воды.

Резко снизилось количество горечавки легочной, хотя в предыдущие годы это растение на многих участках поймы было доминантом

или субдоминантом. В первой половине лета практически не наблюдалось лабазника вязолистного (ни вегетативных частей, ни цветения); небольшое повторное цветение этого растения и интенсивный рост листьев отмечены в августе-сентябре 2016 г., после ухода воды. Резко уменьшили свою численность подмаренник настоящий и северный, вербейник обыкновенный, птармика (тысячелистник благородный), вероника длиннолистная, синеголовник плосколистный, лядвенец рогатый, алтей лекарственный, василек шероховатый, которые раньше были доминантами и субдоминантами в отдельных луговых ассоциациях. Доминирующим видом на возвышенных участках стала кровохлебка лекарственная, местами – лабазник вязолистный. Из растений с плагиотропными стеблями была многочисленной будра плющевидная. Существенно не изменилась численность лапчатки гусиной, клевера ползучего, щавеля конского, солодки голой, чины луговой, мышиного горошка, паслена сладко-горького, пусторебришника обнаженного. В августе-сентябре отмечено кратковременное повторное цветение алтея, подмаренника северного, лапчатки гусиной, аврана лекарственного, жерушника болотного.

Анализ известных региональных данных позволил проследить тенденции изменения компенсаторных попусков на р. Иртыш за последние 60 лет и их влияние на физико-географические характеристики поймы. Пойма р. Иртыш хорошо развита, двусторонняя, преимущественно правосторонняя, шириной 4 км. Русло реки характеризуется прямым течением без крутых поворотов и излучин. Профиль правой части поймы выглядит следующим образом. Достаточно крутой береговой обрыв препятствует развитию полосы первичной растительности на песчаных косах и отмелях. Травостой характеризуется доминированием солодки уральской. Слабое развитие прирусловых валов ограничивает распространение прирусловых лесов на лесолуговых пойменных слоистых почвах, которые протянуты вдоль русла узкой полосой. В комплексе с лесными сообществами в понижениях между прирусловыми валами встречаются сырые разнотравно-злаково-осоковые луга, а на редких возвышенных участках – настоящие разнотравно-злаковые луга с примесью полыни на луговых слоистых почвах. За прирусловыми валами начинается относительно выровненный участок центральной поймы, занятый на микроповышениях разнотравно-злаковыми лугами, на обширных выровненных участках отмечаются сырые

злаково-крупноразнотравные луга на луговых зернистых и луговых засоленных почвах. На обширных слабопониженных участках центральной поймы формируются крупноразнотравно-осоково-злаковые болотистые луга на луговых болотных почвах. Невысокая выровненная грива в притеррасье, с двух сторон ограниченная болотистыми лугами, используется под выпас скота и характеризуется сильной антропогенной трансформацией пойменных геосистем.

При общей тенденции уменьшения стока Иртыша управление Бухтарминским водохранилищем позволяет увеличить расходы воды в летне-осеннюю межень, что повышает надежность водоснабжения сельского хозяйства. Затраты на покрытие дефицита в воде различных отраслей народного хозяйства составляют 29,8%, в том числе только на орошение 20,0% [30].

Положительная роль водохранилища Шульбинской ГЭС заключается в возможности уменьшения величины весенних сбросов из водохранилища Бухтарминской ГЭС. Это обеспечивает нормальную работу всего водохозяйственного комплекса Иртыша в целом, так как Бухтарминское водохранилище осуществляет многолетнее и сезонное регулирование стока реки без глубокой сработки полезного объема.

В то же время, по характеру регулирования водохранилище Шульбинской ГЭС (1 очередь) не позволяет обеспечить уменьшения ни летних, ни зимних расходов воды Иртыша в периоды дождевых паводков, что приводит к подтоплению населенных пунктов и затоплению поймы в осенне-зимний периоды (дождевой осенний паводок 2014 года). При существующем уровне водопотребления в бассейне, проведение природоохранных попусков в целях увлажнения поймы при наличии только 1 очереди Шульбинской ГЭС, не может обеспечить оптимальные условия затопления пойменных земель.

Создание каскада водохранилищ на реке Иртыш повлекло за собой коренные изменения в режиме реки. Под влиянием осуществляемого водохранилищами регулирования стока произошло выравнивание многолетнего хода, внутригодового и внутрисезонного хода уровней воды и стока реки. Из-за односторонней энергетической направленности, выраженной в ограничении интересов энергетики необходимых параметров режима природоохранного попуска воды в Иртыш из Верхне-Иртышского каскада ГЭС, нарушено экологическое равновесие в пойме, началась деградация пойменных земель, их засоление и остепнение,

местами переувлажнение и заболачивание, тем самым подорвана биологическая продуктивность поймы, снизилась урожайность луговых трав до 15,5 ц/га.

Сравнение среднемесячных расходов «до» и «после» строительства Верхне-Иртышского каскада водохранилищ позволяет оценить произошедшие изменения внутригодового распределения стока р. Иртыш в створах г. Усть-Каменогорск, с. Шульба, с. Семиарское, г. Павлодар, с. Черлак и сравнить их с условно естественным режимом в створе с. Буран.

В целом природоохранные попуски за период 1964-1988 гг. до ввода в эксплуатацию 1 очереди Шульбинской ГЭС в большинстве своем были малоэффективными, за исключением многолетних лет. В этот период затоплялось от 180 до 350 тыс. га пойменных угодий, в отдельные маловодные годы (1983) пойма не затоплялась, при этом эффект попуска в значительной мере определялся гидрометеорологическими условиями в зоне формирования стока боковой приточности реки Иртыш. Урожайность сельхозугодий колебалась в значительных пределах, изменяясь от 5,5 ц/га в засушливые годы до 20 ц/га в многоводные годы, составляя в среднем 14-16 ц/га. Нерегулярное и малоэффективное затопление поймы привело к тому, что биологическая продуктивность и естественный потенциал пойменных геосистем ежегодно снижались.

Начиная с 1989 года после ввода в эксплуатацию Шульбинской ГЭС, условия осуществления природоохранных попусков стали более благоприятными, и затопление поймы осуществлялось с большей эффективностью. Наличие регулирующей емкости водохранилища полезным объемом 1,47 км³ позволяет при правильном выборе сроков начала попусков поддерживать высокую волну половодья, не предусматривая повышенных сбросов воды из Бухтарминского водохранилища, ограничиваясь расходами энергетического режима Бухтарминской ГЭС в размере 500-1200 м³/с. Анализ природоохранных попусков показывает, что к числу решающих факторов, определяющих эффективность затопления поймы, наряду с объемом попуска и формой гидрографа половодья, является продолжительность попускового периода. Например, при общей продолжительности попуска 18 суток площадь затопления поймы колеблется от 207,0 тыс. га в 1965 г. до 362,2 тыс. га в 1991 г. [31, 32, 33, 34].

Сопоставляя имеющиеся данные по увлажненности и растительному покрову поймы р. Ир-

тыш с динамикой линейного роста и показателей зараженности остромордой лягушки *O. filiformis*, можно отметить, что годы нарушения гидрологического режима реки не всегда приводили к снижению показателей инвазии лягушек, а размеры нематод в неблагоприятные периоды даже статистически достоверно возрастали. Начало и середина 80-х гг. характеризовались, как указывалось выше, относительной сухостью поймы и недостаточностью природоохранных компенсаторных попусков. Но все же в этот период зараженность лягушек была достаточно высокой – не ниже, чем в 2005-2017 гг. Сравнительно мелкие размеры нематод были обусловлены преобладанием в популяции лягушек мелких незрелых экземпляров, со сравнительно малым пространством в желудочно-кишечном тракте и небольшим объемом потребляемой пищи. В достаточно многоводные 2005-2006 гг. основу популяции *Rana arvalis* также составляли мелкие лягушки (сеголетки, годовики, реже – двухлетние экземпляры), что обуславливало высокие показатели инвазии и мелкие размеры гельминтов.

В 2007-2009 гг. снижение численности остромордой лягушки, особенно молодых экземпляров, наступило не по причине неблагоприятных условий, а за счет патогенного воздействия многочисленной легочной трематоды *H. cylindracea*. В 2010 г. в пойменных биотопах отлавливались преимущественно крупные половозрелые лягушки, по-видимому, мигранты. Но при этом показатели зараженности лягушек освальдокруцией и абсолютные размеры нематод существенно не изменились, поскольку биотопические условия для развития личиночных стадий *O. filiformis* оставались удовлетворительными.

С 2012 по 2017 гг. при грубых нарушениях гидрологического режима р. Иртыш (отсутствие компенсаторного попуска в 2012 г., нарушение сроков паводка, избыточные техногенные попуски воды летом и осенью) показатели зараженности лягушек *O. filiformis* снизились, тогда как размеры нематод, напротив, увеличились. В сборах за эти годы увеличилось количество лягушек старше 2-3 лет, в кишечнике которых обычно находились крупные нематоды. Но эти амфибии, вероятно, были мигрантами, которые приходили уже инвазированными освальдокруцией, тогда как для развития личиночных стадий в пойменных биотопах складывались неблагоприятные условия. К числу таких неблагоприятных условий можно причислить: сухую почву, длительное затопление больших участков поймы, бедную растительность (причиной которой

были как сухость при отсутствии попуска или кратковременном паводке, так и длительный залив лугов, приводящий к гибели растений).

Следует отметить, что по нашим ранее полученным данным, освальдокруция практически отсутствовала у лягушек в ряде водоемов не пойменного (техногенного) происхождения, вокруг которых не было травянистой растительности или растительный покров был слишком беден [24, 25]. Однако слишком высокая и грубая трава на отдельных возвышенных участках поймы в годы ее длительного залива также неблагоприятна для развития личиночных стадий *O. filiformis* и возможности их попадания в кишечник лягушек.

Заключение

Во все годы исследования *O. filiformis* у остромордой лягушки давала по два подъема показателей зараженности в бесснежный период, соответствующий двум генерациям нематоды. Ход сезонной динамики численности и распространности освальдокруции в пойменной популяции остромордой лягушки в 2005-2017 гг., и особенно в период до 2012 г. во многом повторяет таковой в середине и конце 80-х гг. – лишь с определенными различиями в уровне зараженности и его изменений по отдельным месяцам. Весной 2012 г. на р. Иртыш не было ни естественного паводка, ни компенсаторного попуска воды. Сеголеток почти не было, что могло быть связано с неблагоприятными условиями для икрометания лягушек. Численные показатели инвазии отловленных лягушек освальдокруцией в течение летних месяцев менялись мало, летнего спада показателей практически не было, а в 2013 г. он был выражен несущественно. В 2014-2017 гг. сезонная динамика показателей зараженности лягушек нематодой *O. filiformis* в целом повторяла тенденцию большинства предыдущих лет исследования: значительный уровень экстенсивности инвазии и индекса обилия весной и в начале лета, спад в период массового выхода лягушат новой генерации и опять подъем в августе (иногда с некоторым спадом в сентябре). Летнее снижение численности нематоды в разные годы приходится на различные месяцы – от начала июня до начала или середины июля, что обусловлено разными сроками выхода сеголеток (главным образом в связи с температурными условиями).

Снижение индекса обилия *O. filiformis* в середине лета, связанное с «разбавлением» попу-

ляции лягушек незараженными сеголетками, не всегда сопровождается снижением интенсивности инвазии (а в отдельные годы отмечается даже повышение этого показателя в июне-июле). Распространение освальдокруции, видимо, происходит в течение всего летнего сезона, а повышение зараженности старых лягушек освальдокруциями в июне-июле является концентрацией половозрелых гемипопуляций нематоды для диссеминации инвазионных элементов во внешнюю среду к моменту массового метаморфоза сеголеток и реинвазии взрослых лягушек к осени.

Среднегодовой уровень интенсивности инвазии и индекса обилия *O.filiformis* достигал максимума в 2006 г. (когда нематоды имели наиболее мелкие размеры). Затем показатели численности существенно снизились в 2009-2010 г., и после небольшого подъема в бесснежный период 2011 года в дальнейшем флюктуировали на сравнительно невысоком уровне. Минимум этих показателей пришелся на 2014 год (при раннем и кратковременном паводке). Затем интенсивность инвазии и индекс обилия испытали небольшой подъем в 2015-2016 гг., и еще немного увеличились в 2017 г. (на фоне значительных летних техногенных попусков). Годовая динамика численности освальдокруций может быть обусловлена колебаниями численности самих хозяев и условиями их размножения.

Сопоставляя имеющиеся данные по увлажненности и растительному покрову поймы р. Иртыш с динамикой линейного роста и показателей зараженности остромордой лягушки *O.filiformis*, можно отметить, что годы нарушения гидрологического режима реки не всегда приводили к снижению показателей инвазии лягушек, а размеры нематод в неблагоприятные периоды даже

статистически достоверно возрастали. Начало и середина 80-х гг. характеризовались, как указывалось выше, относительной сухостью поймы и недостаточностью природоохранных компенсаторных попусков. Но все же в этот период зараженность лягушек была достаточно высокой по сравнению 2005-2017 гг.

С 2012 по 2017 гг. при грубых нарушениях гидрологического режима р. Иртыш (отсутствие компенсаторного попуска в 2012 г., нарушение сроков паводка, избыточные техногенные попуски воды летом и осенью) показатели зараженности лягушек *O.filiformis* снизились, тогда как размеры нематод, напротив, увеличились. В сборах за эти годы увеличилось количество лягушек старше 2-3 лет, в кишечнике которых обычно находились крупные нематоды. Но эти амфибии, вероятно, были мигрантами, которые приходили уже инвазированными освальдокруцией, тогда как для развития личиночных стадий в пойменных биотопах складывались неблагоприятные условия. К числу таких неблагоприятных условий можно причислить: сухую почву, длительное затопление больших участков поймы, бедную растительность (причиной которой были как сухость при отсутствии попуска или кратковременном паводке, так и длительный залив лугов, приводящий к гибели растений). Однако слишком высокая и грубая трава на отдельных возвышенных участках поймы в годы ее длительного залива также неблагоприятна для развития личиночных стадий *O.filiformis* и возможности их попадания в кишечник лягушек.

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

Источник финансирования. Работа носила инициативно-поисковый характер.

Литература

- 1 Рыжиков К.М., Шарпило В.П., Шевченко Н.Н. Гельминты амфибий фауны СССР. – М.: Наука, 1980. – 279 с.
- 2 Шарпило В.П. Паразитические черви пресмыкающихся фауны СССР: систематика, хронология, биология. – Киев: Наукова думка, 1976. – 287 с.: ил.
- 3 Prokopič J., Křivanec K. Helminths of amphibians, their interaction and host-parasite relationship // Prirodověd. pr. Ustavu CSAV Brne'. – 1975 – 9, № 3. – P.48.
- 4 Moravec F., Vojtkova L. Variabilität von zwei Nematodenarten: Oswaldocruzia filiformis (Goeze, 1782) und Oxysomatium brevicaudatum (Zeder, 1800) gemeinsamen Parasiten der Europäischen Amphibien und Reptilien. – Scripta fac. Nat. Sci. UJEP, Brno., Biologia, 1975, № 5. – S.61-76.
- 5 Куранова В.Н. Гельминтофауна бесхвостых амфибий поймы Средней Оби, ее половозрастная и сезонная динамика // В сб.: Вопросы экологии беспозвоночных, – Томск, 1988. – С. 134-154.
- 6 Однокурцев В.А., Седалищев В.Т. К гельминтофауне бурых лягушек Якутии (предварительное сообщение) // Паразитологические исследования в Сибири и на Дальнем Востоке. Материалы II межрегиональной научной конференции, Новосибирск, 15-20 сентября 2005 г. – Новосибирск, 2005. – С. 151-152.

- 7 Борисова В.И. Исследование географического распределения гельминтов у амфибий // *Паразитология*. – 1988. – 22, № 6. – С. 471-475.
- 8 Кудинова М.А., Жерихова Г.В., Петрова О.Е. Гельминтофауна лягушки травяной Южной Карелии. – В сб.: *Гельминты и их промежуточные хозяева*, Петрозаводск, 1985. – С. 24-27.
- 9 Носова К.Ф. Изучение влияния происхождения озер и зональности на гельминтофауну прудовой лягушки. – В сб.: *Гельминты и их промежуточные хозяева*, Петрозаводск, 1985. – С. 42-45.
- 10 Будалова Т.М., Радченко Н.М., Марков Г.С. Влияние антропогенных факторов на состав гельминтоценоза и зараженность озерной и прудовой лягушек гельминтами. – *Фауна и экология амфибий и рептилий*. Межвузовский сборник научных трудов. – Горький, 1984. – С. 74-84.
- 11 Rezvantseva M.V., Chikhlyayev I.V. On Helminthes of Green Frogs in Tambov Region // *Urgent Problems of Herpetology and Toxinology: Coll. of Scient. Works. Tolyatti, 2005. Iss. 8. P. 164–168.*
- 12 Резванцева М.В. Материалы по гельминтофауне озерной лягушки (*Rana ridibunda*) в окрестностях Тамбова // *Вестник ТГУ*, 2008, т. 13, вып. 28. – С. 330-332.
- 13 Резванцева М.В. Сезонная и многолетняя динамика численности гельминтов озерной лягушки (*Rana ridibunda*) в окрестностях Тамбова // *Вестник ТГУ*, 2008, т. 14, вып. 2. – С. 389-393.
- 14 Hendrix W.M.L. Epidemiological Aspects the Infection with *Oswaldocruzia filiformis* (Goeze, 1782) Travassos, 1917 (Nematoda: Trichostrongylidae) in the Common Toad (*Bufo bufo* L., 1785) in the Netherlands. – *Netherlands Journal of Zoology*, 1983, 33 (2). – 99-124.
- 15 Griffin C. *Oswaldocruzia filiformis* (Nematoda: Trichostrongylidae) in frogs (*Rana temporaria*) from three locations in Ireland // *J. Helminthol.* – 1989 – 63, № 1. – P.53-62.
- 16 Марков Г.С., Рогоза М.Л. Сезонные и микроразличия в паразитофауне травяной лягушки. – Доклады Академии Наук СССР, 1953а, т. ХСІ, № 1.
- 17 Марков Г.С., Рогоза М.Л. Возрастная динамика паразитофауны травяной лягушки. – Доклады Академии Наук СССР, 1953б, т. ХСІІІ, № 3.
- 18 Hendrix W.M.L., van Moppes M.C. *Oswaldocruzia filiformis* (Nematoda: Trichostrongylidae): Morphology of Developmental Stages, Parasitic Development and Some Pathological Aspects of the Infection in Amphibians. – *Z. Parasitenkd.*, 1983, 69. – S. 523-537.
- 19 Baker M.R. Development and transmission of *Oswaldocruzia pipiens* Walton, 1929 (Nematoda: Trichostrongylidae) in amphibians. – *Parasitology*, 1978, 4.
- 20 Соболева Т.Н. К гельминтофауне водных амфибий и рептилий Казахстана. – В сб.: *Экология паразитов водных животных*. – Алма-Ата, 1975. – С. 186-192.
- 21 Ваккер В.Г. Популяционные особенности гельминтов прыткой ящерицы в Среднем Прииртышье. – Тез. докл. 8 Всесоюз. сов. зоологов пединститутов, Витебск, 1984. – С. 56-58.
- 22 Ваккер В.Г., Тарасовская Н.Е. 1993 а. Зараженность гельминтами остромордой лягушки *Rana arvalis* в Казахском Мелкосопочнике. – Деп. в КазгосИНТИ 12.08.93 г., № 3971-Ка93.
- 23 Ваккер В.Г., Тарасовская Н.Е. 1993 б. Гельминты амфибий в степной и лесостепной зонах Казахстана. – Деп. в КазгосИНТИ 12.08.93 г., № 3969-Ка93.
- 24 Тарасовская Н.Е. Гельминтофауна остромордой лягушки в естественных и антропогенных биоценозах Павлодарского Прииртышья // Материалы международной научно-практической конференции «Паразитология: современное состояние изученности, актуальные проблемы и пути решения», Семипалатинск, 16-17 ноября 2006 г. – Семипалатинск, 2006. – С. 77-81.
- 25 Ваккер В.Г., Тарасовская Н.Е. Биология *Oswaldocruzia filiformis* в Среднем Прииртышье. – Деп. в ВИНТИ, 1988 а, № 4147-B88. – 27 с.
- 26 Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды. – М.: Колос, 1983. – 208 с.
- 27 Беклемишев В.Н. Биоценологические основы сравнительной паразитологии. – М.: Наука, 1970. – 502 с.
- 28 Лакин Г.Ф. Биометрия [Учеб. пособие для биол. спец. вузов]. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
- 29 Тарасовская Н.Е. Популяционная экология гельминтов теплокровных и холоднокровных позвоночных в экосистемах и агроценозах некоторых регионов Казахстана. Дис. ... докт. биол. наук: 03.00.19. – Алматы: НИВИ АО «КазАгроИнновация», 2007. – 281 с.
- 30 Схема комплексного использования и охраны водных ресурсов бассейна реки Иртыш на территории Республики Казахстан: в 5 т. / Казгипроводхоз. – Алматы, 2011. – Т. 3. – 300 с.
- 31 Бейсембаева М.А., Мазбаев О.Б., Базарбеков К.У. Проблемы качества воды реки Иртыш в пределах Казахстана // *Современные проблемы географии и геологии: матер. III междунар. науч.-практ. конф. с элементами школы-семинара для студентов, аспирантов и молодых ученых*. – Томск, 2014. – С. 513-518.
- 32 Бейсембаева М.А., Базарбеков К.У. Влияние природоохранных попусков на гидрологический режим реки Иртыш в пределах территории Павлодарской области Республики Казахстан // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. – 2015. – Т. 17, №4(5). – С. 781-787.
- 33 Beisembayeva M.A., Kamkin V., Mazbayev O., Bazarbekov K. Effect of environmental water release on the state of flora and vegetation of the steppe plain segment of the Irtysh river floodplain // *Thomson Reuters. Oxidation Communications*. – Sofia, 2016. – Vol. 39, №1. – P. 357-367.
- 34 Zemtsov V.A., Kamkin V.A., Bazarbekov K.U. Dynamics of the Irtysh River Floodplain Hydrology and Vegetation in the Pavlodar Region of the Republic of Kazakhstan // In: *Riparian Zones: Characteristics, Management Practices and Ecological Impacts*. – New York: NOVA SCIENCE PUBLISHERS INC, 2016. – Ch. 9. – P. 211-230.

References

- 1 Baker M.R. Development and transmission of *Oswaldocruzia pipiens* Walton, 1929 (Nematoda: Trichostrongylidae) in amphibians. – *Parasitology*, 1978, 4. (In English)
- 2 Beisembayeva M.A., Kamkin V., Mazbayev O., Bazarbekov K. Effect of environmental water release on the state of flora and vegetation of the steppe plain segment of the Irtysh river floodplain // Thomson Reuters. Oxidation Communications. – Sofia, 2016. – Vol. 39, №1. – P. 357-367. (In English)
- 3 Beisembayeva M.A., Mazbayev O., Bazarbekov K.U. Problems of water quality in Irtysh river within Kazakhstan // Modern problems of geography and geology: proceeding of III International scientific-practical conference with elements of seminar school for the students, postgraduate students and young scientists. [Problemy kachestva vody reki Irtysh v predelakh Kazakhstana // Sovremennye problemy geographii i geologii: materialy III mezhdunarodnoi naučno-prakticheskoi konferentsii s elementami shkoly-seminara dlja studentov, aspirantov i molodyh uchenyh] – Tomsk, 2014. – 513-518. (In Russian)
- 4 Beisembayeva M.A., Bazarbekov K.U. Influence of natural-preserving artificial spring-floods to hydrology regime of Irtysh river within territory of Pavlodar region of Kazakhstan Republic // Bulletin of Samara scientific center of Russian Academy of Science. 2015. V. 17, №4(5). – P.781-787. [Vlijanie prirodoohrannyh popuskov na gidrologicheskij rezhim peki Irtysh v predelakh Pavlodarskoj oblasti Respubliki Kazakhstan // Izhvestija Samarskogo nauchnogo tsentra Rossijskoj Akademii Nauk. 2015. Tom 17, №4(5). – 781-787]. (In Russian)
- 5 Beklemishev V.N. Biocenological grounds of comparative parasitology. M.: Science, 1970. – 502 p. [Biotsenologicheskije osnovy sravnitel'noj parazitologii. – M.: Nauka, 1970. – 502]. (In Russian)
- 6 Borisova V.I. Study of geographical distribution of helminthes in amphibian // *Parasitology*/ 1988. 22, № 6. – P. 471-475. [Issledovanije geograficheskogo raspredelenija gel'mintov u amfibij. – *Parazitologija*, 1988. 22, № 6. – P. 471-475]. (In Russian)
- 7 Budalova T.M., Radchenko N.M., Markov G.S. Influence of anthropogenic factors to the helminthes association composition and infection of lake and pond frogs by helminthes/ Fauna and ecology of amphibians and reptilians. Inter-university anthology of scientific works [Vlijanie antropogennyh faktorov na sostav gelmintostenosa and zarazhennost' ozernoi i prudovoi ljagushek gelmintami / Fauna i ecologia amfibij i reptilij. Mezhvuzovskij sbornik nauchnyh trudov] Gorky, 1984: 74-84. (In Russian)
- 8 Griffin C. *Oswaldocruzia filiformis* (Nematoda: Trichostrongylidae) in frogs (*Rana temporaria*) from three locations in Ireland // *J. Helminthol.* – 1989 – 63, № 1. – P.53-62. (In English)
- 9 Hendrix W.M.L., van Moppes M.C. *Oswaldocruzia filiformis* (Nematoda: Trichostrongylidae): Morphology of Developmental Stages, Parasitic Development and Some Pathological Aspects of the Infection in Amphibians. – *Z. Parasitenkd.*, 1983, 69. – S. 523-537. (In English)
- 10 Hendrix W.M.L. Epidemiological Aspects the Infection with *Oswaldocruzia filiformis* (Goeze, 1782) Travassos, 1917 (Nematoda: Trichostrongylidae) in the Common Toad (*Bufo bufo* L., 1785) in the Netherlands. – *Netherlands Journal of Zoology*, 1983, 33 (2). – 99-124. (In English)
- 11 Kotelnikov G.A. Helminthological research of animals and environment. – Moscow: Spike, 1983. – 208 p. [Gelmintologicheskije issledovanija zhivotnykh i okruzhajushey sredy. – Moskva: Kolos, 1983]. M., 1983 – 208. (In Russian)
- 12 Kudinova M.A., Zherichova G.V., Petrova O.E. Helminthes fauna of grass frog in Southern Karelia. // Helminthes and their intermediate hosts. [Gel'mintofauna ljagushki travjanoi Juzhnoi Karelii. V sbornike: Gel'minty i ih promezhutochnyje hozjaeva] Petrozavodsk, 1985: 24-27. (In Russian)
- 13 Kuranova V.N. Helminthes fauna of anural amphibians of Middle Ob flood-land, it's sex, age and seasonal dynamics // Problems of invertebrate ecology [Gel'mintofauna beshvostyh anfibij poimy Srednei Obi, ee polovozrastnaja i sezonnaja dinamika // V sbornike: Voprosy ekologii bespozvonochnyh]. – Tomsk, 1988: 134-154. (In Russian)
- 14 Lakin G.F. Biometry [Educative text-book for biological specialties of higher school]. – Moscow: Higher School, 1980. – 293 p. [Biometrija. Uchebnoje posobie dlja biologicheskikh special'nostey vuzov. Moskva: Vysshaja shkola]. M., 1980: 293. (In Russian)
- 15 Markov G.S., Rogoza M.L. Seasonal and-micro-zonal diversities in parasites fauna of grass frog // Report of USSR Academy of Sciences. [Sesonnyje i mikrozonal'nyje razlichija v parazitofaune travjanoi ljagushki // Doklady Akademii Nauk SSSR] 1953 a, v. XCI, № 1. (In Russian)
- 16 Markov G.S., Rogoza M.L. Age dynamics of parasites fauna of grass frog // Report of USSR Academy of Sciences. [Doklady Akademii Nauk SSSR] 1953 a, v. XCIII, № 3. (In Russian)
- 17 Moravec F., Vojtkova L. Variabilität von zwei Nematodenarten: *Oswaldocruzia filiformis* (Goeze, 1782) und *Oxysomatium brevicaudatum* (Zeder, 1800) gemeinsamen Parasiten der Europäischen Amphibien und Reptilien. – *Scripta fac. Nat. Sci. UJEP, Brun., Biologia*, 1975, № 5. – S.61-76. (In German)
- 18 Nosova K.F. Study on influence of lakes' origin and zonal position to the helminthes fauna of pod frog // In anthology: Helminthes and their intermediate hosts. [Izuchenije proishozhdenija ozer i zonal'nosti na gel'mintofaunu prudovoi ljagushki. V sbornike: Gel'minty i ih promezhutochnyje hozjaeva] Petrozavodsk, 1985: 42-45. (In Russian)
- 19 Odnokurtsev V.A., Sedalischev V.T. To the helminthes fauna of brown frogs of Yakut (preliminary report) // Parasitological studies in Siberia and Far East. Proceeding of II Interregional scientific conference, Novosibirsk, 15-20 of September 2005 [K gel'mintofaune buryh ljagushek Yakutii (predvaritel'noe soobschenie) // Parazitologicheskije issledovanija v Sibiri i na Dal'nem Vostoke. Materialy II mezhhregional'noi naučnoi konferentsii, Novosibirsk, 15-20 sentjabrja 2005] Novosibirsk, 2005: 151-152. (In Russian)
- 20 Prokopič J., Krivanec K. Helminths of amphibians, their interaction and host-parasite relationship // *Prirodovéd. pr. Ustavu CSAV Brne'*. – 1975 – 9, № 3. – P.48. (In English)

-
- 21 Rezvantseva M.V., Chikhlyayev I.V. On Helminthes of Green Frogs in Tambov Region // Urgent Problems of Herpetology and Toxinology: Coll. of Scient. Works. Tolyatti, 2005. Iss. 8. P. 164–168. (In English)
- 22 Rezvantseva M.V. Materials on helminthes fauna of lake frog (*Rana ridibunda*) in the neighborhoods of Tambov // TSU Bulletin, 2008, vol. 14, issue 28: 330-332 [Materialy po hel'mintofaune ozernoi l'jagushki (*Rana ridibunda*) v okrestnostjakh Tambova // Vestnik TGU, 2008, t. 14, vyp. 28: 330-332]. (In Russian)
- 23 Rezvantseva M.V. Seasonal and long-year dynamics of helminthes' quantity in lake frog (*Rana ridibunda*) in the neighborhoods of Tambov // TSU Bulletin, 2008, vol. 14, issue 2: 389-393 [Materialy po hel'mintofaune ozernoi l'jagushki (*Rana ridibunda*) v okrestnostjakh Tambova // Vestnik TGU, 2008, t. 14, vyp. 2: 389-393]. (In Russian)
- 24 Ryzhykov K.M., Sharpilo V.P., Shevchenko N.N. Helminthes of amphibian of USSR fauna. – Moscow: Science, 1980. – 279 p. [Gel'minty amfibiy fauny SSSR. M.: Nauka. M., 1980. – 279. (In Russian)]
- 25 Scheme of complex using and preservation of water resources of Irtysh river basin on the territory of Kazakhstan Republic: in 5 vol. /Kazgiprovodhoz [Shema kompleksnogo ispolzovaniya i ohrany volnykh resursos basseina reki Irtysh na territorii Respubliki Kazakhsran: v 5 t. /Kazgiprovodhoz] Almaty, 2011. V. 3: 300. (In Russian)
- 26 Soboleva T.N. To the helminthes fauna of water amphibians and reptilians of Kazakhstan /Ecology of parasites of water animals. [K gel'mintofaune vodnykh amfibij i reptilij Kazakhstana /V sbornike: Ekologiya parazitov vodnykh zhivotnykh] Alma-Ata, 1975: 186-192. (In Russian)
- 27 Tarassovskaya N.E. Helminthes fauna of moor frog in the natural and anthropogenic ecosystems of Pavlodar Irtysh basin // Proceeding of International scientific-practice conference "Parasitocoenology: today research status, actual problems and ways of solution, Semipalatinsk, 16-17 of November 2006 [Gel'nimtofauna ostromordoi l'jagushki v estestvennykh i antropogennykh biocenozakh Pavlodarskogo Priirtyshja / Materialy II mezhr regional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii "Pasazitotsenologia: sovremennoje sostojaniye izuchennosti, aktualnyje problem i puti reshenija", Semipalatinsk, 16-17 nojabrja 2006] Semipalatinsk, 2006: 77-81. (In Russian)
- 28 Tarassovskaya N.E. Population ecology of helminthes in warm-blooded and cold-blooded vertebrates in ecosystems and agrocenosis of several regions of Kazakhstan. Thesis ... doctor of biological sciences: 03.00.19 [Populatsionnaja ekologiya gel'mintov teplokrovnykh i holodnokrovnykh pozvonochnykh v ekosistemah i agrotsenozah nekotorykh regionov Kazakhstana. Dis. ...dokt.biol. nauk: 03.00.19] Almaty: NIVI (Kazakh Research scientific Veterinary Institute) AO (Joint-stock company) "KazAgroInnovation", 2007: 281. (In Russian)
- 29 Sharpilo V.P. Parasitic worms of reptilians of USSR fauna: systematics, chronology, biology [Parasiticheskiye chervil presmykajuschihca fauny SSSR: sistematika, chronologija, biologija] Kiev: Naukova dumka, 1976: 287. (In Russian)
- 30 Vakker V.G. Population peculiarities of sand lizard helminthes in Middle Irtysh basin. Thesis of reports of 8 Soviet Union Conference of zoologist of pedagogical Institutes [Populatsionnyje osobennosti gel'mintov prytkoi jascheritsy v Srednem Priirtyshje. Tezisy dokladov 8 Vsesojuznogo soveschaniya zoologov pedinstitutov] Vitebsk, 1984: 56-58. (In Russian)
- 31 Vakker V.G., Tarassovskaya N.E. Biology of *Oswaldocruzia filiformis* in Middle Irtysh basin. Deponent in VINITI (Soviet Union Institute of Scientific and Technical Information) [Biologija *Oswaldocruzia filiformis* v Srednem Priirtyshje. Dep. v VINITI, № 4147-B88]. 1988a: 27. (In Russian)
- 32 Vakker V.G., Tarassovskaya N.E. Infection of moor frog *Rana arvalis* by helminthes in Kazakh Melkosopochnik Deponent in KazGosINITI (Kazakhstan State Institute of Scientific and Technical Information) [Zarzhennost' gelmintami ostromordoi l'jagushki *Rana arvalis* v Kazakhkom Melkosopochnike Dep. v KazGosINITI 12.08.93, №3971-Ka93]. 1993a. (In Russian)
- 33 Vakker V.G., Tarassovskaya N.E. Helminthes of amphibians in steppe and forest-steppe zones of Kazakhstan. Deponent in KazGosINITI (Kazakhstan State Institute of Scientific and Technical Information) [Gelminty amfibij v stepnoi i lesostepnoi zonah Kazakhstana. Dep. v KazGosINITI, 12.08.93, №3969-Ka93]. 1993b. (In Russian)
- 34 Zemtsov V.A., Kamkin V.A., Bazarbekov K.U. Dynamics of the Irtysh River Floodplain Hydrology and Vegetation in the Pavlodar Region of the Republic of Kazakhstan // In: Riparian Zones: Characteristics, Management Practices and Ecological Impacts. – New York: NOVA SCIENCE PUBLISHERS INC, 2016. – Ch. 9. – P. 211-230. (In English)

7-бөлім
**АДАМ ЖӘНЕ ЖАНУАРЛАР
ФИЗИОЛОГИЯСЫ**

Section 7
**HUMAN AND ANIMALS
PHYSIOLOGY**

Раздел 7
**ФИЗИОЛОГИЯ
ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

**Дәулет Д.Г.¹, Сатыбалдина А.Е.¹, Ұлықбекова А.О.¹, Есжан Б.Ғ.¹,
Сарсенбаева Ұ.Б.¹, Сазанова А.А.¹, Атанбаева Г.Қ.²,
Төлеуханов С.Т.², Әбдірешов С.Н.²**

¹Қазақ Спорт және Туризм Академиясы, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: snabdreshov@mail.ru

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

ОҚУ ҮРДІСІНЕ ЕГЕУҚҰЙРЫҚТАРҒА ЭНТЕРОСОРБЕНТТІ ЕНГІЗГЕННЕН KEЙІНГІ ҚАН ЖАСУШАЛАРЫ МЕН ФИЗИКА-ХИМИЯЛЫҚ ӨЗГЕРІСТЕРІН ЗЕРТТЕУ ӘДІСІН ЕНГІЗУ

Организм клеткаларының қалыпты жағдайда тіршілік етуіне ішкі орта құрамының және қан клеткаларының салыстырмалы жағдайда тұрақты болуына біркелкі жағдай жасайды. Бұл үдеріс көптеген мүшелердің қызметі арқылы іске асырылады. Бұл зерттеудің нәтижелері организмге экстремальды факторлар әсер еткенде лимфа жүйесінің қатысуымен адаптивті реакциялар жүзеге асатынын көрсетеді. Бұл организмге экстремальды факторлардың теріс әсерін төмендетуге бағытталған лимфа ағысының және лимфа түйіндерінің моторикасының, лимфа құрамының өзгеруі түрінде көрінеді. Зерттеу барысында лимфа жүйесіне улы заттардың әсерін зерттеу жұмыстарының нәтижелері берілген. Ұзақ уақыт бойы органикалық улар қабылдаған егеуқұйрықтардың лимфа ағысы, артериялық қысымы, жалпы белок құрамы, лимфа мен қан тұтқырлығы және калий иондарының концентрациясы төмендеген өзгерістерін байқаймыз. Біздің тәжірибемізде детоксикант ретінде сорбент СУМС-1 (1г/кг) қолдану, органикалық улар нәтижесінде болған өзгерістерді біршама қалпына келгендігін байқаймыз, жалпы алғанда: лимфа ағысы мен лимфа құрамына және қан клеткаларының элементтеріне, физикалық-химиялық және биохимиялық көрсеткіштеріне оң әсері бер екендігі анықталды. Энтеросорбенттерді қолдану органикалық улардың лимфадинамика және лимфа құрамына теріс әсерін біршама төмендетті. Егеуқұйрықтарға сорбент бергеннен кейін қан клеткалары көрсеткіштерінің қалпына келуі, сорбент СУМС-1 сорбциялық қасиетінің жоғары екендігін көрсетеді. Сорбент СУМС-1 өз кезегінде уланудан кейін болған организмде болған өзгерістерді біршама бастапқы қалпына келтіретіндігі анықталды. Ғылыми-зерттеу жұмыстарының жетістіктерін оқу бағдарламаларына сай енгізу оқытудың қазіргі заманға сай білім алушылардың қызығушылығын оятып ғана қоймай, алған білімдерін келешекте кәсіби тәжірибесінде пайдалануды қамтамасыз етеді. Сонымен қатар, білім алушыларды жобалық зерттеу жұмысы, ғылыми жұмыстардың байқауы және т.с.с. зерттеушілік қызметке белсенді араласуға үлесін қосады.

Түйін сөздер: сорбент, лимфа, эритроцит, лейкоцит, лимфоцит, гемоглобин, тетрахлорметан.

**Daulet D.G.¹, Satybaldina A.E.¹, Ulykbekova A.O.¹, Eszhan B.G.¹, Sarsenbaeva U.B.¹,
Sazanova A.A.¹, Atanbaeva G.K.², Toleukhanov S.T.², Abdyreshov S.N.²**

¹Kazakh Academy of Sport and Tourism, Kazakhstan, Almaty, e-mail: snabdreshov@mail.ru

²Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

Introduction into the educational process the results of the study of changes in blood cells and physical-chemical indices in rates after injection of enterosorbents

The normal state of the body cells is unrivaled due to the presence of the internal environment and the stable circulation of blood cells. This process goes through the activity of many parts of the body. The results of this study show that the lymphatic system includes adaptive reactions caused by excre-

tory factors in the body. It is shown in the form of changes in the lymph node, mobility of lymph nodes, lymphatic composition, which is aimed at reducing the effect of extreme factors in the body. During the study, the lymphatic system revealed the results of studies of toxic substances. During long-term use of organic poisons, we can notice changes in lymphatic flow, arterial pressure, total protein composition, lymphatic and viscous blood pressure, and changes in potassium ion concentrations in rats. In our experience we used sorbent SUMS-1(1g/kg) as detoxicant. In general :it has positive effect on lymphatic and lymphatic components, on blood cells, on the physico-chemical and biochemical outcome. The use of enterosorbents rapidly decreased the negative effects of organic poison to lymphodynamics and lymphatic structure. After the sorbents, the biochemical and physico-chemical properties of the plasmids and lymph improved. This determines the highest concentration of sorbent in SUMS-1. Introduction of the achievements of scientific research in accordance with the curriculum, showing the interest of modern students and ensuring the use of acquired knowledge in future professional practice. Manifest an active part in the holding research work, research competitions and etc.

Key words: sorbent, lymph, erythrocyte, leucocyte, lymphocyte, hemoglobin, tetrahydrofuran.

Дәулет Д.Г.¹, Сатыбалдина А.Е.¹, Ұлықбекова А.О.¹, Есжан Б.Ф.¹, Сарсенбаева Ұ.Б.¹, Сазанова А.А.¹, Атанбаева Г.Қ.², Төлеуханов С.Т.², Әбдірешов С.Н.²

¹Казахская Академия Спорта и Туризма, Казахстан, г. Алматы, e-mail: snabdreshov@mail.ru

²Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

Внедрение методики в учебный процесс результатов исследования изменений клеток крови и физико-химические показатели у крыс после введения энтеросорбентов

На функционирование клеток организма в обычных нормальных условиях создает условия состояние состав внутренней среды и клетки крови. Этот процесс реализуется с помощью множества функций организма. Исследование показало, что при влиянии экстремальных факторов на организм было воплощено адаптированные реакции с участием лимфотических систем. В результате было замечено, что при влиянии экстремальных факторов лимфоток и моторика лимфотических узлов, состав лимфы полностью изменяются. В результате исследования выявлено влияние токсических веществ на лимфатическую систему. В группе которая принимала долгое время токсические вещества, изменяется вязкость крови и лимфы, общий состав белка, изменяется артериальное давление, замечено небольшое изменение концентрации ионов К. В нашем опыте следует использовать СУМС-1 (1г/кг) как детоксикант, после его применения влияние токсических веществ снизилось и их состояние животных намного улучшилось. В общем, говоря о составе лимфы и лимфоток, элементах крови физико-химических и биохимических показателей крови имеются положительные результаты. При использовании энтеросорбентов было снижение органических детоксикантов в лимфоток и составе лимфы. После применения сорбентов восстановление клеток крови показывает, что у (СУМС-1) сорбционные свойства высокие. В свою очередь, после отравления и применения сорбентов СУМС-1 установлены изменения в организме, что говорит об его восстановлении. Внедрить достижения научно исследовательской работы в соответствии с учебной программой, проявляя интерес современных обучающихся и обеспечить использование полученных знаний в будущей профессиональной практике. Проявлять активное участие в проведении проектно-исследовательской работы, конкурсов научных работ и т.д.

Ключевые слова: сорбент, лимфа, эритроцит, лейкоцит, лимфоцит, гемоглобин, тетрагидрофур.

Қысқартулар

СУМС – Синтетикалық Уникалды Мәскеулік Сорбент, ВОЗ – всемирная организация здравоохранения, ВК – вискозиметр, ССІ₄ – тетрахлометан, Ph – водородный показатель, УМКД – учебно-методический комплекс дисциплин

1. Кіріспе

Тірі организмнің тепе-теңдігін бұзатын экстремальды жағдайларда (органикалық және

неорганикалық улармен, оның ішінде бензол, ССІ₄, толуол және ауыр металл иондарымен улану) организмнің ортаға бейімделу реакциясы кезінде қан мен лимфа жүйесінің маңызы және пайда болған ауытқуларды қалпына келтіру жолдарында олардың басты ролін зерттеу өзекті мәселелер болып отыр. Улы заттар адам организмінде көптеген әртүрлі аурулар тудырады [1]. Жүрек-қан тамыр жүйелерінің ауруы кезінде инфаркт, инсульт, бітелген эндоартрит, тромбоздар сияқты ауыр асқынулар кезінде ұзақ уақыт еңбекке жарамсыздық пен мүгедектікке

алып келетіні байқалады. Белгілі болғандай, көптеген жүрек-қан тамыр жүйесі аурулары қан мен лимфа жүйесінің патологиялық үдерістерге қатысуына алып келеді, ал олар өз кезегінде өзінің қорғаныштық-компенсаторлық және тасымалдау қызметтері арқылы аурулардың өтуін және организмнің күйін өзгертуі мүмкін [2].

Осыған байланысты қан жүйесі мен лимфа жүйесінің организмнің әртүрлі жағдайында қорғаныштық-компенсаторлық және оның ұлпаларда дренаждық қызметінің теориялық және практикалық маңызы зор, сондықтан да мүшелер мен ұлпалардың органикалық улармен улану кезіндегі және оны бастапқы қалпына келтіруде жасанды сорбентті қолданудан кейінгі қан және қанның физикалық және химиялық көрсеткіштері туралы мәліметтер кездеспейді.

Қазіргі таңда ғылыми-зерттеу университеттерінің, жалпы мемлекетіміздің тұтас білім беру жүйесінің алдында тұрған басты міндеттердің бірі – оқу процесінде ғылыми зерттеулер мен зерттемелердің рөлін арттыру және ЖОО-ның ғылыми потенциалын тұрақты экономикалық дамудың негізгі ресурстарының біріне айналдыру [3,4]. Құбылмалы әлеуметтік-экономикалық жағдайларға тез бейімделіп кете алатын жоғары білікті жаңа буын мамандарын даярлау өзекті мәселелердің бірі және ол оқыту процесінің барлық кезеңдерінде жүзеге асырылуы тиіс, ол бакалавриаттың бірінші курсынан басталып, магистратура мен докторантурада шындала түсуі қажет. Ғылыми-зерттеу жұмыстарының жетістіктерін оқу бағдарламаларына енгізу оқытудың қазіргі заманға сай өзектілігін, жоғары ғылыми-әдістемелік деңгейін, білім алушылардың жаңа білімдерді алуға деген қызығушылығын және алған білімдерін келешекте кәсіби тәжірибесінде пайдалануды қамтамасыз етеді [5].

Органикалық улы заттар төртхлорлы көмірсутек, бензол, толуол, ацетон, бензеперин және т.б. адам организміне кері әсері өте жоғары. Бұлар бір жағынан өнеркәсіпте кеңінен қолданылады. АҚШ-тың токсинді заттар мен ауруларды есептейтін Агенттіктің мәліметтері бойынша (US Agency for Toxic Substances and Disease Registry) XX ғасырдың 60-80 жылдары төртхлорлы көмірсутек АҚШ-та химиялық тазалауда тазалаушы зат және тұрмыста дақ кетіргіш ретінде, сонымен қатар өрт сөндіргіштерде де кеңінен қолданылды [6]. Бұдан басқа төртхлорлы көмірсутек май, техникалық майлар, лак, шайыр, сабын, кабельдер мен жартылай өткізгіштер өндірісінде және полимерлер өндірісінде каталитикалық орта ретінде (әсіресе

нейлон-7 синтезінде), органикалық заттардың хлорлау процессінде де қолданыс тапты. Алайда АҚШ-та 1986 жылдан кейін бұл мақсаттарда төртхлорлы көмірсутекті қолдану шектелді немесе оны қолдануға толықтай тыйым (мысалы, пестицидтер ретінде) салынды [7]. Төртхлорлы көмірсутектің көзі болып адам әрекеті болып табылады. Тез ұшқыштығына байланысты, төртхлорлы көмірсутек атмосфераға тікелей өндіріс және оны басқа өндіріс процесстерінде қолданған кезінде түседі. Ауада төртхлорлы көмірсутек газ ретінде болады және басқа химиялық заттарға ыдырағанға дейін ұзақ жылдар сақталуға қабілетті [8].

Тропосферада 8-10 км биіктікте полярлыда, 10-12 км қоңыржайда және 16-18 км тропикалық ендікте 35-50 жылға дейін сақталуға қабілетті. Төртхлорлы көмірсутекның ыдырауы фотолиз арқасында (яғни күннің ультракүлгін сәулесін жұту нәтижесінде химиялық өзгеріске ұшырау) стратосферада жүреді [9-11]. Бұл процесс өте баяу жүреді және төртхлорлы көмірсутекның өндірісі азайтылғанына қарамастан, атмосферада әлі де көбеюі байқалуда, бұл жердің озон қабатының бұзылуына алып келеді және ғаламшарда климаттың жылуына әсер ететін «парниковый эффектті» тудырады. Төртхлорлы көмірсутекның ыдырауы кезінде пайда болған хлордың атомы озонның 104 молекуласын жояды [12].

Топырыққа төртхлорлы көмірсутек химиялық өндіріс тасталу кезінде түсуі мүмкін. Негізінен төртхлорлы көмірсутек буланып, топырақта тұрмайды, бірақ оның бөлігі жер асты суларына түсуі мүмкін. Жер үсті суларына да төртхлорлы көмірсутек өзінің технологиялық циклында қолданатын тұрмыстық өндірістің тасталуы нәтижесінде түседі.

Судың бетінде төртхлорлы көмірсутек аз болады. Өзінің жоғары ұшқыштығы арқасында бірнеше күн, көп болса апта ішінде атмосфераға буланады. Алайда егер ол жер асты суларына түссе ұзақ жылдар бойы сақталады. Суда 25 °С температурада жартылай ыдырауы 7000 жылды құрайды [13].

Дүние жүзілік ауыз суында төртхлорлы көмірсутек 0,5 мкг/л құрайды. Осы шамадан асып кетуі өндіріс объектітерінің қасында, сонымен қатар химиялық қалдықтар көмілген жерлерде байқалады. Бұл жағдайда суда төртхлорлы көмірсутекның концентрациясы он немесе тіпті мың мкг/л-ға дейін жетеді.

Негізгі ағзаға түсу жолы тыныс алу болып табылады. Бұл химиялық заттың тағамдарда

болуы шектеулі, және ДСҰ-ның бағалауы бойынша ағзаға тамақ және сумен түсуі өте төмен. Бұл мәліметтерді АҚШ-тың токсинді заттар мен ауруларды есептейтін Агенттік (US Agency for Toxic Substances and Disease Registry) растайды [14]. Соған сәйкес дүние жүзі бойынша адаммен төртхлорлы көмірсутекті тәуліктік қолданылуы 0,1 мкг деңгейінде, ал сумен түсуі тек 0,01 мкг құрайды [15-17].

Тетрахлорды жұту кезінде ағзаға оның мөлшерінің 30-40 % дейін түседі. Сумен қолданғанда бұл көрсеткіш 85-91 % құрайды. Ағзада төртхлорлы көмірсутектің негізгі бөлігі май ұлпаларында сақталады. Бірақ төртхлорлы көмірсутектің көп бөлігі ағзадан тез шығарылады.

Жануарларға жасалынған тәжірибелер көрсеткендей, 34-75 %-ы тыныс алу, 20-65 % – үлкен дәретпен, ал біршама бөлігі тек несеп арқылы сыртқа шығарылады [18]. Төртхлорлы көмірсутекті организммен толық шығару үшін бірнеше апта кетеді. Тірі организмде төртхлорлы көмірсутек еш өзгермейді, тек біршама мөлшері хлороформ, гексахлорэтан және көміртегінің қос тотығы тәрізді қоспалар түзуі мүмкін, әрі мұның өзі адам денсалығына кері әсерін тигізеді [19,20].

Төртхлорлы көмірсутекті көп мөлшерде жұтып немесе сумен ішкенде, тіпті аз уақыт ішіндегі әсері көбінесе бауырға тиеді [21]. Бұл кезде майдың интенсивті жиналуы мен бауыр көлемінің үлкеюі байқалады, ауыр жағдайларда – бауыр жұмысының бұзылуына алып келетін бауыр клеткаларының зақымдануы немесе бұзылуы. Сонымен қатар аса сезімтал мүше бүйрек болып табылады. Төртхлорлы көмірсутекпен әсер етуінің нәтижесінде зәр түзілу процесі бұзылып, ағзада су жиналып (әсіресе өкпеде), қанда токсинді заттардың концентрациясы жоғарылайды [22]. Төртхлорлы көмірсутекпен қатты уланған адамдарда бүйрек жұмысының бұзылуы олардың өліміне алып келеді [23,24]. Егер төртхлорлы көмірсутекпен әсер аз уақытты қамтыса, бауыр мен бүйрек зақымдануы қайтымды сипатта болып, олардың жұмысы уақыт өте келе қалпына келеді.

Төртхлорлы көмірсутекпен үлкен концентрацияда аз уақыт ішіндегі әсері орталық жүйке жүйесінің бұзылуына алып келе алады [25]. Бұл кезде интоксикацияның барлық белгілері байқалады: бастың ауыруы, айналуы, жүрек айнуы мен құсу, ұйқышылдық. Әдетте бұл белгілер зиян әсерді тоқтатқаннан соң кетеді, алайда

ауыр жағдайларда кома немесе тіпті летальды нәтижеге алып келуі мүмкін.

ДСҰ-ның жүргізген зерттеулер нәтижесінде төртхлорлы көмірсутектің тәуліктік қолдану көлемі анықталды. Бұл дене массасының 0,714 мкг/кг тең және осы мөлшерге сүйене суда болу дәрежесі бойынша ұсыныс жасалды – 2 мкг/л [26]. Біршама авторлар айтылған ағзаға әсерлерінің негізгі себебі, ауыр металдардың иондары тиолды улар рөлін атқара алатындығында деп санайды. Құрамында тиол бар қосылыстар болып кейбір ферменттер, күкірт бар аминқышқылдар, пептидтер, белоктар және де т.б. биологиялық маңызды қосылыстар саналады. Ауыр металдар әсерінен бұл заттардың инактивациясы ағзада метаболизм процесстерінің бұзылуы мен оның қалыпты қызмет етуінің бұзылуын тудырады.

2. Зерттеу материалдары мен әдістері

Қан клеткаларының морфологиясын: эритроциттер, лейкоциттер мен тромбоциттер мөлшерін анықтау Sysmex KX-21 – гематологиялық анализаторында (Жапония) және қандағы оттегі мөлшері мен рН көрсеткіші және иондардың мөлшері OSMETECH OPTI™ CCA – анализаторларында (АҚШ) анықталды [27]. Қан мен лимфаның физика-химиялық көрсеткіштері: қан мен лимфа ұю уақыты Сухарев әдісімен, олардың тұтқырлығы ВК-4 вискозиметрінде, гематокритті жалпыға танымал әдіспен анықталды [28].

3. Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Егеуқұйрықтардың қалыпты және CCl_4 уландырудан кейін қан жасушаларын және оның физика-химиялық көрсеткіштері. Гематокритті көрсеткіштер мәліметтері бойынша қанның плазмалық бөлігі төмендегені байқалады. Гематокрит бойынша қан клеткаларының көлемі уланған егеуқұйрықтарда артып, орташа есеппен 11–15 % құрады. Организмдегі әртүрлі өзгерістері кезінде қан клеткалары өздерінің қасиеттеріне сәйкес біршама қызметтер атқарады. Уландан 10 күннен кейін эритроциттер санының 8,9 %-ға төмендегені, ал уландан 30 күннен кейін бұл көрсеткіштің 17,14 %-ға артқандығы байқалады (бақылау тобында $8,87 \pm 0,1$ mmol/L) (кесте 1). Қалыпты жағдайда лейкоциттер саны $6,79 \pm 0,2$ mmol/L, уландан 10 күннен кейін $4,62 \pm 0,1$ mmol/L дейін төмендеді, бірақ уландан 30 күннен кейін лейкоциттер саны 80,47 %-ға артқандығы байқалады.

1-кесте – Егеуқұйрықтардың улану кезіндегі қан жасушаларының көрсеткіші

Көрсеткіштер	Бақылау тобы	Уланудан 10 күннен кейін	Уланудан 30 күннен кейін
Эритроциттер, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	8,87±0,1	8,08±0,3	10,39±0,4*
Лейкоциттер, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	6,79±0,2	4,62±0,1*	12,25±0,2*
Тромбоциттер, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	425±12	571,3±12**	653±15*
Гемоглобин, g/dl	12,9±0,6	16,7±0,2*	15,8±0,3*
Гематокрит, %	48±1,3	55±1,2	57±1,4*
Лимфоциттер, %	55,7±1,8	52,1±0,7*	78,4±0,2**
Лимфоциттер, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	15,3±0,8	22,9±0,7**	29,4±0,2**

Ескерту: * – бақылау тобымен салыстырған жағдайда, $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$

Уланудан 10 және 30 күннен гемоглобин және гематокрит деңгейі бастапқы кезеңмен салыстырғанда жоғары болды. Егеуқұйрықтар қанындағы гемоглобин мөлшері бақылау тобында 12,9, ал уланудан 10 және 30 күннен кейін 16,7 және 15,8 g/dl. Бақылау тобындағы жануарларда лимфоциттер көрсеткіші 59,08 %, ал уланудан 10 және 30 күннен кейін сәйкесінше 1,3 және 1,2 есе ($p < 0,05$) артты. Қандағы моноциттер көрсеткіші қалыпты жағдайда 14,15 % болса, уланудан 10 және 30 күннен кейін бұл көрсеткіштер 35,8 және 47,9 %-ға төмендегенін көрсетті. Улану-

дан 10 және 30 күннен кейін тромбоциттер саны бақылау тобымен салыстырғанда 2,3 есеге артты ($p < 0,01$).

Тәжірибеден алған мәліметтер бойынша уландырудан кейін қанның рН көрсеткіші ацидоз бағытына өзгергендігін көрсетеді. Қандағы рН көрсеткіші бақылау тобымен салыстырғанда алғашқы 10 күндікте 4,9 %-ға, ал 30 күннен кейін 0,8 %-ға ($p < 0,05$) төмендегендігін (бақылау тобында рН 7,45) көрсетті (кесте 2). Бұл мәліметтер лимфа жүйесінің алмасу функциясының төмендегенін көрсетеді.

2-кесте – Улану кезіндегі қан мен лимфаның физикалық-химиялық көрсеткіші

Көрсеткіштер	Бақылау тобы	Уланудан 10 күннен кейін	Уланудан 30 күннен кейін
Лимфа ағысы, мл/сағ	0,32±0,004	0,25±0,004*	0,29±0,004
Қандағы рН	7,45±0,06	7,08±0,02**	7,39±0,03*
Қанның ұю уақыты, мин	3,5±0,4	2,8±0,3*	2,5±0,5*
Лимфаның ұю уақыты, мин	4,3±0,1	3,9±0,5*	3,1±0,4*
Қанның тұтқырлығы, СП	3,4±0,8	3,9±0,7*	4,7±0,7**
Лимфаның тұтқырлығы, СП	1,8±0,04	2,8±0,02*	3,1±0,08**

Ескерту: * – бақылау тобымен салыстырған жағдайда, $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$

Улану кезінде ұю жылдамдығының көрсеткіштерінің лимфа мен қанда өте қатты өзгерістерге ұшырауы, әсіресе қандатромбогендік қасиеттерінің артатындығын көрсетеді. Жануарларды ұшпалы органикалық умен уландыру кезінде Сухарев әдісімен лимфа мен қанның ұюы бақылау тобымен салыстырғанда алғашқы 10 күндікте 2,8 және 3,9 минут болды, ал 30 күннен кейін бұл көрсеткіштер 2,5 және 3,1 минут болды өз кезегінде сәйкесінше ұю жылдамдығының 80-90 %-ға артқандығын, яғни ұю уақытысының

қысқарғандығын көрсетеді. Тәжірибе кезінде жалпы белок мөлшері лимфа мен қан плазмасында уланудан кейін төмендегені байқалады: қан плазмасында қалыпты жағдайда 67,0±0,13 г/л мөлшерін көрсетсе, уландырудың алғашқы 10 күнінде бұл көрсеткіш 63,41±0,09 г/л болды, ал 30 күннен кейін бұл көрсеткіштер бақылау тобымен салыстырғанда 20%-ға дейін төмендегені байқалады, яғни 54,02±0,11 г/л мөлшерін көрсетті. Қорыта келе, алынған мәліметтерден көргеніміздей, егеуқұйрықтарды органикалық

у тетрахлорметанмен уландыру кезеңінде қанның физикалық-химиялық көрсеткіштерінің өзгеретіндігін, сонымен қатар, жалпы ағзаға кері әсері бар екендігі анықталды.

Уланудан кейін қан жасушаларына және физика-химиялық көрсеткіштеріне сорбенттің әсері. Сорбенттер өз бойына улы заттарды жинап алу қабілеттілігімен өте жақсы сипатталады. Соңғы кезеңдерде сорбенттердің әсері әртүрлі ауруларға кеңінен пайдаланып жүр, сондықтан да оны әртүрлі ауруларды емдеу және профилактикада маңызы зор. Тәжірибе барысында алынған мәліметтер байқағанымыздай, гематокритті көрсеткіштер бойынша қанның плазмалық бөлігі артып және гидремияның пайда болғанын көрсететін эритроциттер көлемінің азаюы бірдей уақытта байқалды. Сорбент қабылданған топтағы жануарлардың қанының физикалық-химиялық көрсеткіштері біршама жақсарғанын байқаймыз. Келтірілген мәліметтерден көріп отырғанымыздай, сорбент беру кезінде организмнен уларды, яғни улы заттарды шығару СУМС-1 беру кезіндегі көрсеткіштен біршама жоғары болды. Жалпы зерттелініп отырған сорбенттің қан клеткаларына оң әсері бары байқалады, бұл өз кезегінде

сорбенттің организмнен улы заттарды өз беткейіне сіңіру немесе сору қасиетінің жоғары екендігін көрсетеді. Уланудан кейінгі сорбенттің әсері қандағы эритроциттер мен лейкоциттер, гемоглобин көрсеткіштерін бастапқы қалыпына жақындатқанын байқаймыз.

Энтеросорбенттерді қолдану органикалық улардың лимфадинамика мен лимфа құрамына теріс әсерін бірден төмендетті. Егеуқұйрықтарға сорбент бергеннен кейін қан плазмасы мен лимфаның биохимиялық және физикалық-химиялық көрсеткіштерінің қалпына келуі, сорбент СУМС-1 сорбциялық қасиетінің жоғары екендігін көрсетеді.

4-ші топтағы тәжірибелік жануарларға тетрахлорметанмен бірге per os арқылы 30 күндей (1 г/кг) мөлшерінде сорбент СУМС-1 қабылдады. Ішек лимфа тамырларындағы лимфа арнасының кішіреюі байқалды, бұл бақылау кезінде $0,32 \pm 0,004$ мл/сағ. құраса, интоксикациядан соң $0,25 \pm 0,004$ мл/сағ. тең болды.

Тәжірибеден байқағанымыздай, 2-ші топпен салыстырғанда сорбент қабылданған топтағы жануарлардың қанының физикалық-химиялық көрсеткіштері біршама жақсарғанын байқаймыз.

3-кесте – Сорбентпен әсер ету кезіндегі қан жасушаларының көрсеткіші

Көрсеткіштер	1 топ	Төртхлорлы көмірсутек	CCl ₄ + СУМС-1
Эритроциттер, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	8,87±0,1	9,2±0,3*	8,94±0,1
Лейкоциттер, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	6,79±0,2	8,4±0,1*	7,79±0,3
Тромбоциттер, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	425±12	615,2±10**	537,5±14*
Гемоглобин, g/dl	12,9±0,6	16,25±0,2*	14,18±0,3
Лимфоциттер, %	55,7±1,8	65,3±0,5*	60,3±0,8*
Лимфоциттер, $\times 10^3 / \mu\text{L}$	15,3±0,8	26,2±0,7**	21,9±0,1**

Ескерту: * – бақылау тобымен салыстырған жағдайда, $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$

4-кесте – Улану кезіндегі қан мен лимфаның физикалық-химиялық көрсеткіші

Көрсеткіштер	1 топ	Тетрахлор-метан	Хлорметан + СУМС 1
Лимфа ағысы, мл/сағ	0,32±0,004	0,28±0,003*	0,30±0,005
Қандағы рН	7,45±0,06	7,35±0,02**	7,40±0,03*
Қанның ұю уақыты, мин	3,5±0,4	2,65±0,2*	3,0±0,1*
Лимфаның ұю уақыты, мин	4,3±0,1	3,5±0,1*	3,9±0,3*
Қанның тұтқырлығы, СП	3,4±0,8	4,3±0,2*	3,9±0,3*
Лимфаның тұтқырлығы, СП	1,8±0,04	2,95±0,02*	2,30±0,03*

Ескерту: * – бақылау тобымен салыстырған жағдайда, $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$

Биолог маманын даярлауда білім беру бағдарламаларының негізгі мақсатында кәсіби қызметте қажетті іргелі білім, білік және дағдыны қалыптастыру деп көрсетілген. Сондықтан да, болашақ мамандарды даярлауда білім беру бағдарламалары бойынша жүргізілетін жұмыстар жоғары оқу орындарының мамандары үшін білім беруді дамытуда маңызды болып табылады. Болашақ мамандарды даярлау педагогикалық жүйеге сәйкес жүзеге асырылады. Педагогикалық үрдісті құруды пәннің мақсаты, міндеті, мазмұны, қажетті құрал-жабдықтары, формалары, әдістері мен тәсілдері және тапсырмалар педагог пен студент арасында жүзеге асырылады. Жас мамандардың даярлығы жоғары оқу орындарында оқу жұмыстарын ұйымдастыру сапасына байланысты. Қазақстан ғалымдары үздіксіз экологиялық білім мен тәрбие берудің құрылымын, әдістемелік педагогикалық негіздерін, оқу тәсілдерін өңдей отырып, отандық ғылымда зерттеулерін әлі күнге дейін жүргізіп келеді. Оқу үдерісіне әртүрлі тәсілдер мен құралдар қолданып үнемі жаңалықтар енгізіп отыру қажет, бұл студенттерді ынталандырады және еркіндік береді. Мамандарды көп деңгейлі дайындауда сапалы да кешенді оқу – әдістемелерімен қамтамасыз етілуі, оқу сапасы мен тиімділігін айтарлықтай жоғарылатады. Оқытушының негізгі міндеті – оқу үдерісіне жоғары сапалы оқу-әдістемелік материалдарын дайындау болып табылады. Білім беруді дамытудың қазіргі тенденциялары педагогикалық ЖОО оқу үдерісін әдістемелік қамтамасыз етуде жаңа көзқарасты талап етеді. Қазіргі кезде білім берудегі басты бағыт тұлғалық және практикалық бағдарланған пәннің оқу әдістемелік кешендерін (ПОӘК) жасау болып табылады. Кешен оқытушы мен білімгерлердің жекелеген қызмет түрлерімен қамтамасыз етеді. Сол себепті, «Биофизика және биомедицина, биохимия, спорттық медицина, анатомия және физиология» курсында студенттерге дәріс сабағында адам ағзасына төртхлорлы көмірсутектің қысқаша сипаттамасын, пайда болу жолдарын, судың сапасына әсерін, ағзаға түсу жолдарын және де жасанды синтетикалық сорбенттің тірі ағзаға әсер етуін және де қазіргі таңда сорбциялық терапия ретінде қолдануы туралы дәріс оқылу өзекті мәселе болып табылады.

Қорытынды

Егеуқұйрықтар органикалық токсиканттармен улану барысында қанның рН көрсеткіші ацидоз бағытына өзгергендігін көрсетеді. Қандағы қан клеткаларының өзгерістерге ұшырағыны бақылау тобымен салыстырғанда алғашқы 10 күндікте эритроциттер 8 %-ға төмендегені, ал 30 күннен кейін 17 %-ға артқандығы байқалады, сонымен бірге лейкоциттердің көрсеткіштері алғашқы 10 күндікте 31 %-ға төмендеді, ал 30 күннен кейін 20 %-ға артқандығы байқалады. Бұл мәліметтер қан клеткаларының функциясының төмендегенін көрсетеді. Қандағы рН көрсеткіші бақылау тобымен салыстырғанда алғашқы 10 күндікте 4,9 %-ға, ал 30 күннен кейін 0,8 %-ға ($p < 0,05$) төмендегендігін (бақылау тобында рН 7,45) көрсетті. Бұл мәліметтер лимфа жүйесінің алмасу функциясының төмендегенін көрсетеді. Лимфа мен қанның ұюы бақылау тобымен салыстырғанда алғашқы 10 күндікте 2,8 және 3,9 минут болды, ал 30 күннен кейін бұл көрсеткіштер 2,5 және 3,1 минут болды, ұю жылдамдығының 80-90%-ға артқандығын, яғни ұю уақытысының қысқарғандығын көрсетті. Өз кезегінде егеуқұйрықтарды органикалық тетрахлорментанмен уландыру қанның физикалық-химиялық көрсеткіштеріне кері әсерін тигізетіндігін, яғни жалпы организмге кері әсері бар екендігі анықталды.

Егеуқұйрықтарға сорбент бергеннен кейін қан плазмасы мен қанның физикалық-химиялық көрсеткіштерінің қалпына келуі, сорбент СУМС-1 сорбциялық қасиетінің жоғары екендігін көрсетеді. Ұзақ уақыт тетрахлорментанмен, яғни төртхлорлы көмірсутекпен уландыру жануарлардың ішкі орта күйіне, қан мен лимфаның физикалық-химиялық көрсеткіштеріне құрамына кері әсерін көрсететіні байқалады. Сорбент СУМС-1 өз кезегінде уландырудан кейін болған организмде болған өзгерістерді біршама бастапқы қалпына келтіретіндігі анықталды.

Физиологиялық объектілермен, жануарлармен тәжірибе жүргізу және физиологиялық жүйелерін зерттеу тәсілдерін меңгере отырып, физиологиялық эксперименттерді өз беттерімен жүргізе білу дағдыларын қалыптастырдық. Студенттердің практикалық курсты толық меңгерулерімен қатар лекциялық материалды өз бетімен игере алғанын байқадық.

Әдебиеттер

- 1 Гареев Р.А., Файзулина Ф.Р. Адсорбция белка на лимфоцитах // Мат. науч. конф.: Проблемы экспериментальной, клин. и профилактической лимфологии. – Новосибирск, 2012. – С 30-32.
- 2 Boscolo P., Carmignany M. Mechanisms of cardiovascular regulation in male rats Cadmium as a factor of hypertension // J.Chronic.Dis. rabbitschronically to cadmium // Brit. J. Industr. Med. -2014.- 986. – V. 43. -P. 605-610.
- 3 Кантария У.В., Кулагин О.Л. Изменение активности антиоксидантных систем печени при токсические гепатите на фоне применения «Селена» // Сб. тр. 68 итог. науч. сессии КГМУ и отдел. Мед-биол. наук Центр-Черноморск. науч. учрежд.. РАМН Курск. – Курск. – Ч.2. – 2013, – С. 42-43.
- 4 Оксенгендлер Г.И. Яды и организмы. – М.: Наука, 2016. – С. 319.
- 5 Забродский П.Ф. Общая токсикология / под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М.: Изд, 2012. – С. 352-384.
- 6 Русняк И., Фельди М., Сабо Д. Физиология и патология лимфообращения. – Будапешт, 2017. – 856 с.
- 7 Lodenius M., Soltanpour-Gargari A., Tulisalo E., Heattonen H. Effects of asll application on cadmium concentration in small mamals // J. Environ. Qual. -2012. V.31. -№1.-P.188-192.
- 8 Jwai M., Morikowa T., Muramatsu A., Tanaka G. et al. Biological significance of AFP expression in liver injury induced by CCl4 // Acta. Histochem. et Cytochem. – 2010. – Vol. 33, №1. – P. 17-22.
- 9 Galanzha E.J. Biomicroscopic and speckle – interferometric measurement of lymph flow velocity in single microvessels in norm and in drug application // SPIE Conf. of the Internat. Society for Optical Engineering: Optical Technologies in Biophysics and Medicine. – Saratov. – 2014. – P. 461-466.
- 10 Мынбаева А. К. Основы педагогики высшей школы. – Алматы, 2013. – 190 с.
- 11 Kalieva A.N., Dyuskaliyeva G.U., Ikramova A.Sh., Digarbaeva A.M. Elective subject «Biological features of medicinal spesies of genus Agrimonia L.» for students with the speciality of 5B011300-Biology // Article Materials of the YIII international research and practice conference. – Munich, Germany. – 2015. – P. 198-201.
- 12 Мынбаева А.К., Садвакасова З.М. Искусство преподавания: концепции и инновационные методы обучения. – Алматы: Қазақ Университеті, 2011. – 198 с.
- 13 Ozcaglar Hasan U., Agirdir B., Dinc O., Turhan M., Kilincarslan S., Oner G. (2011) Effects of cadmium on the hearing system. Biochem Biophys Res Commun. vol. 121, no. 3, pp. 393-397.
- 14 Lodenius M., Soltanpour-Gargari A., Tulisalo E., Heattonen H. (2012) Effects of asll application on cadmium concentration in small mamals. J. Environ. Qual. vol. 31, no. 1, pp. 188-192.
- 15 Novelli Ethel L.B. Vieira Eliane P., Rodrigues Ney L., Ribas Bartolome O. (2016) Rick assessment of cadmium toxicity on hepatic and renal tissues of rats. Environ. Res. J. vol 779, no. 2, pp. 102-105.
- 16 Yang C.F., Shen H.M., Zhuang Z.X. (2017) Cadmium-induced oxidative cellular damage in Hyman fetal lung fibroblasts (MRC-5 cells). Environ. Hea. Per. vol. 105, no. 3, pp. 712-716.
- 17 Boscolo P., Carmignany M. (2014) Mechanisms of cardiovascular regulation in male rats Cadmium as a factor of hypertension. Brit. J. Industr. Med. vol. 43, no. 986. pp. 605-610.
- 18 A., Perromat A., Deleris G. (2011) The in vivo toxyty carbon tetrachloride and carrageenan on heart microcosms. Physiol. and Pharmacol. vol. 79, no. 9, pp. 799-804.
- 19 Nguen T.D., Villard P.H, Puyooou F. (2017) Pan ax vietnamenesis protects mice against carbon tetrachloride – induced hepatotoxicity lack of modification if CYP2E1 gene expression. Inter. Sympos. on Micro. vol. 3, no. 72, p. 186.
- 20 Padma P., Setty O.H. (1994) Studies on cytochrome oxidase in carbon tetrachloride treated rats. Jndian J. Exp. Biol. vol. 37, no. 11, pp. 139-141.
- 21 Johnston M.J. (2001) New research development in understanding lymph venous Disorders. Lymph. Assoc. of Ontario. vol. 96, no. 34, p. 11.
- 22 Van Helden D.F., Weid P.Y., Crowe M.J. (2015) Electrophysiology of lymphatic smooth muscle. Con. Tissu. and Lymph. vol. 56, no. 3, pp. 221-236.
- 23 Van Helden D.F., Weid P.Y., Crowe M.J. (2016) Intracellular Ca⁺⁺ release: a basis for electrical peacemaking in lymphatic smooth muscle. Smo. Mus. Exc. vol. 1, no 2, pp. 355-373.
- 24 Zawieja D.C. (1996) Propagation and coordination of lymphatic contractile activity. Ann. Biomed. Eng. vol. 24, no. 1, p. 31.
- 25 Crowe M.J., Weid P.Y., Brock J.A., Van Helden D.F. (2015). Coordination of contractile activity in guinea-pig mesenteric lymphatics. J. Physiol. vol. 500, no. 1, pp. 235-244.
- 26 Bulekbaeva L.E., Khanturin M.R., Alibaeva B.N., Demchenko G.A. (2016) Evolution of neurohumoral control of lymphatics. Sci. vol. 5, no. 3, p. 197.
- 27 Assis D.N., Navarro V.J. (2001) Human drug hepatotoxicity: a contemporary clinical perspective. Expert. Opin. Drug. Metab. Toxicol. vol. 5, no. 5, pp. 463-73.
- 28 Atanbaeva G.K., Toleuhanov S.T., Daulet G., Molsadykkyzy M., Ossikbayeva S.O., Orynbayeva Z.S. (2017) Study of the effect of cadmium, lead, zinc salts to the blood cells. International Journal of Biology and Chemistry. vol. 10, no. 1, pp. 9-14.

References

- 1 Gareev P. A., Faizulina F. P. Adsorbciia belka na limphotcitah // Mat. nauch. konf.: Problemy eksperimentalnoy, klin. i profilakticheskoi limfologii. – Novosibirsk, 2012. – S 30-32.
- 2 Boscolo P., Carmignany M. Mechanisms of cardiovascular regulation in male rats Cadmium as a factor of hypertension // J.Chronic.Dis. rabbitschronically to cadmium // Brit. J. Industr. Med. -2014.- 986. – V. 43. -P. 605-610.
- 3 Kantarya U.B., Kulagyn O.L. Izmenenie aktivnosti oksidantnyh sistem pecheni pri toksicheskie gepatite na fone primeneniya Selena // Sb. tr. 68 itog. nauch. sessii KGMU i otdel. Med-biol. nauk Centr-Chernomorsk. nauch. ucheredg. RAMN Kursk. – Ch.2. – 2013, – S. 42-43
- 4 Oksangender G. I. Yady I organyzmy. – M.: Nauka, 1991. – S. 319.
- 5 Zabrodskii P. F. Obshaya toksikologia / pod red. B.A. Kurlyandskogo, V.A. Filova. – M.: Izd, 2002. – S. 352-384.
- 6 Rusniak I., Feldi M., Sabo D. Fiziologiaipatologialimfoobrashenia. – Budapesht, 1957. – 856 s.
- 7 Lodenius M., Soltanpour-Gargari A., Tulisalo E., Heattonen H. Effects of asll application on cadmium concentration in small mamals // J. Environ. Qual. -2012. V.31. -№1.–P.188-192.
- 8 Jwai M., Morikowa T., Muramatsu A., Tanaka G. et al. Biological significance of AFP expression in liver injury induced by CCl4 // Acta. Histochem. etCytochem. – 2010. – Vol. 33, №1. – P. 17-22.
- 9 Galanzha E.J. Biomicroscopic and speckle – interferometric measurement of lymph flow velocity in single microvessels in norm and in drug application // SPIE Conf. of the Internat. Society for Optical Engineering: Optical Technologies in Biophysics and Medicine. – Saratov. – 2014. – P. 461-466.
- 10 Mynbaeva A.K. Osnovy pedagogiki vysshey shkoly. – Almaty, 2013. – 190 s.
- 11 Kalieva A.N., Dyuskaliyeva G.U., Ikramova A.Sh., Digarbaeva A.M. Elective subject “Biological features of medicinal spesies of genus Agrimonia L.» for students with the speciality of 5B011300-Biology // Article Materials of the YIII international research and practice conference. – Munich, Germany. – 2015. – P. 198-201.
- 12 Mynbaeva A. K., Sadvakasova Z. M. Isskustvo prepodovaniya: koncepcii i inovacionnye metody obucheniya. – Almaty: Kazak Universiteti, 2011. – 198 s.
- 13 Ozcaglar Hasan U., Agirdir B., Dinc O., Turhan M., Kilincarslan S., Oner G. (2011) Effects of cadmium on the hearing system. Biochem Biophys Res Commun. vol. 121, no. 3, pp. 393-397.
- 14 Lodenius M., Soltanpour-Gargari A., Tulisalo E., Heattonen H. (2012) Effects of asll application on cadmium concentration in small mamals. J. Environ. Qual. vol. 31, no. 1, pp. 188-192.
- 15 Novelli Ethel L.B. Vieira Eliane P., Rodrigues Ney L., Ribas Bartolome O. (2016) Rick assessment of cadmium toxicity on hepatic and renal tissues of rats. Environ. Res. J. vol 779, no. 2, pp. 102-105.
- 16 Yang C.F., Shen H.M., Zhuang Z.X. (2017) Cadmium-induced oxidative cellular damage in Hyman fetal lung fibroblasts (MRC-5 cells). Environ. Hea. Per. vol. 105, no. 3, pp. 712-716.
- 17 Boscolo P., Carmignany M. (2014) Mechanisms of cardiovascular regulation in male rats Cadmium as a factor of hypertension. Brit. J. Industr. Med. vol. 43, no. 986. pp. 605-610.
- 18 A., Perromat A., Deleris G. (2011) The in vivo toxyty carbon tetrachloride and carrageenan on heart microcosms. Physiol. and Pharmacol. vol. 79, no. 9, pp. 799-804.
- 19 Nguen T.D., Villard P.H, Puyouou F. (2017) Pan ax vietnamensis protects mice against carbon tetrachloride – induced hepatotoxicity lack of modification if CYP2E1 gene expression. Inter. Sympos. on Micro. vol. 3, no. 72, p. 186.
- 20 Padma P., Setty O.H. (1994) Studies on cytochrome oxidase in carbon tetrachloride treated rats. Indian J. Exp. Biol. vol. 37, no. 11, pp. 139-141.
- 21 Johnston M.J. (2001) New research development in understanding lymph venous Disorders. Lymph. Assoc. of Ontario. vol. 96, no. 34, p. 11.
- 22 Van Helden D.F., Weid P.Y., Crowe M.J. (2015) Electrophysiology of lymphatic smooth muscle. Con. Tissu. and Lymph. vol. 56, no. 3, pp. 221-236.
- 23 Van Helden D.F., Weid P.Y., Crowe M.J. (2016) Intracellular Ca⁺⁺ release: a basis for electrical peacemaking in lymphatic smooth muscle. Smo. Mus. Exc. vol. 1, no 2, pp. 355-373.
- 24 Zawieja D.C. (1996) Propagation and coordination of lymphatic contractile activity. Ann. Biomed. Eng. vol. 24, no. 1, p. 31.
- 25 Crowe M.J., Weid P.Y., Brock J.A., Van Helden D.F. (2015). Coordination of contractile activity in guinea-pig mesenteric lymphatics. J. Physiol. vol. 500, no. 1, pp. 235-244.
- 26 Bulekbaeva L.E., Khanturin M.R., Alibaeva B.N., Demchenko G.A. (2016) Evolution of neurohumoral control of lymphatics. Sci. vol. 5, no. 3, p. 197.
- 27 Assis D.N., Navarro V.J. (2001) Human drug hepatotoxicity: a contemporary clinical perspective. Expert. Opin. Drug. Metab. Toxicol. vol. 5, no. 5, pp. 463-73.
- 28 Atanbaeva G.K., Toleuhanov S.T., Daulet G., Molsadykkyzy M., Ossikbayeva S.O., Orynbayeva Z.S. (2017) Study of the effect of cadmium, lead, zinc salts to the blood cells. International Journal of Biology and Chemistry. vol. 10, no. 1.

**Исламов Р.¹, Кустова Т.², Лю М.³, Жанаева С.⁴,
Керимжанова Б.⁵, Ильин А.⁷**

¹кандидат биологических наук, начальник отдела доклинических испытаний,
e-mail: renatislamov@gmail.com

²PhD, зав. лабораторией фармакологии и токсикологии, e-mail: kus_talya@yahoo.com

³зам. зав. лабораторией фармакологии и токсикологии, e-mail: mlyu@mail.ru

⁴младший научный сотрудник лаборатории фармакологии и токсикологии,
e-mail: zhanaeva1975@mail.ru

⁵доктор ветеринарных наук, профессор, зам. начальника
отдела международного сотрудничества, e-mail: kbf19@mail.ru

⁶доктор химических наук, председатель правления, e-mail: ilin_ai@mail.ru
Научный центр противоиных препаратов, Казахстан, г. Алматы

**АНТИСТРУМОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
ФС-1 ПРИ ГИПОТИРЕОЗЕ САМОК КРЫС
ВЫЗВАННОГО МЕТИМАЗОЛОМ**

Известно, что струмогенные факторы из окружающей среды играют немаловажную роль в развитии патологий щитовидной железы. При этом наиболее чувствительными к нарушению гормональных функций щитовидной железы являются особи женского пола. С точки зрения лекарственной токсикологии и экотоксикологии наибольший интерес представляют вещества, ингибирующие иодирование тиреоглобулина в щитовидной железе. В данной статье описывается как на модели гипотиреоза самок крыс индуцированного метимазолом была изучена терапевтическая активность нового лекарственного средства ФС-1 представляющего координационное соединение иода. Целью проведенной работы являлось изучение антиструмогенной активности ФС-1, в котором иод координирован декстрином и полипептидами, обеспечивающие высокую стабильность комплекса при взаимодействии с белками в организме человека. Были сформированы контрольная и экспериментальная группы животных, которые в течение 21 дня перорально получали воду и 25 мг/кг раствора метимазола соответственно. По истечении времени были исследованы по пять животных из каждой группы на подтверждение диагноза индуцированный гипотиреоз, после чего экспериментальные животные подвергались терапии раствором лекарственного средства ФС-1 и иодидомкалия, либо не подвергались терапии. Было показано, что ФС-1 обладает фармакологической эффективностью и безопасностью при терапии гипотиреоза вызванного ингибитором тиреопероксидазы. Таким образом было сделано заключение о применимости лекарственного препарата ФС-1 для профилактики иододефицита в регионах с большим присутствием струмогенных факторов в окружающей среде.

Ключевые слова: координационное соединение иода, крысы, щитовидная железа, гипотиреоз, метимазол, антиструмогенная активность.

Islamov R.¹, Kustova T.², Lu M.³, Zhanaeva S.⁴, Kerimzhanova B.⁵, Ilin A.⁷

¹candidate of biological sciences, head of department preclinical trials, e-mail: renatislamov@gmail.com

²PhD, head of laboratory pharmacology and toxicology, e-mail: kus_talya@yahoo.com

³deputy head of laboratory pharmacology and toxicology, e-mail: mlyu@mail.ru

⁴junior researcher of laboratory pharmacology and toxicology, e-mail: zhanaeva1975@mail.ru

⁵doctor of veterinary sciences, professor, deputy head of department international cooperation, e-mail: kbf19@mail.ru

⁶doctor of chemical sciences, chairman of the board, e-mail: ilin_ai@mail.ru

Scientific Center of Anti-infectious Drugs, Kazakhstan, Almaty

The anti-goiter activity the drug of FS-1 for hypothyroidism of the female rats induced by methimazole

It is known that strumogenic factors from environment play an important role in development of thyroid gland pathologies. In this case, most sensitive to violation of thyroid gland hormonal functions are female individuals. From the point of view of medical toxicology and ecotoxicology, the most interesting is substance that inhibits iodination of thyroglobulin in the thyroid gland. This article describes how on the model of female rats hypothyroidism induced by methimazole, therapeutic activity of FS-1 new drug, representing iodine coordination compound, was studied. Aim of this work was to study FS-1 anti-strumogenic activity, in which iodine is coordinated with dextrin and polypeptides, ensuring high stability of the complex when interacting with proteins in the human body. Control and experimental groups of animals were formed which, within 21 days, orally received water and 25 mg/kg of methimazole solution, respectively. After time expiration, five animals from each group were examined to confirm diagnosis of induced hypothyroidism, after which experimental animals were treated with FS-1 drug solution and potassium iodide, or not treated. It was shown that FS-1 possesses pharmacological efficacy and safety in the treatment of hypothyroidism caused by an inhibitor of thyroid peroxidase. Thus, conclusion was made about the applicability of FS-1 drug for the prevention of iodine deficiency in regions with a large presence of strumogenic factors in the environment.

Key words: iodine coordination compound, rats, thyroid gland, hypothyroidism, methimazole, anti-strumogenic activity.

Исламов Р.¹, Кустова Т.², Лю М.³, Жанаева С.⁴, Керимжанова Б.⁵, Ильин А.⁷

¹биология ғылымдарының кандидаты, клиникалық тестілеу бөлімінің бастығы, e-mail: renatislamov@gmail.com

²PhD, Фармакология және токсикология зертханасының меңгерушісі, e-mail: kus_talya@yahoo.com

³Фармакология және токсикология зертханасының меңгерушісінің орынбасары, e-mail: mlyu@mail.ru

⁴Фармакология және токсикология зертханасының зертханасының кіші ғылыми қызметкері, e-mail: zhanaeva1975@mail.ru

⁵Ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, Халықаралық ынтымақтастық департаменті бастығының орынбасары, e-mail: kbf19@mail.ru

⁶химия ғылымдарының докторы, басқарма төрағасы, e-mail: il_ai@mail.ru
Инфекцияға қарсы ғылыми препараттар орталығы, Қазақстан, Алматы қ.

Метимазол арқылы болған аналық егеуқұйрықтардың гепатериоз кезіндегі ФС-1 дәрілік препаратының антиструмогенді белсенділігі

Қалқанша безінің патологиясын дамытуда қоршаған ортаның струмогендік факторлары маңызды рөл атқарады. Қалқанша безінің гормоналды функцияларының бұзылуына ең сезімтал болып келетін әйел адамдар болып табылады. Дәрілік және экотоксикология тұрғысынан, қалқанша безінде тироглобулинді йодтауды ингибирлеуге кедергі келтіретін заттар үлкен қызығушылық тудырады. Метимазол индуцирленген ұрғашы егеуқұйрықтардың гипотиреоздық моделі бойынша йод үйлестіру құрамын білдіретін ФС-1 жаңа препараттың терапиялық белсенділігі зерттелді. ФС-1-дің қалқанша тиреопероксидаздың ингибиторымен туындаған гипотиреозды емдеудегі тиімділігі мен қауіпсіздігі бар екені көрсетілген.

Жануарлардың бақылау және эксперименталдық топтары құрылды, олар 21 күн ішінде ауызша алынған және сәйкесінше 25 мг/кг метимазол ерітіндісін алды. ФС-1-тің трипероксидазаның ингибиторымен туындаған гипотиреозды емдеуде фармакологиялық тиімділігі мен қауіпсіздігі бар екені көрсетілген.

Осылайша, қоршаған ортаға струмогенді факторлардың үлкен қатысуымен өңірлерде йод тапшылығын болдырмау үшін ФС-1 препаратының қолданылуы туралы қорытынды жасалды.

Түйін сөздер: йодтың үйлестіру құрамы, егеуқұйрықтар, қалқанша без, гипотиреоз, метимазол, антиструмогендік белсенділік.

Введение

Одной из распространенных причин патологии тиреоидной системы является загрязнение окружающей среды струмогенными веществами, которые ингибируют активность тиреоидной пероксидазы (ТПО) в щитовидной железе, что приводит к её дисфункции и гипотиреозу (Council on Environmental Health., 2014). К таким поллютантам относятся полихлорированные дифенилы, производные тиомочевины, тиоцианаты, цианогенные гликозиды, производные анилина, нитраты и некоторые лекарства (Kiliç N., 2005; Mukhopadhyay S., 2005). Эта проблема нашла отражение в специальном документе Организации экономического сотрудничества и развития, где обсуждаются вопросы и методы исследования вредного воздействия токсикантов из окружающей среды на тиреоидную систему (OECD, 2006). Ситуация усугубляется на фоне иодного дефицита, когда оба фактора могут иметь аддитивный эффект (Doerge D.R., 2002; Bajaj J.K., 2016).

Одним из простых и относительно дешёвых способов преодоления проблемы иододефицита и избыточного поступления струмогенных веществ является иодирование соли и фортификация ею продуктов питания (Horton S., 2006; Mirmiran P., 2012). В специальных случаях применяют синтетический аналог тиреоидных гормонов левотироксин (Jonklaas J., 2014). В то же время считается, что постоянное (длительное) поступление высоких доз иода может привести к зобу, хотя это чаще встречается у пациентов с эутироидизмом, чем с нормальной функцией щитовидной железы. Особенно фатальные последствия дисфункции щитовидной железы наблюдаются у женщин (Burman K.D., 2000). Иод-индуцированный гипотиреоз имеет транзиторный характер, и при отсутствии серьёзных патологий и аутоиммунных процессов, со временем проходит (Zimmermann M.B., 2015). Поэтому, до сих пор остается актуальным использование иодосодержащих лекарств для коррекции иододефицита и при нодулярном поражении щитовидной железы (Parveen S., 2007; Zimmermann M.B., 2009; Grineva E.N., 2003).

Среди препаратов выбора особый интерес представляют те, которые содержат молекулярный иод. Поскольку молекулярный иод, помимо тиреоидной активности, характеризуется еще антиоксидантными и противовоспалительными свойствами (Wormser U., 2004). Однако высокая химическая активность молекулярного иода за-

трудняет системное использование препаратов на его основе (Noda Y., 2009). Это связано с воздействием молекулярного иода на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта и взаимодействием с пищей, как было показано на животных, содержащихся на голодной диете (Thrall K.D., 1990). Для уменьшения окислительной активности и стабилизации иода применяют его комплексы с различными полимерами, например с поливинилпирролидоном или крахмалом. Комплексообразование иода с разнообразными органическими лигандами, например аминокислотами и полипептидами, повышает стабильность иода и позволяет получать удобные для приема лекарственные формы (Kalykova A.S., 2015).

В связи с этим, целью работы являлось изучение антиструмогенной активности нового координационного соединения иода ФС-1, в котором иод координирован декстрином и полипептидами, что обеспечивает высокую стабильность комплекса при взаимодействии с белками организма человека (Ilin A.I., 2014). Ранее было установлено, что оральное введение ФС-1 крысам в дозе 100 мг/кг в течение 28 дней не оказывало никакого повреждающего действия (NOAEL) (Kalykova A., 2016). Нами предположено, что применение ФС-1 при индуцированном метимазолом гипотиреозе крыс будет эффективным и безопасным. Выбор этой модели основан на ингибировании активности ТПО, что наблюдается при частом поступлении с пищей и водой веществ ингибирующих щитовидную железу, особенно, таких как изофлавоноиды и производные тиомочевины (Doerge D.R., 2002; Bajaj J.K., 2016).

Материалы и методы исследования

Животные

Десятидневные самки крыс Вистар были получены из Научно-практического центра санитарной и эпидемиологической экспертизы и мониторинга. Животные содержались на коммерческой диете, вода была в режиме *ad libitum*. Клетки располагались в комнате с контролируемыми параметрами окружающей среды свет: (07:00–19:00), температура (22 ± 2 °C) и влажность (60 ± 10 %). Перед экспериментом крысы выдерживались на карантине в течение 2 недель. Перед отбором крови и некропсией крысы были эвтаназированы ингаляцией CO₂-газом. Кровь отбирали внутрисердечной пункцией. Все эксперименты проводились после одобрения эти-

ческой комиссией Научного центра противоинфекционных препаратов (№. 18 от 12.07.2012). Исследование было проведено согласно руководящим принципам ОЭСР (OECD series on testing and assessment: Detailed review paper on thyroid hormone disruption assays, 2006).

Дизайн эксперимента

Тридцать крыс были разделены на 2 группы: 1 группа (n=10) – контрольная (животные получали воду) и 2 группа (n=20) – экспериментальная (животные получали 25 мг/кг раствора метимазола («Sigma», США) ежедневно перорально в течение 21 дня). В эксперименте

использовали самок как наиболее чувствительных к изменению уровня гормонов щитовидной железы [11].

На 21 сутки по пять животных из каждой группы, получавших метимазол или воду, были исследованы для подтверждения диагноза индуцированный гипотиреоз. После чего оставшиеся экспериментальные животные были разделены на 4 группы по 5 особей. Экспериментальные животные подвергались терапии раствором лекарственного средства ФС-1 (№ РК-ЛС-5№021305) и иодидом калия («Sigma», США), либо не подвергались терапии (таблица 1).

Таблица 1 – Дизайн эксперимента

№ группы	Название группы	Дозировка	Кол-во животных
Группа 1	Вода (контроль)	Ежедневно перорально по 0,5 мл в течение 14 дней	5
Группа 2	ФС-1	Ежедневно перорально по 5 мг/кг в течение 14 дней	5
Группа 3	Иодид калия	Ежедневно перорально по 5 мг/кг в течение 14 дней	5
Группа 4	Без терапии (восстановление)	--	5

Исследуемые вещества или воду вводили утром внутривентрикулярно в течение 14 дней.

Клинические исследования

В течение всего эксперимента ежедневно проводили наблюдения за поведением животных. Ежедневно измеряли ректальную температуру и взвешивали.

Исследование крови и гормонов щитовидной железы

Отбор крови для исследования гормонов и гематологии был проведен на 21 день после введения метимазола или воды и на 14 день лечения.

Образцы крови помещали в пробирку с антикоагулянтом и исследованы на гематологическом анализаторе (Human, Германия) по следующим показателям: гемоглобин (Гем), гематокрит (Гтк), лейкоциты (Лей), лимфоциты (Лимф), гранулоциты (Гран), моноциты (Мон), тромбоциты (Тром) и эритроциты (Эрит).

Для клинической биохимии и гормональных исследований кровь центрифугировали при 1800 × g, 5 мин. Сыворотка декантировалась и хранилась при температуре минус 80 °С до исследований. Биохимические исследования аспартатаминотрансферазы (Аст), аланинаминотрансферазы (Алт), холестерина (Хл), триглицеридов (Тригл), креатинина (Креат), мочевины (Мочев), калия, фосфора, ферритина (Фер) и

железа в сыворотке проводили на анализаторе А25 (Biosystem, Испания). Исследование гормонов тиреотропина (ТТГ), тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3) проводили с помощью ИФА (Вектор-Бест, РФ).

Гистологические исследования

Щитовидную железу фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина («Рехим», РФ). Парафиновую заливку и срезы выполняли по общепринятой методике. Образцы ткани были окрашены гематоксилин-эозином («Sigma», США) и микроскопированы.

Статистический анализ

Статистический анализ данных проводился в программе GraphPad Prism6 (GraphPad Software, Inc., San Diego, США) с использованием одностороннего теста ANOVA. Уровень значимости был p<0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

После введения раствора метимазола для индукции гипотиреоза, животных взвешивали и измеряли ректальную температуру через каждые 7 дней. Наблюдалось снижение температуры тела с 39,0 до 37,0 °С на 14 день от начала введения метимазола по сравнению с контрольной группой. Дальнейшее введение тиреоста-

тика приводило к стойкому понижению значений ректальных температур до 35,3 °С ($p < 0,01$). Известно, что первичный иододефицитный гипотиреоз сопровождается увеличением ТТГ на фоне снижения свободного Т4, при этом содержание Т3 не меняется (Minato К., 2012). Для установления окончательного диагноза первич-

ного гипотиреоза, индуцированного метимазолом, на 21 день пять крыс были эвтаназированы. Изучено содержание гормонов (таблица 2), проведено гематологическое (таблица 3) и биохимическое исследование крови (таблица 4), а также гистология щитовидной железы (рисунок 1).

Таблица 2 – Уровень ТТГ, Т3 и Т4 крыс при индукции гипотиреоза метимазолом

Гормоны	Контрольная группа	Экспериментальная группа
ТТГ, мМЕ/л	0,16±0,11	1,3±0,9*
Т3-свободный, пмоль/л	4,4±0,8	4,4±0,6
Т3-общий, нмоль/л	1,5±0,3	1,9±0,2
Т4-свободный, пмоль/л	16,2±3,7	9,3±0,6
Т4-общий, нмоль/л	41,0±9,7	49,0±8,1*

Примечание: * $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем

Таблица 3 – Гематология крови крыс при индукции гипотиреоза метимазолом

Параметры	Контрольная группа	Экспериментальная группа
Лей×10 ⁹ /л	11,76±5,00	12,30±7,21
Лимф×10 ⁹ /л	5,97±3,38	6,96±3,10
Мон×10 ⁹ /л	2,15±0,89	3,55±3,39
Гран×10 ⁹ /л	3,65±1,93	1,79±1,07
Эрит×10 ¹² /л	10,48±0,45	6,07±1,05**
Гем, г/л	143,00±4,64	67,80±9,50*
Гкт, %	58,78±1,62	23,70±3,67***
Тром ×10 ⁹ /л	1178,60±187,85	569,00±175,38*

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ по сравнению с контролем

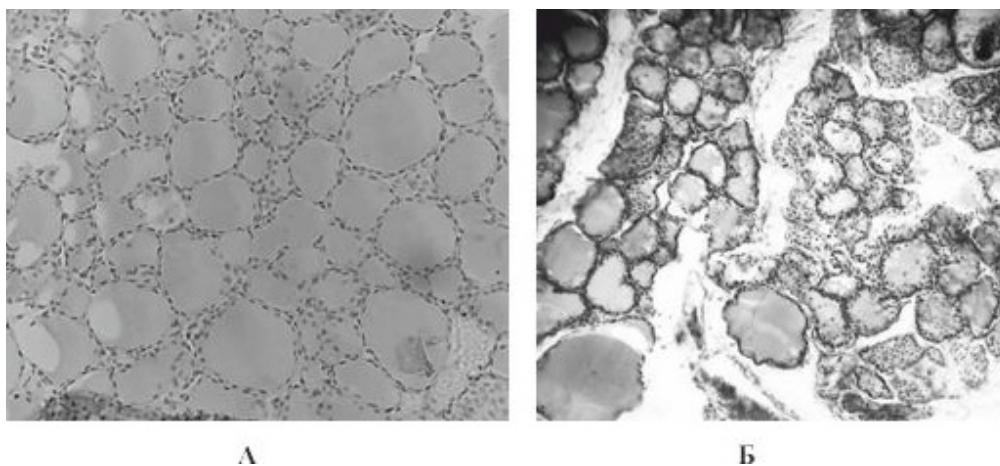
Таблица 4 – Биохимия сыворотки крыс при индукции гипотиреоза метимазолом

Параметры	Контрольная группа	Экспериментальная группа
Алт, U/л	88,68±20,99	63,73±10,69
Аст, U/л	109,38±23,52	214,28±12,89**
Хл, мг/дл	51,06±8,09	51,48±5,70
Тригл, мг/дл	52,49±7,10	52,34±7,35
Мочевина, мг/дл	28,22±5,54	30,78±5,84
Креатинин, мг/дл	0,89±0,22	0,86±0,08
Fe, мкмоль/л	26,12±4,44	2,76±0,68***
Ферретин, мкг/л	132,16±25,86	140,06±10,94
Са, мг/дл	9,28±1,95	8,72±0,34
Р, мг/дл	6,32±1,60	4,54±0,33
аст/алт	1,2	3,4**

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ по сравнению с контролем

Имуноферментное исследование гормонов щитовидной железы крыс, получавших метимазол, показало снижение уровня T_4 -свободного на фоне повышения ТТГ. Наблюдалось также уменьшение количества эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, сывороточного железа и

тромбоцитов. У животных развивалась анемия, которая часто сопровождается тиреоидной недостаточностью. Происходило увеличение соотношения аст/алт, что указывает на гепатотоксическое действие метимазола (Сапо-Еурога Е., 2010).



А – контрольная группа, Б – экспериментальная группа

Рисунок 1 – Гистология щитовидной железы

На фото видно, что некоторые фолликулы щитовидной железы увеличены в размерах (рисунок 1 Б). Наряду с округлой формой, отмечались фолликулы неправильной и уменьшенной формы. Тироциты свободно располагаются в полости фолликул, лишаются связи с базальной мембраной. Апикальные части тироцитов с цитоплазматическими выростами, обращенными в полость фолликула. Наблюдается пролиферативная активность тироцитов. Ядра тироцитов уменьшены в размерах, хроматин конденсирован. Отдельные фолликулы атрофически изменены, коллоид резорбирован. Сосуды капсулы и перегородок расширены. Наблюдается интерстициальный отек. Таким образом, по совокупности признаков у крыс получавших метимазол развивался индуцированный гипотиреоз.

После развития у крыс гипотиреоза, животным ежедневно в течение 14 дней вводили раствор ФС-1 или иодид калия. Животным контрольной группы и 5 крысам, получавшим метимазол, вводили воду (группа восстановления).

В течение эксперимента животных взвешивали и измеряли температуру тела (таблицы 5, 6).

Во всех группах отсутствовали достоверные изменения массы крыс в течение эксперимента.

На 5 день после начала лечения ФС-1 и иодидом калия у крыс наблюдался рост ректальной температуры. Следует отметить, что в группе восстановления температура нормализовалась только на 11 день отмены метимазола.

Результаты измерения уровней гормонов ТТГ, T_3 и T_4 , гематологических и биохимических показателей крови крыс представлены в таблицах 7 – 9.

Как следует из данных таблицы 7 в группе восстановления ТТГ оставался высоким, что указывает на гипотиреоз. В других группах наблюдалось снижение уровня ТТГ до сравнимых с контрольными показателями. Результаты, представленные в таблице 8, показывают, что при лечении животных с гипотиреозом ФС-1 и иодидом калия происходит улучшение гематологических показателей к концу исследования. При этом в группе восстановления сохранялся сниженный гемоглобин и гематокрит, указывающие на сохранение анемии. Наблюдали повышение Алт и Аст (таблица 9). В группах с лечением иодосодержащими препаратами отмечалось восстановление показателей сывороточного железа и ферритина до уровня контрольных значений. При этом уровень ферментов Алт и Аст оставался высоким.

Таблица 5 – Динамика массы крыс при терапии ФС-1 и иодидом калия

Группа	Масса, г		
	До терапии	7 день	14 день
Контрольная	213,6±11,1	220,8±6,4	222,0±7,1
ФС-1	188,0±9,5	203,0 ± 9,3	209,4 ± 7,8
Иодид калия		207,8 ± 12,3	215,2 ± 12,6
Восстановление		209,8 ± 11,1	217,2 ± 11,0

Таблица 6 – Динамика температуры тела крыс при терапии ФС-1 и иодидом калия

Группа	Температура крыс						
	До терапии	3 день	5 день	7 день	9 день	11 день	14 день
Контрольная	38,3±0,5	38,4±0,5	38,1±0,5	38,1±0,1	38,6±0,3	38,0±0,3	37,9±0,5
ФС-1	35,3±0,4	35,8±0,5**	36,2±0,7	37,6±0,5	38,6±0,4	38,4±0,5	38,7±0,7
Иодид калия		37,1±0,3*	36,9±0,9	37,9±0,3	38,1±0,2	38,5±0,5	38,3±0,5
Восстановление		35,6±0,5**	36,3±0,7*	36,7±0,6*	37,2±0,5*	37,9±0,4	38,3±0,3

Примечание: * p<0,05, ** p<0,01 по сравнению с контрольной группой

Таблица 7 – Уровень гормонов ТТГ, Т3 и Т4 у крыс при различных после терапии ФС-1 и иодидом калия

Гормоны	Группа			
	Контрольная	ФС-1	Иодид калия	Восстановление
ТТГ, мМЕ/л	0,5±0,1	1,1 ± 0,3	0,6 ± 0,1	4,4 ± 0,9*
Т3-свободный, пмоль/л	4,4±0,8	3,4 ± 1,1	4,8 ± 2,0	4,5 ± 1,6
Т3-общий, нмоль/л	1,5±0,3	1,6 ± 0,5	1,7 ± 0,5	1,9 ± 0,6
Т4-свободный, пмоль/л	16,2±3,7	15,0 ± 1,4	13,9 ± 3,1	19,5 ± 1,5
Т4-общий, нмоль/л	41,0±9,7	41,2 ± 5,5	55,4 ± 6,3	41,2 ± 5,6

Примечание: * p<0,05 по сравнению с контрольной группой

Таблица 8 – Результаты гематологического исследования крови крыс после терапии ФС-1 и иодидом калия

Параметры	Группа			
	Контрольная	ФС-1	Иодид калия	Восстановление
Лей×10 ⁹ /л	11,76±5,00	6,74±0,48	10,6±3,47	13,21±4,43
Лимф×10 ⁹ /л	5,97±3,38	3,89±0,30	5,66±2,40	6,40±1,12
Мон×10 ⁹ /л	2,15±0,89	1,23±0,29	1,73±0,7	2,23±0,98
Гран×10 ⁹ /л	3,65±1,93	1,62±0,39	3,22±0,81	4,62±2,77
Эрит×10 ¹² /л	10,48±0,45	9,72±2,20	10,29±4,06	10,82±1,60
Гем, г/л	143,00±4,64	131,20±25,72	155,20±15,82	120,80±7,36*
Гкт, %	58,78±1,62	55,66±13,33	57,06±23,69	50,12±3,94*
Тром ×10 ⁹ /л	1178,60±187,85	1047,60±161,3	783,80±172,22	911,80±402,21

Примечание: * p<0,05 по сравнению с контрольной группой

Таблица 9 – Результаты биохимического исследования крови крыс после терапии ФС-1 и иодидом калия

Параметры	Группа			
	Контрольная	ФС-1	Иодид калия	Восстановление
Алт, У/л	88,68±20,99	118,36±15,40*	41,58±11,35*	158,86±10,96*
Аст, У/л	109,38±23,52	256,34±29,20*	253,00±30,70*	307,57±31,04*
Хл, мг/дл	51,06±8,09	58,24±3,62	44,48±10,7	55,28±4,42
Тригл, мг/дл	52,49±7,10	54,75±3,92	57,3±2,95	60,45±6,09
Мочев, мг/дл	28,22±5,54	31,28±4,01	28,90±2,70	28,66±5,20
Креат, мг/дл	0,89±0,22	0,75±0,04	0,67±0,07	0,69±0,09
Fe, мкмоль/л	26,12±4,44	37,04±5,48	30,60±2,32	13,63±2,87*
Фер, мкг/л	132,16±25,86	110,48±4,59	119,70±9,27	163,36±8,46
Ca, мг/дл	9,28±1,95	11,22±0,43	12,24±0,54	12,25±0,27
P, мг/дл	6,32±1,60	5,19±0,37	5,17±0,28	5,08±0,38
Аст/Алт	1,2	2,2	3,7	1,9
Примечание: * p<0,05 по сравнению с контрольной группой				

Гистологические исследования щитовидной железы крыс из группы ФС-1 (рисунок 2А) показали фолликулы округлой или вытянутой овальной формой. Полость фолликулов заполнена коллоидом, эозонофильно слабо окрашена. Отмечаются фолликулы с отсутствующим коллоидом, располагаемые преимущественно по периферии щитовидной железы. Признаки краевой резорбции (местами слабо окрашивается). Также встречаются фолликулы, где вокруг апикально расположенных тироцитов отмечаются вакуолевидные выросты (коллоид с краевой вакуолизацией). Отдельные тироциты теряют связь с базальной мембраной и выталкиваются в просвет фолликула. В межфолликулярной зоне располагаются увеличенные в размерах, свободно лежащие тироциты. Располагаемые в строме крупные сосуды со свободным просветом, сосуды более мелкого калибра полнокровны. Вокруг капилляров прослеживаются островки лимфоидного скопления.

В группе крыс получавших иодид калия (рисунок 2Б) щитовидная железа с заполненным коллоидом фолликулами. Также отмечаются опустошенные фолликулы, с разволокненным коллоидом или с отсутствующим коллоидом. Коллоиды в состоянии краевой вакуолизации. Вокруг капилляров прослеживаются островки лимфоидного скопления. Сосуды со свободным пространством.

В щитовидной железе крыс из группы восстановления (рисунок 2 В) наблюдались следу-

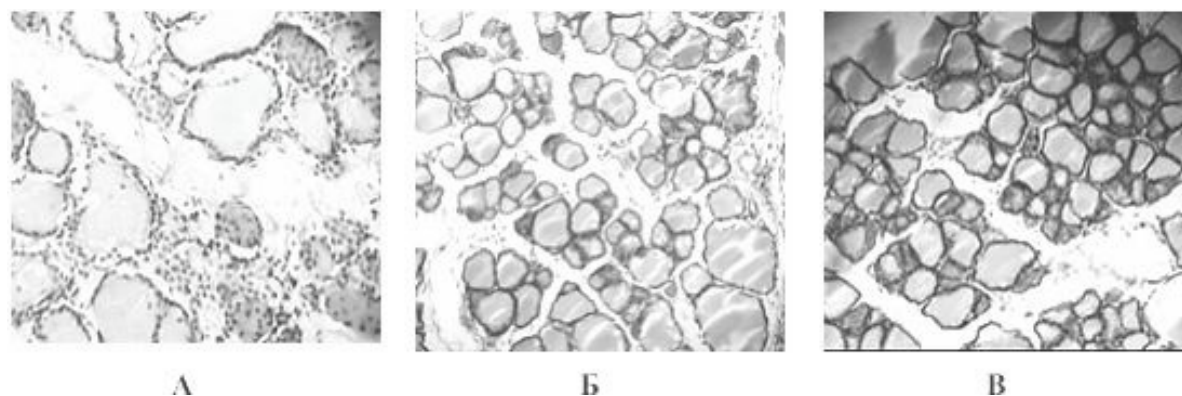
ющие изменения: наряду с гомогенно окрашенными фолликулами округлой формы отмечались уменьшенные и заполненные тироцитами. В фолликулах с сохранившимися формами отмечается краевая вакуолизация; наблюдается картина интерстициального отека, отдельные сосуды полнокровны.

Гормоны щитовидной железы играют огромную роль в метаболических процессах и развитии организма (Zimmermann M.B., 2009; Zimmermann M.B., 2015).

Для моделирования гипотиреоза, как следствие влияния струмогенных факторов, используют различные методы – хирургическое удаление щитовидной железы, введение ингибиторов натрий/иод симпортера или ТПО (Patel M., 2013). Нами был использован метод ингибирования ТПО метимазолом. В результате тормозится иодирование тиреоглобулина. Метимазол вводили в течение 21 дня для получения гипотиреозного состояния у крыс, которое определялось комплексом диагностических критериев. Изменяющиеся параметры – температура тела, уровень ТТГ и Т4, результаты клинического анализа крови и её биохимия, а также морфология щитовидной железы подтвердили диагноз гипотиреоз (Jafarzadeh A., 2010). Гипотиреоз часто сопровождается железодефицитной анемией, что также было продемонстрировано биохимическими исследованиями (Das C., 2012). Это связано со стимулирующим воздействием гормонов Т3 и Т4 на эритропоэз, снижение которого наблюда-

ют при дефиците гормонов щитовидной железы (Malgor L.A., 1975; Maggio M., 2015). Стойкое снижение ректальной температуры, наблюда-

емое при введении метимазола, согласуется с результатами исследований по тиреоидэктомии (Patel M., 2013).



А – леченные ФС-1, Б – леченные иодидом калия и В – группа восстановления

Рисунок 2 – Гистоструктура щитовидной железы крыс экспериментальных групп после терапии

Лечение крыс ФС-1 и иодидом калия приводило к нормализации температуры тела на 5 день. В конце эксперимента все параметры крови не отличались от контрольной группы, за исключением низкого гемоглобина, гематокрита, железа и высокого уровня ТТГ в группе восстановления. Высокий уровень ТТГ в группе восстановления указывает на сохранение гипотиреоза у крыс даже после отмены метимазола.

Другая картина наблюдается в биохимических показателях сыворотки крови. У всех животных к концу эксперимента сохраняется высокий уровень ферментов Алт и Аст. В группе восстановления эти показатели очень высокие, что напрямую указывает на последствия токсического действия метимазола (Сапо-Еурога Е., 2010). При этом иодсодержащие препараты не влияют на этот процесс. Также доказательством отсутствия токсического действия препаратов иода служит клинический анализ крови: уровень лейкоцитов, триглицеридов, мочевины и креатинина, которые изменяются при избыточном поступлении иода (Kalykova A., 2016).

Необходимо отметить, что картина компенсаторно-приспособительной перестройки морфологической структуры щитовидной железы характерна для всех групп животных подвер-

гнутых воздействию метимазолом. Несмотря на нормализацию уровней ТТГ и Т4 в группах ФС-1 и иодида калия к концу эксперимента структурные патологические изменения в щитовидной железе ещё сохраняются.

Заключение

Проведенное исследование эффективности нового комплексного соединения иода с биоорганическими лигандами ФС-1 при терапии гипотиреоза крыс вызванного введением метимазола показало высокую фармакологическую активность и относительную безопасность. По результатам можно сделать заключение о применимости лекарственного средства ФС-1 для профилактики иододефицита в регионах с высоким содержанием струмогенных факторов в окружающей среде.

Авторы выражают благодарность Н.А. Ибрагимовой за помощь в проведении экспериментов и анализ гистологических срезов щитовидной железы.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан, в рамках НТП «Разработка новых противоионфекционных препаратов».

Литература

- 1 Rogan W.J., Paulson J.A., Baum C., Brock-Utne A.C., Brumberg H.L., Campbell C.C., Lanphear B.P., Lowry J.A., Osterhoudt K.C., Sandel M.T., Spanier A., Trasande L. Iodine deficiency, pollutant chemicals, and the thyroid: new information on an old problem // *Pediatrics*. – 2014. – Vol.133. – No.16. – P.1163-1166
- 2 Kiliç N., Sandal S., Colakoğlu N., Kutlu S., Seyran A., Yilmaz B. Endocrine disruptive effects of polychlorinated biphenyls on the thyroid gland in female rats // *Tohoku J Exp Med*. – 2005. – Vol.206. – No.4. – P. 327-332
- 3 Mukhopadhyay S., Ghosh D., Chatterjee A., Sinha S., Tripathy S., Chandra A.K. Evaluation of possible goitrogenic and anti-thyroidal effect of nitrate, a potential environmental pollutant // *Indian J Physiol Pharmacol*. – 2005. – Vol.49. – No.3. – P.284-288
- 4 OECD series on testing and assessment. Detailed review paper on thyroid hormone disruption assays // OECD Environment, Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No.57. – 2006. – 434p.
- 5 Doerge D.R., Sheehan D.M. Goitrogenic and estrogenic activity of soy isoflavones // *Environ Health Perspect*. – 2002. – Vol.110. – No.3. – P.349-353
- 6 Bajaj J.K., Salwan P., Salwan S. Various Possible Toxicants Involved in Thyroid Dysfunction: A Review // *J. Clin. Diagn. Res*. – 2016. – Vol.10. – E.01-3
- 7 Horton S. The Economics of Food Fortification // *J. Nutr*. – 2006. – Vol.136. – No.4. – P.1068-1071
- 8 Mirmiran P., Golzarand M., Serra-Majem L., Azizi F. Iron, Iodine and Vitamin A in the Middle East; A Systematic Review of Deficiency and Food Fortification // *Iran J Public Health*. – 2012. – Vol.41. – No.8. – P.8-19
- 9 Jonklaas J., Bianco A.C., Bauer A.J., Burman K.D., Cappola A.R., Celi F.S., Cooper D.S., Kim B.W., Peeters R.P., Rosenthal M.S., Sawka A.M. American Thyroid Association Task Force on Thyroid Hormone Replacement. Guidelines for the treatment of hypothyroidism: prepared by the american thyroid association task force on thyroid hormone replacement // *Thyroid*. – 2014. – Vol.24. – No.12. – P.1670-751
- 10 Burman K.D., Wartofsky L. Iodine Effects on the Thyroid Gland: Biochemical and Clinical Aspects // *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*. – 2000. – Vol.1. – P.19-25
- 11 Zimmermann M.B., Boelaert K. Iodine deficiency and thyroid disorders // *The Lancet*. – 2015. – Vol.3. – No.4. – P.286-295
- 12 Parveen S., Latif S.A., Kamal M.M., Uddin M.M. Effects of long term iodized table salt consumption on serum T3, T4 and TSH in an iodine deficient area of Bangladesh // *Mymensingh Med J*. – 2007. – Vol.16. – No.1. – P.57-60.
- 13 Zimmermann M.B., Aeberli I., Melse-Boonstra A., Grimci L., Bridson J., Chaouki N., Mbhenyane X., Jooste P.L. Iodine treatment in children with subclinical hypothyroidism due to chronic iodine deficiency decreases thyrotropin and C-peptide concentrations and improves the lipid profile // *Thyroid*. – 2009. – Vol.19. – No.10. – P.1099-1104.
- 14 Grineva E.N., Malakhova T.V., Tsoi U.A., Smirnov B.I. Efficacy of thyroxine and potassium iodide treatment of benign nodular thyroid lesions // *Ter. Arkh*. – 2003. – Vol.75. – No.8. – P.72-75.
- 15 Wormser U., Sintov A., Brodsky B., Casillas R.P., Nyska A. Protective effect of topical iodine containing anti-inflammatory drugs against sulfur mustard-induced skin lesions // *Arch Toxicol*. – 2004. – Vol.78. – No.3. – P.156-166
- 16 Noda Y., Fujii K., Fujii S. Critical evaluation of cadexomer-iodine ointment and povidone-iodine sugar ointment // *Int. J. Pharm*. – 2009. – Vol.8. – No.1-2. – P.85-90
- 17 Thrall K.D., Bull R.J. Differences in the distribution of iodine and iodide in the Sprague-Dawley rat // *Fundam Appl Toxicol*. – 1990. – Vol.15. – No.1. – P.75-81
- 18 Kalykova A.S., Vetchy D., Sakipova Z.B. Development of tablet medical form containing substance FS-1 // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2015. – Vol.6. – P.1610-1615
- 19 Ilin A.I., Kulmanov M.E. Antibacterial agent for treating infectious diseases of bacterial origin. Patent 389 US 2014/0010782 A1 – 2014-09-03.
- 20 Kalykova A., Kustova T., Sakipova Z., Ibragimova N., Islamov R., Vetchy D., Ilin A.I. Acute and subchronic toxicity studies of the original drug FS-1 // *Acta Vet. Brno*. – 2016. – Vol.85. – P.9-16
- 21 Minato K., Nagao H., Imazu T., Takahashi K. Influence of Iodine-Deficiency on Thyroid Hormones Homeostasis in Rats // *Biol. Pharm. Bull*. – 2012. – Vol.35. – No.7. – P.1166-1170
- 22 Cano-Europa E., Blas-Valdivia V., Lopez-Galindo G.E., Franco-Colin M., Pineda-Reynoso M., Hernandez-Garcia A., Ortiz-Butron R. Methimazole-induced hypothyroidism causes alteration of the REDOX environment, oxidative stress, and hepatic damage; events not caused by hypothyroidism itself // *Ann. Hepatol*. – 2010. – Vol.9. – No.1. – P.80-88
- 23 Patel M., Mishra V., Pawar V., Ranvir R., Sundar R., Dabhi R. Evaluation of acute physiological and molecular alterations in surgically developed hypothyroid Wistar rats // *J Pharmacol Pharmacother*. – 2013. – Vol.4. – No.2. – P.110-115
- 24 Jafarzadeh A., Poorgholami M., Izadi N., Nematı M., Rezayati M. Immunological and hematological changes in patients with hyperthyroidism or hypothyroidism // *Clin Invest Med*. – 2010. – Vol.1. – No.33(5). – P.E271-279
- 25 Das C., Sahana P.K., Sengupta N., Giri D., Roy M., Mukhopadhyay P. Etiology of anemia in primary hypothyroid subjects in a tertiary care center in Eastern India // *Indian J Endocrinol Metab*. – 2012. – Vol.16. – Suppl.2. – P.361-363
- 26 Malgor L.A., Blanc C.C., Klainer E., Irizar S.E., Torales P.R., Barrios L. Direct effects of thyroid hormones on bone marrow erythroid cells of rats // *Blood*. – 1975. – Vol.45. – No.5. P.671-679
- 27 Maggio M., De Vita F., Fisicella A., Lauretani F., Ticinesi A., Ceresini G., Cappola A., Ferrucci L., Ceda G.P. The Role of the Multiple Hormonal Dysregulation in the Onset of “Anemia of Aging”: Focus on Testosterone, IGF-1, and Thyroid Hormones // *Int J Endocrinol*. – 2015. – Vol.2015. – E.292574

**Остапчук Е.О.¹, Тлеулиева Р.Т.², Каргажанов А.³,
Мухатаев Ж.Е.⁴, Перфильева Ю.В.⁵**

¹Ph.D, с.н.с. лаборатории молекулярной иммунологии и иммунобиотехнологии, e-mail: katyostapchuk@gmail.com

²к.б.н., и.о.зав. лабораторией молекулярной иммунологии и иммунобиотехнологии, e-mail: tleulieva@mail.ru

³лаборант лаборатории молекулярной иммунологии и иммунобиотехнологии, e-mail: ahaahmetzada@gmail.com

⁴Ph.D-докторант 2-го года обучения, кафедра молекулярной биологии и генетики,
факультет биологии и биотехнологии, Казахский национальный университет им. аль-Фараби,
Казахстан, г. Алматы, e-mail: jusyf777@gmail.com

⁵Ph.D, в.н.с. лаборатории молекулярной иммунологии и иммунобиотехнологии, e-mail: ulya2005@mail.ru

^{1,2,3,5}Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина, Казахстан, г. Алматы

**НАТУРАЛЬНЫЕ Т-РЕГУЛЯТОРНЫЕ КЛЕТКИ
ПОВЫШАЮТ ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ
К ДЕЙСТВИЮ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ КЛЕТОК
ЛИНИИ ЭРИТРОЛЕИ~КЕМИИ ЧЕЛОВЕКА K562**

T-регуляторные (Treg) клетки играют одну из ключевых ролей в стимуляции роста, метастазирования и ускользании опухоли от иммунологического надзора. Уровень Treg-клеток увеличен у пациентов со злокачественными новообразованиями как в периферической крови, так и в опухолевой ткани, что коррелирует со стадией заболевания и низкой выживаемостью пациентов. При этом удаление Treg-клеток приводит к регрессии роста и метастазирования опухолей, а также ассоциировано с благоприятным прогнозом. Механизм регуляции активности опухолевых клеток Treg-клетками остается не изученным. Целью настоящего исследования было изучение влияния натуральных T-регуляторных клеток (nTreg) на канцерогенную активность клеток линии эритролеи~кемии человека K562 *in vitro*. Для этого, клетки линии K562 инкубировали в присутствии nTreg-клеток, выделенных из периферической крови здоровых доноров и предварительно стимулированных, или в супернатантах, полученных от культур стимулированных nTreg-клеток, в течение 3 дней. Затем анализировали уровень экспрессии K562-клетками АТФ-связывающего кассетного транспортера G2 (ABCG2) и рецептора с тирозинкиназной активностью 1 (VEGFR1) методом проточной цитофлуориметрии и определяли индекс пролиферации K562-клеток в МТТ-тесте без всякого воздействия или после их инкубации в присутствии противоопухолевых препаратов. Нами было установлено, что nTreg-клетки повышают долю K562-клеток, экспрессирующих ABCG2 и VEGFR1, способствующих ангиогенезу, росту опухолей, их метастазированию и устойчивости к противоопухолевым препаратам контактным и бесконтактным способом. Полученные нами данные, были подтверждены в функциональном тесте, в ходе которого K562-клетки проявляли большую пролиферативную активность и резистентность к действию даунорубина и гемцитабина после культивирования с nTreg-клетками. Таким образом, основываясь на полученных нами данных, мы можем заключить, что nTreg-клетки обладают стимулирующим влиянием на канцерогенные свойства K562-клеток. Полученные результаты вносят вклад в понимание механизмов канцерогенеза и могут послужить основой для разработки новых подходов к подавлению роста опухолей на основе подавления активности nTreg-клеток.

Ключевые слова: натуральные T-регуляторные клетки, клетки линии эритролеи~кемии человека K562, ABCG2, VEGFR1.

Ostapchuk E.O.¹, Tleulieva R.T.², Kargazhanov A.³, Muhataev Zh.E.⁴, Perfilyeva Ju.V.⁵

¹Ph.D, senior researcher at the Laboratory of Molecular Immunology and Immunobiotechnology, e-mail: katystapchuk@gmail.com

²Ph.D, head of Laboratory of Molecular Immunology and Immunobiotechnology, e-mail: tleulieva@mail.ru

³research assistant at the Laboratory of Molecular Immunology and Immunobiotechnology, e-mail: ahaahmetzada@gmail.com

⁴2-year Ph.D student, Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Biology and Biotechnology, Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: jusyf777@gmail.com

⁵Ph.D, leader researcher at the Laboratory of Molecular Immunology and Immunobiotechnology, e-mail: ulya2005@mail.ru

^{1,2,3,5}M.A. Aitkhozhin's Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Laboratory of Molecular Immunology and Immunobiotechnology, Kazakhstan, Almaty

Natural T-regulatory cells increase the proliferative activity and drug resistance of K562 erythroleukemic cells

T regulatory (Treg) cells represent one of the key participants in tumor progression, metastasis, and escape from the host immune system. The frequency of Treg cells is increased in the peripheral blood and tumor microenvironment of cancer patients and associated with tumor stage and poor prognosis. Depletion of Treg cells leads to regression of tumor growth, metastasis and correlates with improved survival. However, only a few studies have been dedicated to the mechanisms implicated in the regulation of tumor cell activity by Treg cells. The aim of the study was to evaluate the effect of natural T-regulatory cells (nTreg) on the carcinogenic activity of human erythroleukemia cell line K562 *in vitro*. K562 cells were incubated in the presence of stimulated nTreg cells isolated from the peripheral blood of healthy donors or in supernatants obtained from stimulated nTreg cells for 3 days. Then, the proportion of K562 cell expressing ATP-binding G2 cassette transporter (ABCG2) and receptor with tyrosine kinase activity 1 (VEGFR1) was analyzed by flow cytometry. We also analysed the proliferation level of K562 cells with or without presence of anti-tumor drugs using MTT-assay. We found that co-cultivation with nTreg cells and incubation in supernatants obtained from nTreg cells increase the proportion of K562 cells expressing ABCG2 and VEGFR1, which are well known molecules promoting angiogenesis, tumor growth, metastasis, and multidrug resistance of tumor cells. Moreover, K562 cells showed greater proliferative activity and resistance to daunorubicin and gemcitabine after co-cultivation with nTreg cells and incubation in their supernatants. Thus, we can conclude that nTreg cells have a stimulating effect on the carcinogenic properties of K562 cells. The obtained results contribute to the understanding of carcinogenesis and can be used for further research to form a basis for the development of new approaches of cancer immunotherapy based on the suppression of nTreg cells.

Key words: natural T regulatory cells, human erythroleukemia cell line K562, ABCG2, VEGFR1.

Остапчук Е.О.¹, Тлеулиева Р.Т.², Каргажанов А.³, Мухатаев Ж.Е.⁴, Перфильева Ю.В.⁵

¹Ph.D, ҮҒҚ Молекулалық иммунология және иммунобиотехнология лабораториясы, e-mail: katystapchuk@gmail.com

²б.ғ.к., Молекулалық иммунология және иммунобиотехнология лабораториясының меңгерушісінің міндетін атқарушісі, e-mail: tleulieva@mail.ru

³лаборант Молекулалық иммунология және иммунобиотехнология лабораториясы, e-mail: ahaahmetzada@gmail.com

⁴2-ші оқу жылының Ph.D-докторы, молекулалық биология және генетика кафедрасы, биология және биотехнология факультеті, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: jusyf777@gmail.com

⁵Ph.D, ҮҒҚ Молекулалық иммунология және иммунобиотехнология лабораториясы, e-mail: ulya2005@mail.ru

^{1,2,3,5}M.A. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты, Қазақстан, Алматы қ.

Табиғи T реттегіш жасушалар адамның K562 эритролейкемия жасушалық линиясының пролиферативті белсенділігімен ісікке қарсы препараттар әрекетіне төзімділігін арттырады

T-реттеуші (Treg) жасушалар ісіктің иммунологиялық қадағалаудан құтылып өсуінде, метастазында негізгі рөлдердің бірін атқарады. Қатерлі ісікпен ауыратын науқастардың перифериялық қанда және ісік тінінде Treg жасушаларының деңгейі артатыны белгілі. Бұл аурудың кезеңімен және пациенттердің өміршеңдігімен байланысты. Бұл жағдайда Treg жасушаларын жою ісік өсуі мен метастазнің регрессиясына әкеліп, сондай-ақ жақсы болжаммен байланысады. Алайда, ісік жасушаларының белсенділігінің Treg жасушалармен реттелу механизмі іс жүзінде зерттелмеген. Зерттеудің мақсаты табиғи T-реттегіш жасушалардың (nTreg) *in vitro*

жағдайында өсірілетін адамның эритролейкемия ісік жасушаларының канцерогендік белсенділігіне әсерін зерттеу. Бұл үшін K562 ісік жасуша линиясы, сау донордың перифериялық қанынан бөлінген және *in vitro* белсендендірілген nTreg –жасушалармен тікелей және осы жасушалардан алынған супернатантпен 3 күн бойы инкубацияланды. Сосын ағынды цитометр әдісі арқылы АТФ- байланысушы кассет транспортер G2 (ABCG2) мен метастазды жоғарлататын тирозин киназалық белсенділігі 1 (VEGFR1) рецепторлар экспрессиясы бағаланды. МТТ тестінде K562 жасушаларының пролиферация индексі ешқандай әсерсіз немесе ісікке қарсы дәрілермен инкубациялау арқылы анықталды. nTreg жасушаларымен бірге және nTreg жасушаларынан алынған супернатантпен K562 жасушаларын инкубациялағанда, олардағы ангиогенезді, ісік өсуін, метастазизмді және ісік жасушаларының дәрілерге төзімділігін арттыратын белгілі ABCG2 және VEGFR1 молекулаларды экспрессиялатын K562 жасушаларының үлесін көбейтті. Сонымен қатар, K562 жасушалары nTreg жасушалармен және олардың супернатанттармен инкубациялағаннан кейін олардың пролиферация белсенділігі және даунорубин мен гемцитабинге төзімділігі артатыны байқалды. Осылайша, nTreg жасушалары K562 жасушаларының канцерогенді қасиеттеріне ынталандырушы әсер етеді деп қорытынды жасауға болады. Алынған нәтижелер канцерогенездің механизмдерін түсінуге ықпал етеді және nTreg жасушаларының белсенділігін тоқтатуға негізделген, ісіктердің өсуін және метастатикалық аурудың пайда болуын болдырмауға бағытталған жаңа тәсілдерді әзірлеуге негіз болады.

Түйін сөздер: табиғи Т реттегіш жасушалар, K562, ABCG2, VEGFR1, адамның эритролейкемиялық жасушалық линиясы.

Введение

Несмотря на достижения в области современной онкологии, проблема онкологических заболеваний остается приоритетной для современного общества. Согласно современным представлениям в онкоиммунологии развитие и рост опухолей зависит не только от самих опухолевых клеток, но также индуцируется и регулируется своим микроокружением, в котором помимо клеток стромы и внеклеточного матрикса присутствуют иммунокомпетентные клетки. В этом контексте важнейшая роль в регуляции роста опухоли принадлежит иммунорегуляторным клеточным популяциям [1].

Одним из основных звеньев регуляторного пула иммунцитов является популяция T-регуляторных (Treg) лимфоцитов [2, 3]. Treg-клетки являются очень гетерогенной популяцией, которую можно разделить на натуральные (nTreg) и индуцированные (iTreg) Treg-клетки. Обе субпопуляции обладают супрессорной активностью *in vitro* и *in vivo* [4-6]. nTreg-клетки созревают в тимусе в ходе нормального биогенеза T-лимфоцитов и, после выхода на периферию, участвуют в обеспечении периферической иммунологической толерантности. nTreg-клетки находят в периферической крови и вторичных лимфоидных органах по их конститутивной экспрессии CD4, CD25 и Foxp3 [7].

Аккумуляция Treg-клеток в опухолевом микроокружении вносит значительный вклад в создание толерогенного микроокружения и содействует развитию опухоли. Количество

CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ nTreg-клеток увеличено в периферической крови и в опухолевом микроокружении среди опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов у пациентов с различными типами рака, включая рак молочной железы, пищевода, желудка, печени, легких, яичников, поджелудочной железы, колоректальный рак, а также при меланоме, лейкемии и лимфомах [8]. Повышенный уровень CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ nTreg-клеток в опухоли ассоциирован со снижением выживаемости пациентов, а количество nTreg-клеток коррелирует со стадиями различных типов рака и резко повышено на IV стадии заболевания [9]. Высокий риск развития и рецидивов онкологических заболеваний также ассоциировано с повышенным количеством CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ nTreg-клеток. Удаление nTreg-клеток приводит к отмене иммунологической толерантности к опухолевым клеткам и развитию противоопухолевых эффекторных механизмов. Недавние исследования показывают, что успешная химиотерапия, приводящая к полному устранению патологии, характеризуется исчезновением CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ nTreg-клеток в ткани [10].

Несмотря на то, что негативный вклад Treg-клеток в развитии рака в значительной степени доказан, остается много вопросов в отношении их роли при онкологических заболеваниях. До сих пор негативный эффект Treg-клеток связывали только с их способностью подавлять противоопухолевый иммунитет [11]. В последнее время озвучиваются предположения о непосредственном влиянии Treg-клеток на опухоле-

вые клетки. Однако роль Treg-клеток в пролиферации, ангиогенезе, миграции, метастазировании и развитии устойчивости к противоопухолевым препаратам остается малоизученной.

Известно, что удаление Treg-клеток вызывает регрессию образования метастазов меланомы у пациентов, находящихся на последних стадиях заболевания, а удаление Treg-клеток перед курсом химио- или радиотерапии пациентов, страдающих от рака молочной железы, ассоциировано с благоприятным прогнозом [12]. Стимулированные CD4⁺CD25⁺Treg-клетки повышают миграционную способность клеток линии карциномы молочной железы *in vitro* [13]. В мышинных моделях рака, удаление Treg-клеток снижает рост, ангиогенез опухоли, а также экспрессию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) опухолевыми клетками [14]. Также было показано, что экспрессия лиганда рецептора, активирующего ядерный фактор «каппа-би» (Receptor activator of NFκB ligand, RANKL) на Treg-клетках ассоциирована с повышением метастазирования рака молочной железы [15].

Опираясь на эти данные, мы предположили непосредственное влияние различных субпопуляций Treg-клеток, как обязательных представителей опухоль-инфильтрирующих клеток солидных опухолей, на активность опухолевых клеток, включающую усиление их пролиферации, «стволовости», ангиогенез, метастазирование, повышение продукции иммуносупрессорных молекул и устойчивости к противоопухолевой терапии и противоопухолевому иммунному ответу, что приводит к прогрессии заболевания.

Таким образом, целью данного исследования было изучение в условиях *in vitro* влияние nTreg-клеток на канцерогенную активность опухолевых клеток линии K562.

Материалы и методы

В ходе исследования использовали венозную кровь здоровых доноров (ср. возраст 29,8±4,7 лет, n=12; женщины: ср. возраст 29,3±5,5 лет, n=6; мужчины: ср. возраст 30,3±4,2 лет, n=6), не имеющих злокачественных новообразований или явных признаков других заболеваний. Мононуклеарные клетки выделяли центрифугированием на Histopaque-1,077 (Sigma-Aldrich, США) 20 мин при 3000g, 4°C и отмывали средой RPMI-1640 (Sigma-

Aldrich, США). Выделение популяции nTreg-клеток из МНПК проводили с помощью набора «CD4+CD25+ T Regulatory Cell Isolation Kit (human)» (Miltenyi Biotec, Германия) согласно прописи фирмы-производителя, используя магнитный сепаратор VarioMACS и CS+ и MS+ колонки (Miltenyi Biotec, Германия). Также использовали клеточную линию миелогенной эритролейкемии человека – K562, полученную из ATCC (American Type Culture Collection, USA).

Во всех экспериментах клетки культивировали в концентрации 2×10⁶ клеток/мл, в полной культуральной среде (ПКС), содержащей RPMI-1640, 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS), 2 мМ глутамин, 100 МЕ/мл пенициллина и 100 мг/мл стрептомицина (Sigma-Aldrich, США) в 96-ячеечных планшетах при 37°C и 5% CO₂ в CO₂-инкубаторе.

Для изучения влияния nTreg-клеток на активность K562-клеток, свежесыведенные nTreg-клетки стимулировали T-супрессорным инспектором (TSI) (Miltenyi Biotec, Германия), специфическим стимулятором Treg-клеток, представляющим собой моноклональные антитела CD3, CD28, CD2, сорбированные на парамагнитных бусах, которые предварительно отмывали RPMI-1640 и добавляли к клеткам в соотношение клетки:бусы равном 1:1. Клетки также стимулировали суперантигеном CytoStim (20мкл/мл) и низкими дозами IL-2 (0,3 нг/мл). nTreg-клетки стимулировали в среде TechMACS в течение 3 дней в концентрации 2×10⁶ клеток/бус на 1 мл. После окончания инкубации отбирали супернатанты путем их отсасывания автоматической пипеткой и центрифугированием, а клетки отмывали PBS. Далее, для изучения влияния nTreg-клеток на активность опухолевых клеток контактным способом, клетки опухолевой линии K562 ко-культивировали с nTreg-клетками в течение 3 дней в соотношении 1:1, соответственно. Контролем служили культуры K562-клеток, культивируемые в ПКС в присутствии TSI.

Для изучения влияния nTreg-клеток на активность опухолевых клеток бесконтактным способом, K562-клетки культивировали в супернатантах, полученных от nTreg-клеток, с добавлением 10% FBS при тех же условиях. Контролем служили культуры K562-клеток, культивируемые в ПКС на основе среды TechMACS.

После этого клетки отбирали, отмывали, метили антителами против АТФ-связывающего

кассетного транспортера G2 (ABCG2) и рецептора с тирозинкиназной активностью 1 (VEGFR1), конъюгированными с фикоэритрином, и анализировали экспрессию маркеров опухолевыми клетками с применением метода проточной цитофлуориметрии [16].

Для изучения пролиферативной активности K562-клеток применяли МТТ-тест. Для этого, K562-клетки культивировали в присутствии nTreg-клеток, далее к культурам вносили по 20 мкл (3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) МТТ раствора (5 мг/мл) (Sigma-Aldrich, США) и инкубировали 4 ч при 37⁰ С, затем удаляли надосадочную жидкость и осушали осадок при комнатной температуре, а образовавшиеся кристаллы формазана растворяли в 100 мкл DMSO (Sigma-Aldrich, США). Оптическую плотность измеряли на иммуноферментном анализаторе при 492/630 нм.

Для изучения чувствительности опухолевых клеток к действию даунорубицина и гемцитабина, по истечению трех дней инкубации к культурам вносили 200 нг/мл даунорубицина или 6.8 мкг/мл гемцитабина и инкубировали дополнительно 24 ч, после чего проводили МТТ-тест.

Индекс пролиферации опухолевых клеток (%) рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{ИПП (\%)} = [1 - (O - K_1 + K_2)] \times 100,$$

где O – оптическая плотность в опытной ячейке, содержащей K562-клетки и nTreg-клетки, а также противоопухолевые препараты, при анализе уровня резистентности к ним, K₁ – оптическая плотность в контрольной ячейке, содержащей только K562-клетки или K562-клетки и противоопухолевые препараты, K₂ – оптическая плотность в контрольной ячейке, содержащей только nTreg-клетки или nTreg-клетки и противоопухолевые препараты.

Полученные данные обрабатывали методами математической статистики. Рассчитывали средние арифметические величины и стандартные отклонения. Достоверность различия рассчитывали по критерию Стьюдента с уровнем значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

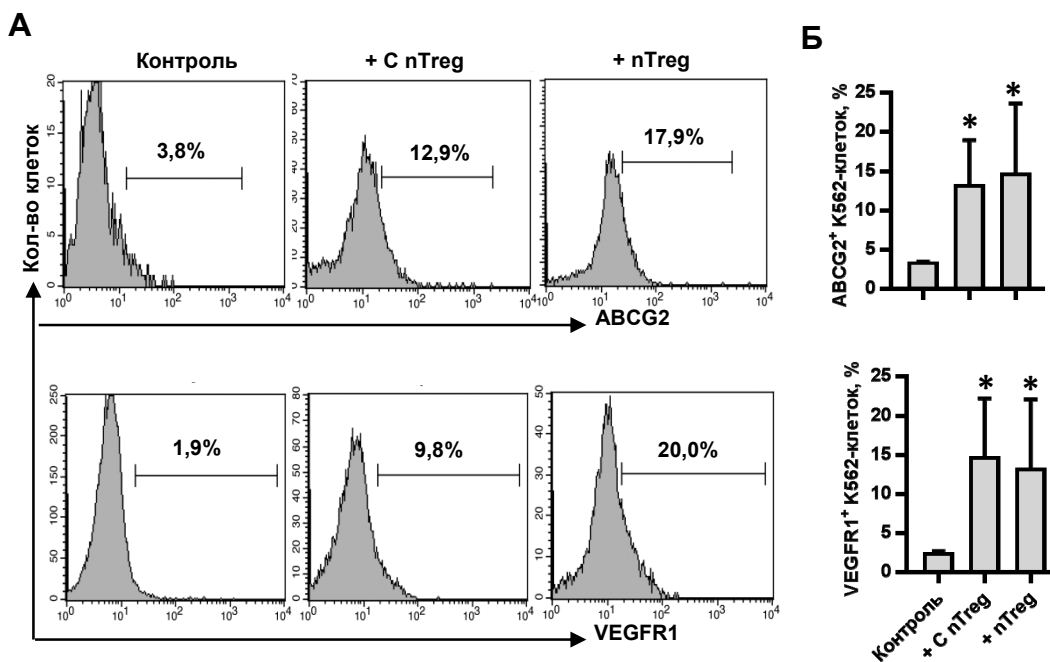
Известно, что опухолевые клетки экспрессируют факторы, способствующие росту,

ангиогенезу, метастазированию опухолей и устойчивости опухолевых клеток к противоопухолевым препаратам [17-22]. Мембранный транспортер ABCG2, участвующий в норме в распределении и элиминации эндогенных соединений, а также в защите тканей от токсического воздействия ксенобиотиков, также обеспечивает мультирезистентность опухолевых клеток к противоопухолевым препаратам, за счет их эксфлюкса из клеток [23]. В последнее время стало известно, что практически все общепринятые препараты, применяемые для лечения онкологических заболеваний являются субстратом ABCG2 [24]. Роль ABCG2 в развитии устойчивости к противоопухолевым препаратам клеток линий K562, также была ранее показана [25, 26, 27].

В ходе исследования нами было выявлено, что инкубация в супернатантах, полученных от nTreg-клеток, и кокультивирование с nTreg-клетками повышают экспрессию ABCG2 на мембране K562-клеток по сравнению с контрольными культурами (рис. 1).

Далее мы изучили влияние nTreg-клеток на уровень экспрессии рецептора VEGF1 K562-клетками. Известно, что рецептор VEGF1, участвующий в норме в регуляции ангиогенеза во время эмбрионального развития, способствует ангиогенезу, росту опухолей и их метастазированию посредством регуляции множественных процессов в раковых клетках, сосудистой сети, строме и других связанных с опухолью клетках. Ранее сообщалось, что VEGFR1 вызывает переход от эпителиально-мезенхимального к инвазивному и метастатическому фенотипу опухолевых клеток. Кроме того, было обнаружено, что VEGFR1 способствует метастазированию посредством иницирования предметастатической ниши с помощью генерации VEGFR1-положительных предшественников в костном мозге [28].

Нами было выявлено, что супернатанты, полученные от nTreg-клеток, и непосредственное кокультивирование с nTreg-клетками повышают долю K562-клеток, экспрессирующих VEGFR1 по сравнению с контрольными культурами K562-клеток (рис. 1). Так как ранее было показано, что TGF-β, продуцируемый nTreg-клетками в больших количествах [29], стимулирует экспрессию VEGF опухолевыми клетками [30], можно предположить, что nTreg-клетки повышают экспрессию VEGFR1 K562-клетками посредством секретируемого ими TGF-β.



Примечание – представлены репрезентативные (А) и обобщенные данные в виде М±SD (Б), достоверность различий между группами представлена как * $p < 0,05$ (по критерию Стьюдента).

Рисунок 1 – Доля ABCG2- и VEGFR1-позитивных K562-клеток в контроле (Контроль), в присутствии супернатантов, полученных от nTreg-клеток (+С nTreg), и после совместного культивирования с nTreg-клетками (+nTreg) (n=8)

Поскольку полученные нами данные указывают на то, что факторы, секретируемые nTreg-клетками, стимулируют пролиферацию и устойчивость к противоопухолевым препаратам K562-клеток, культивируемых *in vitro*, повышая экспрессию ABCG2 и VEGFR1, мы исследовали пролиферативную активность и устойчивость K562-клеток к даунорубину и гемцитабину после воздействия nTreg-клеток в МТТ-тесте. Данные противоопухолевые препараты были

выбраны исходя из того, что они часто применяются для лечения миелогенной лейкемии в клинике [27].

Как показало наблюдение под микроскопом, кокультивирование с nTreg-клетками и супернатантами nTreg-клеток приводило к повышению пролиферации K562-клеток по сравнению с культурами K562-клеток, не подвергавшихся воздействию nTreg-клеток (рис. 2).

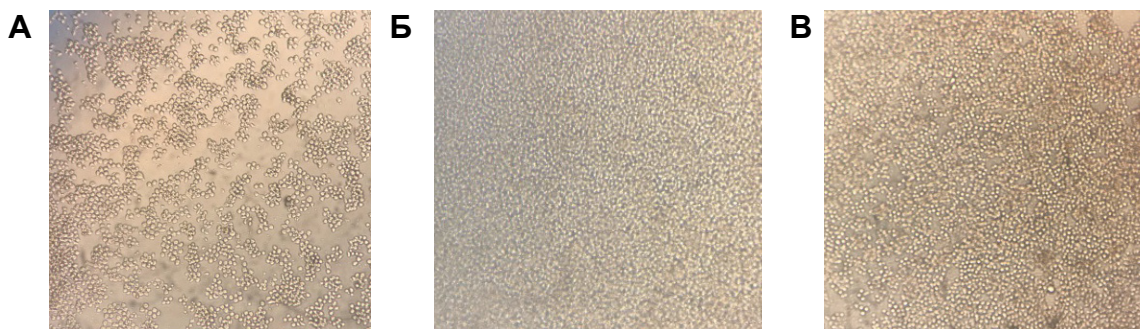
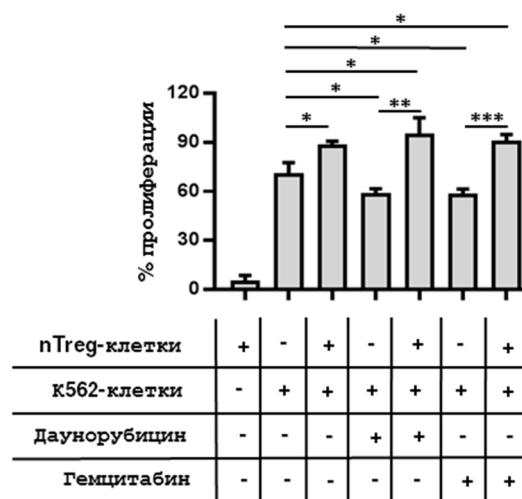


Рисунок 2 – Микрофотография 3-х дневных культур К-562-клеток (А), культивируемых без всякого воздействия; культур К-562-клеток (Б), культивируемых в супернатантах nTreg-клеток; ко-культур nTreg-клеток и К-562-клеток (В). Увеличение x200

Как показано на рисунке 3, инкубация K562-клеток с nTreg-клетками значительно повышала пролиферативную активность опухолевых клеток и резистентность данных клеток к действию даунорубицина и гемцитабина по сравнению с контрольными культурами. Таким образом, можно сделать вывод о том, что nTreg-

клетки секретируют факторы, повышающие устойчивость данных клеток к противоопухолевым препаратам даунорубицин и гемцитабин и повышению их пролиферации *in vitro*. Присутствие nTreg-клеток в опухолевом микроокружении может вызывать аналогичный эффект.



Примечание – представлены обобщенные данные в виде $M \pm SD$, достоверность различий между группами представлена как * $p < 0,05$, ** $p < 0,005$, *** $p < 0,005$ (по критерию Стьюдента).

Рисунок 3 – Пролиферативная активность и чувствительность к противоопухолевым препаратам K562-клеток в контроле и после совместного культивирования с nTreg-клетками (nTreg) и даунорубицина или гемцитабина (n=3)

Заключение

В результате проведенных экспериментов мы установили, что nTreg-клетки обладают стимулирующим влиянием на пролиферативную активность и устойчивость к даунорубицину и гемцитабину K562-клеток, повышая

экспрессию ABCG2 и VEGFR1. Полученные в ходе выполнения проекта данные могут быть использованы в качестве основы для разработки подходов к подавлению роста опухолей и предотвращению возникновения метастатической болезни и рецидивов заболевания у онкологических больных.

Литература

- 1 Kalluri R. Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis // Nat. Rev. Cancer. – 2003. – Vol. 3. – P. 422–433.
- 2 Bindea G., Mlecnik B., Tosolini M., et al. Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer // Immunity. – 2013. – Vol. 39. – P. 782–795.
- 3 Schneider T., Kimpfler S., Warth A., et al. Foxp3⁺ regulatory T cells and natural killer cells distinctly infiltrate primary tumors and draining lymph nodes in pulmonary adenocarcinoma // J. Thorac. Oncol. – 2011. – Vol. 6. – № 3. – P. 432–438.
- 4 Valmori D., Merlo A., Souleimanian N.E., Hesdorffer C.S., Ayyoub M. A peripheral circulating compartment of natural naive CD4 Tregs // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 1953–1962.
- 5 Voo K.S., Wang Y-H., Santori F.R., Boggiano C., Wang Y.H., Arima K., Bover L., Hanabuchi S., Khalili J., Marinova E., Zheng B., Littman D.R., Liu Y.J. Identification of IL-17-producing FOXP3⁺ regulatory T cells in humans // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – Vol. 106. – № 12. – P. 4793–4798.
- 6 Bluestone J.A., Abbas A.K. Natural versus adaptive regulatory T cells // Nat. Rev. Immunol. – 2003. – Vol. 3, № 3. – P. 253–257.

- 7 Taams L.S., Akbar A.N. Peripheral generation and function of CD4+CD25+ regulatory T cells // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 2005. – Vol. 293. – P. 115-131.
- 8 Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy // *Nature Rev. Immunol.* – 2006. – Vol. 6. – № 4. – P. 295-307.
- 9 Chaudhary B., Elkord E. Regulatory T Cells in the Tumor Microenvironment and Cancer Progression: Role and Therapeutic Targeting // *Vaccines (Basel).* – 2016. – Vol. 4. – № 3. – e28.
- 10 Ladoire S., Arnould L., Apetoh L., Coudert B., Martin F., Chauffert B., Fumoleau P., Ghiringhelli F. Pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy of breast carcinoma is associated with the disappearance of tumor-infiltrating foxp3+ regulatory T cells // *Clin. Cancer Res.* – 2008. – Vol. 14. – P. 2413–2420.
- 11 Gregg R., Smith C.M., Clark F.J., Dunnion D., Khan N., Chakraverty R., Nayak L., Moss P.A. The number of human peripheral blood CD4+CD25high regulatory T cells increases with age // *Clin. Exp. Immunol.* – 2005. – Vol. 140. – P. 540-546.
- 12 Chaudhary B., Elkord E. Regulatory T Cells in the Tumor Microenvironment and Cancer Progression: Role and Therapeutic Targeting // *Vaccines (Basel).* – 2016. – Vol. 4. – № 3. – e28.
- 13 Liu H., Wang S-H., Chen S-C., Chen C-Y., Lo J-L., Lin T-M. Immune modulation of CD4+CD25+ regulatory T cells by zoledronic acid // *BMC Immunol.* – 2016. – Vol. 17. – e45.
- 14 Facciabene A., Motz G.T., Coukos G. T Regulatory Cells: Key Players in Tumor Immune Escape and Angiogenesis // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72. – № 9. – P. 2162-2171.
- 15 Tan W., Zhang W., Strasner A., Grivennikov S., Cheng J.Q., Hoffman R.M., Karin M. Fibroblast-recruited, tumor-infiltrating CD4+ T cells stimulate mammary cancer metastasis through RANKL-RANK signaling // *Nature.* – 2011. – Vol. 470. – № 7335. – P. 548–553.
- 16 Carleton CS, Nicholson JKA. 2000. Immunophenotyping. New York: John Wiley & Sons. 448 pp.
- 17 Hillen F., Griffioen A.W. Tumour vascularization: sprouting angiogenesis and beyond // *Cancer Metastasis Rev.* – 2007. – Vol. 26. – № 3-4. – P. 489-502.
- 18 Tang J., Cai H., Lin L., Xie P., Zhong W., Tang M. Increased expression of CD24 is associated with tumor progression and prognosis in patients suffering osteosarcoma // *Clin. Transl. Oncol.* – 2013. – Vol. 15. – № 7. – P. 541-547.
- 19 Maltby S., Freeman S., Gold M.J., et al. Opposing roles for CD34 in B16 melanoma tumor growth alter early stage vasculature and late stage immune cell infiltration // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6. – № 4. – e18160.
- 20 Myint H., Lucie N.P. The prognostic value of CD34 expression in acute myeloid leukemia. A mystery solved // *Leuk. Lymphoma.* – 1992. – Vol. 7. – № 5-6. – P. 425-429.
- 21 Foster B.M., Zaidi D., Young T.R., Mobley M.E., Kerr B.A. CD117/c-kit in cancer stem cell-mediated progression and therapeutic resistance // *Biomedicines.* – 2018. – Vol. 6. – № 1. – pii: E31.
- 22 Todaro M., Gaggianesi M., Catalano V., et al. CD44v6 is a marker of constitutive and reprogrammed cancer stem cells driving colon cancer metastasis // *Cell Stem Cell.* – 2014. – Vol. 14. – P. 342–356.
- 23 Olempska M., Eisenach P.A., Ammerpohl O., Ungefroren H., Fandrich F., Kalthoff H. Detection of tumor stem cell markers in pancreatic carcinoma cell lines // *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* – 2007. – Vol. 6. – P. 92–97.
- 24 Di C., Zhao Y. Multiple drug resistance due to resistance to stem cells and stem cell treatment progress in cancer // *Exp. Ther. Med.* – 2015. – Vol. 9. – № 2. – P. 289-293.
- 25 Zhou S., Zong Y., Ney P.A., Nair G., Stewart C.F., Sorrentino B.P. Increased expression of the Abcg2 transporter during erythroid maturation plays a role in decreasing cellular protoporphyrin IX level // *Blood.* – 2005. – Vol. 105. – № 6. – P. 2571–2576.
- 26 Tsai C-Y., Zhang H., Local A., Rice W.G., Howell S.B. Mechanisms of resistance to Apto-253 // *Blood.* – 2016. – Vol. 128. – 5247.
- 27 Sarkar S. Role of ABCG2 in multi drug resistance and cancer stem cell // *Int. J. Cell Sci. Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 3. – № 4. – 555619.
- 28 Wu Y., Zhu Z. Vascular endothelial growth factor receptor 1, a therapeutic target in cancer, inflammation and other disorders // *Curr. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 16. – № 22. – P. 2890-2898.
- 29 Gol-Ara M., Jadidi-Niaragh F., Sadria R., Azizi G., Mirshafiey A. The Role of Different Subsets of Regulatory T Cells in Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis // *Arthritis.* – 2012. – Vol. 2012. – e805875.
- 30 Massagué J. TGFβ in Cancer // *Cell.* – 2008. – Vol. 134. – № 2. – P. 215-230.

References

- 1 Kalluri R. (2003) Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat. Rev. Cancer.*, vol. 3, pp. 422–433.
- 2 Bindea G., Mlecnik B., Tosolini M., et al. (2013) Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer. *Immunity.* vol. 39, pp. 782–795.
- 3 Schneider T., Kimpfler S., Warth A., et al. (2011) Foxp3+ regulatory T cells and natural killer cells distinctly infiltrate primary tumors and draining lymph nodes in pulmonary adenocarcinoma. *J. Thorac. Oncol.* vol. 6, pp. 432-438.
- 4 Valmori D., Merlo A., Souleimanian N.E., Hesdorffer C.S., Ayyoub M. (2005) A peripheral circulating compartment of natural naive CD4 Tregs. *J. Clin. Invest.* vol. 115, pp. 1953-1962.
- 5 Voo K.S., Wang Y-H., Santori F.R., Boggiano C., Wang Y.H., Arima K., Bover L., Hanabuchi S., Khalili J., Marinova E., Zheng B., Littman D.R., Liu Y.J. (2009) Identification of IL-17-producing FOXP3+ regulatory T cells in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* vol. 106, pp. 4793-4798.
- 6 Bluestone J.A., Abbas A.K. (2003) Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat. Rev. Immunol.* vol. 3, pp. 253–257.

- 7 Taams L.S., Akbar A.N. (2005) Peripheral generation and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* vol. 293. pp. 115-131.
- 8 Zou W. (2006) Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nature Rev. Immunol.* vol. 6. pp. 295-307.
- 9 Chaudhary B., Elkord E. (2016) Regulatory T Cells in the Tumor Microenvironment and Cancer Progression: Role and Therapeutic Targeting. *Vaccines (Basel).* vol. 4. e28.
- 10 Ladoire S., Arnould L., Apetoh L., Coudert B., Martin F., Chauffert B., Fumoleau P., Ghiringhelli F. (2008) Pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy of breast carcinoma is associated with the disappearance of tumor-infiltrating foxp3+ regulatory T cells. *Clin. Cancer Res.* vol. 14. pp. 2413–2420.
- 11 Gregg R., Smith C.M., Clark F.J., Dunnion D., Khan N., Chakraverty R., Nayak L., Moss P.A. (2005) The number of human peripheral blood CD4+CD25high regulatory T cells increases with age. *Clin. Exp. Immunol.* vol. 140. pp. 540-546.
- 12 Chaudhary B., Elkord E. (2016) Regulatory T Cells in the Tumor Microenvironment and Cancer Progression: Role and Therapeutic Targeting. *Vaccines (Basel).* vol. 4. e28.
- 13 Liu H., Wang S-H., Chen S-C., Chen C-Y., Lo J-L., Lin T-M. (2016) Immune modulation of CD4+CD25+ regulatory T cells by zoledronic acid. *BMC Immunol.* vol. 17. e45.
- 14 Facciabene A., Motz G.T., Coukos G. (2012) T Regulatory Cells: Key Players in Tumor Immune Escape and Angiogenesis. *Cancer Res.* vol. 72. pp. 2162-2171.
- 15 Tan W., Zhang W., Strasner A., Grivennikov S., Cheng J.Q., Hoffman R.M., Karin M. (2011) Fibroblast-recruited, tumor-infiltrating CD4+ T cells stimulate mammary cancer metastasis through RANKL-RANK signaling. *Nature.* vol. 470. pp. 548–553.
- 16 Carleton CS, Nicholson JKA. (2000) Immunophenotyping. New York: John Wiley & Sons. 448 pp.
- 17 Hillen F., Griffioen A.W. (2007) Tumour vascularization: sprouting angiogenesis and beyond. *Cancer Metastasis Rev.* vol. 26. pp. 489-502.
- 18 Tang J., Cai H., Lin L., Xie P., Zhong W., Tang M. (2013) Increased expression of CD24 is associated with tumor progression and prognosis in patients suffering osteosarcoma. *Clin. Transl. Oncol.* vol. 15. pp. 541-547.
- 19 Maltby S., Freeman S., Gold M.J., et al. (2011) Opposing roles for CD34 in B16 melanoma tumor growth alter early stage vasculature and late stage immune cell infiltration. *PLoS One.* vol. 6. e18160.
- 20 Myint H., Lucie N.P. (1992) The prognostic value of CD34 expression in acute myeloid leukemia. A mystery solved. *Leuk. Lymphoma.* vol. 7. pp. 425-429.
- 21 Foster B.M., Zaidi D., Young T.R., Mobley M.E., Kerr B.A. (2018) CD117/c-kit in cancer stem cell-mediated progression and therapeutic resistance. *Biomedicines.* vol. 6. E31.
- 22 Todaro M., Gaggianesi M., Catalano V., et al. (2014) CD44v6 is a marker of constitutive and reprogrammed cancer stem cells driving colon cancer metastasis. *Cell Stem Cell.* vol. 14. pp. 342–356.
- 23 Olempska M., Eisenach P.A., Ammerpohl O., Ungefroren H., Fandrich F., Kalthoff H. (2007) Detection of tumor stem cell markers in pancreatic carcinoma cell lines. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* vol. 6. pp. 92–97.
- 24 Di C., Zhao Y. (2015) Multiple drug resistance due to resistance to stem cells and stem cell treatment progress in cancer. *Exp. Ther. Med.* vol. 9. pp. 289-293.
- 25 Zhou S., Zong Y., Ney P.A., Nair G., Stewart C.F., Sorrentino B.P. (2005) Increased expression of the Abcg2 transporter during erythroid maturation plays a role in decreasing cellular protoporphyrin IX level. *Blood.* vol. 105. pp. 2571–2576.
- 26 Tsai C-Y., Zhang H., Local A., Rice W.G., Howell S.B. (2016) Mechanisms of resistance to Apto-253. *Blood.* vol. 128. 5247.
- 27 Sarkar S. (2017) Role of ABCG2 in multi drug resistance and cancer stem cell. *Int. J. Cell Sci. Mol. Biol.* vol. 3. 555610
- 28 Wu Y., Zhu Z. (2009) Vascular endothelial growth factor receptor 1, a therapeutic target in cancer, inflammation and other disorders. *Curr. Med. Chem.* vol. 16. pp. 2890-2898.
- 29 Gol-Ara M., Jadidi-Niaragh F., Sadria R., Azizi G., Mirshafiey A. (2012) The Role of Different Subsets of Regulatory T Cells in Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis.* vol. 2012. e805875.
- 30 Massagué J. (2008) TGFβ in Cancer. *Cell.* vol. 134. pp. 215-230.

МАЗМҰНЫ – СОДЕРЖАНИЕ

Шолу мақалаасы – Обзорная статья

Алыбаев С. Д., Бисенбаев А. К.

TOR сигнальная система в растениях

1-бөлім Раздел 1

Ботаника Ботаника

Котухов Ю.А., Данилова А.Н., Кубентаев С.А., Ануфриева О.А.

Конспект видов рода *Calamagrostis* Adans. (сем. Poaceae Barnhart) Казахстанского Алтая, Сауро-Манрака и Зайсанской впадины

Касимбекова М.Д., Калиева А.Н.

Жиделер тұқымдасы (Elaeagnaceae) жемісіндегі натрий мен калий мөлшерін атомды-абсорбциялық спектрометрия әдісімен анықтау

Сербаева А.Д., Мухитдинов Н.М., Аметов А.А., Абидкулова К.Т., Ыдырыс А.

Сирек және эндем *Egysimum croceum* M.Por өсімдігі популяцияларын эколого-фитоценодикалық бағалау

2-бөлім Раздел 2

Биотехнология Биотехнология

Айтжанова А.А., Саубенова М.Г., Мунье Дж., Олейникова Е.А., Бержанова Р.Ж.

Выделение микроорганизмов из казахских кисломолочных продуктов с антагонистической активностью в отношении дрожжей рода *Candida*

Belkoshayev A.M., Niyazova R.E., Ivashchenko A.T.

The prediction of miRNAs binding sites in CDS mRNA genes having trinucleotide repeats

3-бөлім Раздел 3

Өсімдіктер физиологиясы мен биохимиясы Физиология и биохимия растений

Ыскакова Г.Ш. Рсаишев А.С.

Сравнительное изучение устойчивости коммерческих сортов яровой мягкой и твердой пшеницы к стеблевой ржавчине

4-бөлім Раздел 4

Молекулалық биология және генетика Молекулярная биология и генетика

Калимагамбетов А.М., Бекимбек А.Т., Мұхамедиярова С.Қ., Ракишева З.Б., Белоусов В.Ю.,

Соломадин М.В., Садуаева К.А.

Қазақ этникалық тобындағы әйелдердің гемостаз жүйесінің полиморфты гендерінің жүктіліктің асқынуларымен ассоциациясы

Қуанбай Ә.Қ., Жөндербек Ж., Сапарбаев М.К., Ищенко А.А., Тайпақова С.М., Бисенбаев А. К.

Arabidopsis thaliana өсімдігінің поли (адф-рибоза) полимераза 3 κДНК генін *E. Coli* жүйесінде клондау

Мынбаева Д.О., Омирбекова Н.Ж., Жунусбаева Ж.К., Жусупова А.И., Бегманова М.О., Амиргалиева А.С.

Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у сортов мягкой пшеницы

5-бөлім Раздел 5

Зоология Зоология

Тарасовская Н.Е., Жумадилов Б.З.

Динамика зараженности остромордой лягушки нематодой *Oswaldocruzia filiformis* в пойменных биотопах р. Иртыш...

6-бөлім Раздел 6

Адам және жануарлар физиологиясы Физиология человека и животных

Дәулет Д.Г., Сатыбалдина А.Е., Ұлықбекова А.О., Есжан Б.Г., Сарсенбаева Ұ.Б., Сазанова А.А., Атанбаева Г.К., Төлеуханов С.Т., Әбдірешов С.Н.

Внедрение методики в учебный процесс результатов исследования изменений клеток крови и физико-химические показатели у крыс после введения энтеросорбентов.....

Исламов Р., Құстова Т., Лю М., Жанаева С., Керимжанова Б., Ильин А.

Антиструмогенная активность лекарственного средства фс-1 при гипотиреозе самок крыс вы-званного метимазолом..

Останчук Е.О., Глеулиева Р.Т., Каргажанов А., Мухатаев Ж.Е., Перфильева Ю.В.

Натуральные Т-регуляторные клетки повышают пролиферативную активность и резистентность к действию противоопухолевых препаратов клеток линии эритролейкемии человека K562

CONTENTS

Review article

Alybayev D.S., Bissenbaev K.A.

TOR signaling system in plants

Section 1 Botany

Kotuchov Yu.A., Danilova A.N., Anufrieva O.A.

Summary of species of the genus *Calamagrostis* Adans. (Sem. Poaceae Barnhart) of Kazakhstan Altai, Sauro-Manrak and Zaisan Depression

Kassimbekova M.D., Kaliyeva A.N.

Determination of Sodium and Potassium in the fruit of family Elaeagnaceae by Atomic Absorption Spectrometry

Serbayeva A.D., Mukhitdinov N.M., Ametov A.A., Abidkulova K.T., Ydyrys A.

Ecological and phytocoenotical assessment of populations of rare and endemic species *Erysimum croceum* M.Pop.....

Section 2 Biotechnology

Aitghanova A.A., Saubenova M.G., Mounier J., Oleinikova E.A., Berzhanova R.Zh.

Isolation of microorganisms from Kazakh dairy products with antagonistic activity against yeast species from the *Candida* genus

Belkozhayev A.M., Niyazova R.E., Ivashchenko A.T.

The prediction of miRNAs binding sites in CDS mRNA genes having trinucleotide repeats

Section 3 Plants Physiology and Biochemistry

Yskakova G.Sh., Rsaliyev A.S.

Comparative studying of resistance of commercial varieties of spring bread and durum wheat to stem rust.....

Section 4 Molecular biology and genetics

Kalimagametov A.M., Bekimbek A.T., Mukhamediyarova S.K., Rakisheva Z.B., Belousov V.Yu., Solomadin M.V., Sadueva K.A.
Association of hemostatic system genes with pregnancy complications in women of the kazakh ethnic group

Kuanbay A.K., Жөндербек Ж., Сапарбайев M.K., Ishchenko A.A., Таиракова S.M., Bissenbaev A.K.

Cloning of the *Arabidopsis thaliana* poly (ADP-ribose) polymerase 3 cDNA gene in *E. Coli*

Мынбайева D.O., Omirbekova N.Zh., Zhunusbayeva Zh.K., Zhusupova A.I., Begmanova M.O., Amirgalieva A.S.

Identification resistance genes to brown rust in softwheat varieties.....

Section 5 Hydrobiology

Aubakirova M.O., Krupa E.G.

Comprehensive assessment of the ecological state of sewage ponds system Right-Bank Sorbulak Canal

Section 6
Zoology

Tarasovskaya N.E., Zhumadilov B.Z.

Seasonal and age dynamics of infection indicators of moor frog by nematodes *Oswaldocruzia filiformis* in flood landscapes in the connection of Irtysh river hydrological regime.....

Section 7
Human and animals physiology

Daulet D.G., Satybaldina A.E., Ulykbekova A.O., Eszhan B.G., Sarsenbaeva U.B., Sazanova A.A., Atanbaeva G.K., Toleukhanov S.T., Abdyreshov S.N.

Introduction into the educational process the results of the study of changes in blood cells and physical-chemical indices in rates after injection of enterosorbents.....

Islamov R., Kustova T., Lu M., Zhanaeva S., Kerimzhanova B., Ilin A.

The anti-goiter activity the drug of FS-1 for hypothyroidism of the female rats induced by methimazole.....

Ostapchuk E.O., Tleulieva R.T., Kargazhanov A., Muhataev Zh.E., Perfiyeva Ju.V.

Natural T-regulatory cells increase the proliferative activity and drug resistance of K562 erythroleukemic cells