

ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ХАБАРШЫ

Биология сериясы

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

ВЕСТНИК

Серия биологическая

AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

EXPERIMENTAL BIOLOGY

№3 (84)

Алматы
«Қазақ университеті»
2020



ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498

ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ №3 (84) қыркүйек



04. 05. 2017 ж. Қазақстан Республикасының Ақпарат және коммуникация министрлігінде тіркелген

Қуәлік № 16494-Ж

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

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)
Турусбеков 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

Смекинов Изат, PhD (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.



Министерство образования и науки
Республики Казахстан
Официальный интернет-ресурс
Комитета по контролю в сфере
образования и науки



РОССИЙСКИЙ ИНДЕКС
НАУЧНОГО ЦИТИРОВАНИЯ
Science Index



Ғылыми басылымдар бөлімінің басшысы

Гүлмира Шаккозова
Телефон: +7 747 125 6790
E-mail: Gulmira.Shakkozova@kaznu.kz

Редакторлары:

Гүлмира Бекбердиева
Агила Хасанқызы

Компьютерде беттеген

Айгүл Алдашева

ИБ № 13830

Пішімі 60x84 ¹/₈. Көлемі 11,8 б.т. Тапсырыс № 11619.
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, 2020

1-бөлім
БОТАНИКА

Section 1
BOTANY

Раздел 1
БОТАНИКА

Ю.А. Котухов, А.Н. Данилова*, О.А. Ануфриева

Алтайский ботанический сад, Казахстан, г. Риддер,

*e-mail: a-n-danilova@yandex.ru

КОНСПЕКТ ВИДОВ РОДА *BETULA* L. (сем. *Betulaceae* S. F. Gray) КАЗАХСТАНСКОГО АЛТАЯ, САУРО-МАНРАКА И ЗАЙСАНСКОЙ ВПАДИНЫ

Конспект рода *Betula* L. составлен авторами на основании полевых работ, проводившихся в 1970–2019 гг., а также использованы сборы других коллекторов, хранящиеся в гербарии Республиканского государственного предприятия на праве хозяйственного ведения «Алтайский ботанический сад» (г. Риддер) и Республиканского государственного предприятия на праве хозяйственного ведения «Институт ботаники и фитоинтродукции» (г. Алматы). Цель исследования: уточнение видового состава и распространения видов рода *Betula* L. (сем. *Betulaceae* S. F. Gray.) на территории Казахстана Алтай, Приалтайских хребтов и Зайсанской впадины. В результате проведенных исследований установлено произрастание в исследуемом регионе 15 видов и одного подвида рода *Betula* L. Изучение гербарных образцов, литературных данных и частных коллекций позволило пополнить видовой состав рода *Betula* L. Казахстана 7 видами: *B. x aurata* Borkh., *B. pseudopendula* V. Vassil., *B. falcata* V. Vassil., *B. x kelleriana* Sukacz., *B. x pseudomiddendorffii* V. Vassil., *B. talassica* P. Pol., *B. fruticosa* subsp. *montana* M. Schemberg. Определена следующая насыщенность видами: Центральный Алтай – 3 вида (18,8% от общего числа видов); Южный Алтай – 11 (68,75%); Западный Алтай – 11 (68,75%); Калбинский Алтай – 6 (37,5%); Зайсанская впадина – 3 (18,75%); Сауро-Манрак – 2 (12,5%). Средний показатель насыщенности видами рода *Betula* L. во флоре Казахстана Алтай и Приалтайских хребтов равен 6, сравнительно низкий, что свидетельствует о том, что сем. *Betulaceae* в исследуемом регионе является характерным элементом бореальных и голарктических флор.

Ключевые слова: конспект, род *Betula*, вид, Казахстанский Алтай, Сауро-Манрак, Зайсанская котловина, распространение, встречаемость.

Yu.A. Kotuchov¹, A.N. Danilova^{2*}, O.A. Anufrieva³

Altai Botanical Garden, Kazakhstan, Ridder,

*e-mail: a-n-danilova@yandex.ru

List of species of the genus *Betula* L. (family *Betulaceae* S.F. Gray) of the Kazakhstan Altai, Saur-Manrak And the Zaysan depression

A list of the genus *Betula* L. was compiled by the authors on the basis of field work carried out in 1970–2019, and also the collections of other collectors stored in the herbarium of Republican state-owned enterprises on the right of economic management “Altai Botanical Garden” (Ridder) and the Institute of Botany and Phytointroduction (Almaty). Purpose: to clarify the species composition and distribution of the genus *Betula* L. (family *Betulaceae* S.F. Gray) in the territory of Kazakhstan Altai, the Altai ridges and the Zaysan depression. As a result of the studies established the growth of 15 species and one subspecies of the genus *Betula* L. in the studying region. The study of herbarium samples, literature data and private collections allowed to supplement the species composition of the genus *Betula* L. of Kazakhstan with 7 species: *B. x aurata* Borkh., *B. pseudopendula* V. Vassil., *B. falcata* V. Vassil., *B. x kelleriana* Sukacz., *B. x pseudomiddendorffii* V. Vassil., *B. talassica* P. Pol., *B. fruticosa* subsp. *montana* M. Schemberg. Species saturation in the studied region: Central Altai – 3 species (18,8% of the total number of species); Southern Altai – 11 (68,75%); Western Altai – 11 (68,75%); Kalba Altai – 6 (37,5%); Zaysan depression – 3 (18,75%); Saur-Manrak – 2 (12,5%). The average saturation index of species of the genus *Betula* L. in the flora of the Kazakhstan Altai and the Altai ranges is 6, which is relatively low, which indicates that family *Betulaceae* in the studied region is a specific element of boreal and holarctic flora.

Key words: list, genus *Betula*, species, Kazakhstan Altai, Saur-Manrak, Zaysan depression, distribution, occurrence.

Ю.А. Котухов, А.Н. Данилова*, О.А. Ануфриева

Алтай ботаникалық бағы, Қазақстан, Риддер қ.,

*e-mail: a-n-danilova@yandex.ru

Қазақстандық Алтайдағы, Сауыр-Маңырақтағы және Зайсан қазаншұңқырындағы *Betula L.* (Betulaceae S. F. Gray тұқ.) тұқымдасы түрлерінің конспектісі

Betula L. тұқымдасының конспектісі авторлармен 1970–2019 жылдары жүргізілген далалық жұмыстар негізінде әзірленген, сондай-ақ «Алтай ботаникалық бағы» шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорнының (Риддер қ.) және «Ботаника және фитоинтродукция» шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорнының (Алматы қ.) гербарийінде сақталған өзге де коллекторлардың жиынтықтары қолданылған. Мақсаты: *Betula L.* (сем. *Betulaceae S. F. Gray.*) тұқымдасы түрлерінің Қазақстан Алтайы, Алтай маңы жоталары және Зайсан қазаншұңқыры аумағындағы таралуын және түрлік құрамын нақтылау. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде зерттелетін аймақта *Betula L.* тұқымдасының 15 түрінің және бір шағын түрінің өсетіні анықталды. Гербарийлік үлгілерді, әдебиеттердегі мәліметтерді және жеке коллекцияларды зерттеу Қазақстандағы *Betula L.* тұқымдасының түрлік құрамын 7 түрмен толықтыруға мүмкіндік берді: *B. x aurata* Borkh., *B. pseudopendula* V. Vassil., *B. falcata* V. Vassil., *B. x kelleriana* Sukacz., *B. x pseudomiddendorffii* V. Vassil., *B. talassica* P. Pol., *B. fruticosa* subsp. *montana* M. Schemberg. Келесідей түрлермен толығыны анықталды: Орталық Алтай – 3 түр (түрлердің жалпы санынан 18,8%); Оңтүстік Алтай – 11 (68,75%); Батыс Алтай – 11 (68,75%); Қалба Алтайы – 6 (37,5%); Зайсан қазаншұңқыры – 3 (18,75%); Сауыр-Маңырақ – 2 (12,5%). Қазақстандық Алтайдағы және Алтай маңы жоталарындағы флорада *Betula L.* тұқымдасы түрлерімен толыққандықтың орташа көрсеткіші 6-ға тең, салыстырмалы түрде төмен, бұл *Betulaceae* тұқымдасы зерттелетін аймақтағы бореальдық және голарктикалық флоралардың тән элементі болып табылатынын дәлелдейді.

Түйін сөздер: конспект, *Betula L.*, тұқымдасы, Қазақстандық Алтай, Сауыр Маңырақ, Зайсан ойпаты, таралуы, кездесуі.

Введение

Род *Betula L.* (Береза) является крупным и полиморфным родом семейства березовые, виды которого широко распространены во всех растительных зонах и поясах Голарктики. Из 130 видов рода *Betula L.*, произрастающих в Голарктике согласно данным В.П. Голоскокова [1], во флоре Казахстана указано 15 видов. В более поздней сводке А.А. Абдулиной [2] насчитывается 12 видов *Betula L.* Благодаря своему положению, флора исследуемого региона, в частности, рода *Betula L.*, формировалась под влиянием с одной стороны бореального, с другой – древне-средиземноморского флористического подцарства [3–4].

Род *Betula L.* относится к наиболее сложному таксону в сем. *Betulaceae S. F. Gray.* 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 *Betula L.* (сем. *Betulaceae S. F. Gray.*) на территории Казахстанского Алтая, Приалтайских хребтов и Зайсанской впадины.

Для достижения поставленной цели авторами проанализированы и в некоторых случаях

использованы литературные сведения по распространению видов в пределах исследуемого региона [5–15]. Также проработаны работы зарубежных исследователей по изучению видов рода *Betula L.* [16–24].

Материалы и методики исследования

Конспект рода *Betula L.* исследуемого региона составлен на основании многолетних исследований авторов, проводившихся в 1970–2019 гг. Маршрутами были охвачены территории Казахстанского Алтая, Приалтайских хребтов и Зайсанской впадины. Используя в обследованиях маршрутно-рекогносцировочный метод [25], собрано 760 гербарных листов.

Кроме того, учтены сборы других коллекторов, хранящиеся в гербарных фондах Республиканского государственного предприятия «Алтайский ботанический сад» (г. Риддер) и Республиканского государственного предприятия «Институт ботаники и фитоинтродукции» (г. Алматы), а также сведения из цитируемой литературы.

Номенклатурная цитата ограничена первичным описанием. Названия видов даны согласно последним монографическим сводкам и публикациям [26–30].

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

Обследуемый район в пределах Восточно-Казахстанской и частично бывшей Семипалатинской областей, площадью около 200 тыс. км² расположен в бассейне р. Иртыш, между 47-51⁰ северной широты и 72-87⁰ 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. В соответствии с классификацией, принятой во Флоре Казахстана [31], исследуемая территория включает три флористических региона: 12. Зайс. (Зайсанская впадина); 22. Алтай; 23. – Тарбагатай (хр. Саур, 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, Азутау, 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 [32].

Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлено произрастание на территории Казахстанского Алтая, Приалтайских хребтов и Зайсанской впадины 15 видов и одного подвида рода *Betula* L. Изучение гербарных образцов, литературных данных и частных коллекций позволило пополнить видовой состав рода *Betula* L. Казахстана 7 видами: *B. x aurata* Borkh., *B. pseudopendula* V. Vassil., *B. falcata* V. Vassil., *B. x kelleriana* Sukacz., *B. x pseudomiddendorffii* V. Vassil., *B. talassica* P. Pol., *B. fruticosa* subsp. *montana* M. Schemberg.

В исследуемом регионе выявлена насыщенность рода видами: Центральный Алтай – 3 вида (18,8% от общего числа видов); Южный Алтай – 11 (68,75%); Западный Алтай – 11(68,75%); Калбинский Алтай – 6 (37,5%); Зайсанская впадина – 3 (18,75%); Сауро-Манрак – 2 (12,5%). (Таблица). Средний показатель насыщенности видами рода *Betula* L. во флоре Казахстанского Алтая и Приалтайских хребтов равен 6, сравнительно низкий. Следовательно, сем. Betulaceae в исследуемом регионе является характерным элементом бореальных и голарктических флор. По количеству видов в регионе Южный, Западный, Калбинский Алтай в своем составе насчитывают 12 видов или 75% от общего видового состава рода *Betula* L. Кроме указанных регионов, еще представлены 3 региона, включающие 4 вида (25%). Видовой состав рода *Betula* Казахстанского Алтая, Сауро-Манрака и Зайсанской впадины неоднородный, включает бореальные, средиземноморские географические элементы.

Таблица – Видовой состав рода *Betula* L. и распространение их по регионам

Название вида	Центральный Алтай	Южный Алтай	Западный Алтай	Калбинский Алтай	Зайсанская впадина	Сауро-Манрак
1	2	3	4	5	6	7
<i>B. pendula</i> Roth	+	+	+	+	+	+
<i>B. pubescens</i> Ehrh.	–	+	+	+	–	–
<i>B. x aurata</i> Borkh.	–	–	+	–	–	–
<i>B. turkestanica</i> Litv.	–	+	–	–	+	–
<i>B. talassica</i> P. Pol.	–	–	–	+	–	–
<i>B. pseudopendula</i> V. Vassil.	–	–	+	–	–	–
<i>B. reznitzenkoana</i> (Litv.) Schischk.	–	+	–	+	+	+
<i>B. falcate</i> V. Vassil.	–	–	+	–	–	–

Название вида	Центральный Алтай	Южный Алтай	Западный Алтай	Калбинский Алтай	Зайсанская впадина	Сауро-Манрак
1	2	3	4	5	6	7
<i>B. tortuosa</i> Ledeb.	–	+	+	–	–	–
<i>B. microphylla</i> Bunge	–	+	+	+	–	–
<i>B. x kelleriana</i> Sukacz.	–	+	–	–	–	–
<i>B. tianschanica</i> Rupr.	–	+	–	+	–	–
<i>B. x pseudomiddendorffii</i> V. Vassil.	–	–	+	–	–	–
<i>B. rotundifolia</i> Spach	+	+	+	–	–	–
<i>B. fruticosa</i> Pall.	+	+	+	–	+	–
<i>B. fruticosa</i> subsp. <i>montana</i> M. Schemberg	–	+	+	–	–	–

Предварительный анализ ареалов берез Казахстанского Алтая, указывает на тесные связи с бореальной флорой Евразии и Голарктики, о частом проникновении туранских и центральноазиатских видов (*B. talassica* P. b Pol., *B. turkestanica* Litv., *B. tianschanica* Rupr.). Это указывает на связи флоры гор Южного, Западного и Калбинского Алтая в прошлом и настоящем с флорами горных систем Передней Азии, включая горы Средней Азии, Казахстана, Монголии и Сибири.

Экологическая характеристика выделенных экологических групп такова: доминируют мезофиты – 9 (56,25%), на втором плане мезопетрофиты – 3 (18,75%), доля ксеропетрофитов – 2 (12,5%) и мезопетрофитов – 2 (12,5%).

Анализ эндемичности видов дает возможность более конкретно судить о происхождении и возрасте вида. На территории Казахстанского Алтая зарегистрировано 6 видов с азиатским ареалом (*B. talassica* P. Pol., *B. tianschanica* Rupr., *B. pseudopendula* V. Vassil., *B. rezniczenkoana* (Litv.) Schischk., *B. falcata* V. Vassil., *B. microphylla* Bunge). Большинство эндемиков узколокальны и, по-видимому, сравнительно молодые, хорошо натурализовавшиеся гибридогенные виды. Ограниченное распространение большинства из них в регионе также не исключает возможность их современного происхождения. Эндемизм является сравнительно молодым – миоцен-плиоценовым. По характеру ареалов их можно распределить в следующие группы: алтайская (*B. falcata* V. Vassil., *B. pseudopendula* V. Vassil., *B. x kelleriana* Sukacz.), тяньшано-алтайская (*B. talassica* P. Pol., *B. turkestanica* Litv.), джунгаро-алтайская (*B. microphylla* Bunge, *B. rezniczenkoana* (Litv.) саяно-алтайская (*B. x pseudomiddendorffii*

V. Vassil., *B. fruticosa* Pall.).

Рассматривая флору любой территории как историческое явление, выделяют реликтовые элементы, отражающие историческое участие в формировании флоры. На основании ареалов выделено 2 вида рода *Betula*, имеющие реликтовые места обитания. Установлено, что на исследуемой территории сохранились рефугиумы двух реликтовых видов, входящих в миоцен-плиоценовый нагорно-ксерофильный древне-средиземноморский комплекс (*B. turkestanica* Litv., *B. talassica* P. Pol.).

Ключ для определения видов рода *Betula* L. (Сем. *Betulaceae*.f. *gray*) Казахстанского Алтая, Сауро-Манрака и Зайсанской впадины

1. Крупные деревья и низкие деревца 2
+ Кустарники.....13
2. Более или менее высокие деревья, 20–25 м выс. с белой корой, у основания стволов черные, трещиноватые3
+ Деревья 4–15 м выс., с различной окраской коры.....5
3. Листья голые ромбические, треугольно-яйцевидные с клиновидным или плоским основанием, оттянутой верхушкой; крылышки шире орешка в 2–4 раза.....1. *B. pendula* Roth
+ Деревья с другими признаками4
4. Листья овальные или короткояйцевидные с оттянутой верхушкой, закругленным или сердцевидным основанием; порослевые побеги опушенные без смолистых бородавочек2. *B. pubescens* Ehrh.
+ Листья жестковатые, яйцевидные или широкотреугольные, их верхушки заостренные, мо-

лодые побеги голые или слабо усаженные смолистыми бородавочками ... 13. *B. xaurata* Borkh.

5. Деревья 6–15 м выс., в большинстве многоствольные6

+ Более низкие деревца 3–5 м выс.....10

6. Многоствольное дерево, 8–12 м выс, с грязновато-желтой сильно отслаивающейся в виде лоскутов корой. Листья яйцевидные, заостренные с клиновидным основанием. Крылышки равны ширине орешка..... 4. *B. turkestanica* Litv.

+ Растения с другими признаками.....7

7. Дерево до 12 м выс., с гладкой белой корой. Листья треугольно-яйцевидные широко клиновидным основанием, заостренной изагнутой верхушкой, по краям крупно-лопастно-зубчатые...12. *B. talassica* P. Pol.

+ Растения с другими признаками8

8. Боковые лопасти плодущих чешуй горизонтально отклоненные, вниз направленные, крылышки в 1,5 раза шире орешков14. *B. pseudopendula* V. Vassil.

+ Боковые лопасти плодовых чешуй горизонтально отклоненные9

9. Многоствольное дерево, с желто-серой корой, годовалые веточки густо усеянные смолистыми бородавочками. Листья ромбическо-яйцевидные, мелкие 1,5–4 см дл., и 1–3 см шир., у основания ширококлиновидные, на верхушке закругленные, крылья немного шире орешка 6. *B. rezniczenkoana* (Litv.) Schischk.

+ Высокое дерево с серовато-бурой гладкой корой. Листья 2,5–5,5 см дл., 1,6–4 см шир., широкояйцевидные с округлым широким основанием, слегка сердцевидным основанием, коротко остроконечные, крылышки уже или немного шире орешка..... 7. *B. falcata* V. Vassil.

10. Невысокое деревцо, 2–3,5 м выс., серовато-белой или желтоватой корой и искривленными ветвями. Листья ромбическо-яйцевидные, коротко-заостренные, при основании треугольные или ширококлиновидные, 2,5–5 см дл. и 2–2,5 см шир. Плодовые чешуи косо вверх направленные продолговатыми тупыми боковыми долями. Крылья почти одинаковой ширины орешка.....3. *B. tortuosa* Ledeb.

+ Невысокие прямоствольные деревца, 3–6 м выс., с желтовато-серой корой11

11. Листья мелкие ромбическо-яйцевидные, 1,5–3 см дл. и 1–1,5 см шир., у основания широко-клиновидные или треугольные. Покровные чешуи 2,6–7,8 мм дл., боковые лопасти, направленные вверх, под острым углом к средней доле. Орешек овально-эллиптический, в 2–3 раза

уже крылышка.....5. *B. microphylla* Bunge

+ Листья более крупные.....12

12. Листья яйцевидные или эллиптические, заостренные, при основании клиновидные или закругленно-клиновидные. Семенные чешуи с клиновидным основанием, боковые доли угловато-ромбические или закругленные, одинаковой длины с более узкой средней.....10. *B. xkelleriana* Sukacz.

+ Листья яйцевидные или узкояйцевидные, почти ромбическо-овальные, заостренные с широко-клиновидным основанием, 3–4 см дл. и 1,5–3 см шир. Боковые лопасти закругленные, восходящие, значительно короче средней, средняя доля линейная16. *B. tianschanica* Rupr.

13. Высокорослый кустарник, 2,5–4 м выс. Кора гладкая блестящая, красновато-бурая или темно-бурая. Листья 2–3 см дл., 1,8–2,8 см шир., округло-ромбические, в основании округло-клиновидные. Боковые доли кроющих чешуй косо вверх направленные, на верху притупленные. Крылья почти равны орешку.....15. *B. xpseudomiddendorffii* V. Vassil.

+ Более низкие кустарники.....14

14. Кустарник, 0,2–1 м выс. с черно-бурой или коричневой корой, густо покрытой смолистыми железками. Листья мелкие, 1–2,5 см дл., и 0,8–2 см шир. Плодовые чешуи вверх направленные с узкими долями.....11. *B. rotundifolia* Spach

+ Листья яйцевидные, ромбические или округло-яйцевидные.....15

15. Листья железистые, 2–4 см дл., их длина равна или немного превышает ширину, орешек в 1,5–2,5 раза шире крылышек..... 8. *B. fruticosa* Pall.

+ Листья без железок, 1,5–3 см дл., длина их почти в 1,5 раза больше ширины. Крылышки в 2–4 раза уже орешков.....9. *B. fruticosa* subsp. *montana* M. Schemberg

1 *Betula pendula* Roth 1788, Teht. Fl. Germ. :405; Шемберг 1992, Фл. Сиб. 5:64; Голоскоков 1960, Фл. Казахст. 3:57; Абдулина 1999, Сп. суд. раст. Казахст. :53; Эбель, 2012, Консп. фл. сев.-зап. част. Алт.- Саян. провинц.:177 – *B. verrucosa* Ehrh. 1791, Berit. Naturh. 6:98; Кузенева 1936, Фл. СССР, 5:291; Крылов 1930, Фл. Зап. Сиб. 4:786. – Береза бородавчатая

Дерево, 20–25 м выс., гладкой белой корой, у основания черная, трещиноватая.

Обычно. Палеарктический мезофит. Светолюбива.

Встречается в степном и кустарниковом поясах до верхнего лесного пояса в пределе до 1950 м над ур м. Самый распространенный вид.

Берега горных и степных рек, вырубки, каменистые горные склоны, сосняки, редины, берега стоячих водоемов, старые залежи. Встречается отдельными колками, иногда с примесью *Populus tremula* L. Нередко образует значительные по площади чистые насаждения.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (дол. р. Бухтарма, в районе впадения р. Чиндагатуй, 10 08 1975, Котухов Ю.; сев.-зап. склон, дол. р. Белая Берель, 11 08 1975, Котухов Ю.).

Южный Алтай: хр. Нарымский (ур. Шертан, зап. склон, сырые лужайки, колки среди высокого кустарника, 24 07 2014, Котухов Ю.; окр. с. Кайнар, дол. р. Матрацовка, среди гранитных глыб, 27 07 2017, Котухов Ю.; г. Кайнар, около с. Кайнар, скалистая гряда среди гранитных глыб, 16 09 2017, Котухов Ю.; сев.-зап. склон, в районе с. Свинчатка, сырые лужайки, 16 07 2017, Котухов Ю.); Бухтарминские горы (дол. р. Бухтарма, в районе с. Согорное, разреженный закрытый галечник, 15 07 2019, Котухов Ю.); хр. Азутау (окр. с. Теректы, южный склон, матрацевидные гранитоиды, 12 06 2012, Котухов Ю.; г. Мраморная, сев.-вост. склон, неглубокое ущелье, березовые колки, 11 07 2015, Котухов Ю.; окр. с. Теректы, скалистая гряда, 22 06 2019, Котухов Ю.).

Западный Алтай: хр. Линейский (юго-вост. склон, 1500 м над ур. м., сырой ельник, по рединам, 3 08 2017, Котухов Ю.); хр. Тигеревский (дол. р. Белая Уба, опушка кочкарникового болота, 27 07 2018, Котухов Ю.); хр. Коксинский (дол. р. Черная Уба, кустарниковые сообщества, 9 08 2013, Котухов Ю.); хр. Ивановский (сев.-зап. склон, 1800 м над ур. м., дол. р. Большая Поперечка, лиственнично-кедровое редколесье, 24 07 2002, Котухов Ю.; вер. Вышеивановская, сев.-зап. склон, 1850 м над ур. м., лиственнично-кедровая редины, 17 08 2014, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: Западная Калба (бор в районе с. Новая Шульба, дол. р. Боровлянка, закрытые барханы, 25 07 2015, Котухов Ю.); Восточная Калба (пер. Медвежий, 860 м над ур. м., матрацевидные гранитоиды, 30 06 2018, Котухов Ю.; горы Коктау, Сибинская впадина, дол. кл. Чукумбай, сырые луга, 25 08 2018, Котухов Ю.; г. Медведка, юго-зап. склон, в районе с. Тоганас, скалистый склон, 27 08 2018, Котухов Ю.; окр. с. Скалистое, сырая закустаренная дол. р. Урунхай, 28 08 2018, Котухов Ю.; юго-зап. склон, гранитный массив, 27 08 2017, Котухов Ю.; ур. Талды, дол. р. Талды, кустарниковое сообщество, 29

07 2017, Котухов Ю.; дол. р. Сибинка, в районе с. Алгабас, заболоченный луг, 15 08 2017, Котухов Ю.; дол. р. Талдыбулак, опушка ивового сообщества, 16 08 2017, Котухов Ю.).

Зайсанская котловина: Западное Призайсанье (дол. р. Черный Иртыш, 1930, Крылов П.).

Примечание. *B. pendula* Roth на территории Казахстанского Алтая отличается значительной изменчивостью диагностических признаков и возникновением переходных форм, что затрудняет выделение диагностических признаков.

2 *Betula pubescens* Ehrh. 1789, Ociter. Naturh. 5:160; Крылов 1930, Фл. Зап. Сиб. 4:798; Кузенева 1936, Фл. СССР 5:295; Голоскоков 1960, Фл. Казахст. 3:58; Абдулина 1999, Сп. сосуд. раст. Казахст.: 52; Эбель 2012, Консп. фл. сев.-зап. части Алт.-Саян. провинц.:177 – *B. alba* L. 1753, Sp. pl. :982, Шемберг 1992, Фл. Сиб. 5:64. – Береза пушистая

Дерево до 20 м выс. Кора стволов белая гладкая.

Обычно. Евразийский, мезогиофит. Светолюбива.

Сырые луга, болота, реже заболоченные долины рек, кустарниково-моховые болота в субальпийском поясе. Растет одиночными особями в составе других лесных пород, колками, рассеянно, нередко образует массивы.

Южный Алтай: хр. Нарымский (ур. Канай, 570 м над ур. м., сырое кустарниковое сообщество, 19 07 2019, Котухов Ю.); Бухтарминские горы, (Катон-Карагайская впадина, окр. с. Согорное, чистые березняки, 10 09 2017, Котухов Ю.; дол. р. Сарымсақты, чистый березовый массив, 24 08 2016, Котухов Ю.).

Западный Алтай: хр. Линейский (сев.-вост. склон, дол. р. Линейчиха, заболоченный кустарник, 13 07 2002, Котухов Ю.; дол. р. Черноубинская Линейчиха, мохово-кустарниковое болото, 14 07 2002, Котухов Ю.; дол. р. Черноубинская Линейчиха, заболоченный ельник, опушка, 27 08 2012, Котухов Ю.; дол. р. Черная Уба, заболоченный елово-березовый лес, 27 08 2018, Котухов Ю.; дол. р. Белая Уба, сырой ельник, 1500 м, 27 08 2018, Котухов Ю.); хр. Коксинский (юго-зап. предгорье, дол. р. Белая Уба, кочкарниковое болото, 15 08 2017, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: Восточная Калба (г. Медведка, ур. Талды, сырое березово-ивовое сообщество, 10 07 2017, Котухов Ю.; окр. с. Тоганас, дол. р. Сибинка, сырой кустарник, 15 07 2013, Котухов Ю.; горы Коктау, ур. Талды, дол. р. Талды, прибрежные кустарниковые сообщества, 25 08 2017, Котухов Ю.; г. Медведка,

сев.-вост. склон, тенистое ущелье, 24 08 2017, Котухов Ю.; Царская долина, пойма р. Таинты, в районе оз. Шыбындыколь, окраина болота, 8 09 2010, Котухов Ю.).

Примечание. *B. pubescens* Ehrh. часто образует гибриды с *B. pendula* Roth, *B. reznichenkoana* (Litv.) Schischk., *B. microphylla* Bunge, трудно диагностируемые.

3 *Betula tortuosa* Ledeb. 1851, Fl. Ross. 3:652; Крылов 1930, Фл. Зап. Сиб. 4:791; Кузенева 1936, Фл. СССР, 5:299; Голоскоков 1960, Фл. Казахст. 3:59; Эбель 2012, Консп. фл. сев.-зап. части Алт.-Саян. провинц.:177 – *B. alba* auct. non. L.; Шемберг 1992, Фл. Сиб. 5:64. – Береза извилистая

Невысокое корявое деревцо с серовато-белой корой.

Редко. Алтае-саянский, мезопетрофит. Светолюбива.

Субальпийские редколесья, тундры, ерниковые сообщества. Встречается небольшими плотными массивами.

Южный Алтай: хр. Курчумский (юго-вост. склон, курумник, в районе оз. Маркаколь, 27 08 2018, Оленина А., Зинченко Е.); хр. Южный Алтай (дол. р. Арасан-Каба, сев.-вост. оз. Маркаколь, 1930, Крылов П.).

Западный Алтай: хр. Ивановский (вер. Вышеивановская, 1950 м над ур. м., окраина курума, 16 08 2003, Котухов Ю.; исток р. Белая Уба, в районе Белоубинских озер, 30 08 2017, Котухов Ю.); хр. Убинский (г. Синюха, юго-вост. склон, 1200 м над ур. м., окраина курума, 3 08 2003, Котухов Ю.).

4 *Betula turkestanica* Litv. 1914, Тр. бот. муз. 12:90; Кузенева 1936, Фл. СССР, 5:303; Гамаюнова 1951, Дер. и куст. СССР, 2:327; Крылов 1930, Фл. Зап. Сиб. 4:792; Голоскоков 1960, Фл. Казахст. 3:61. – Береза туркестанская

Многоствольное дерево, 8–12 м выс., с грязновато-желтой отслаивающейся корой.

Очень редко. Горно-тяньшанско-алтайский, мезофит. Светолюбива.

Долины степных горных рек, в высотном пределе 400–800 м над ур. м. Распространение ограниченное, растет небольшими пространственно изолированными рощами. Известно два места произрастания вида.

Южный Алтай: Бухтарминские горы (устье р. Сарымсак, в районе с. Согорное, закрытый галечниковый луг, 19 08 20015, Котухов Ю.); хр. Азутау (дол. р. Алкабек, в окр. с. Николаевка, песчано-галечниковые отложения, 18 09 2016, Котухов Ю.).

Примечание. Во Флоре Западной Сибири приводится указание П. Крылова [10] на произрастание вида на юго-востоке Южного Алтая, в пойме р. Черный Иртыш, близ устья р. Алкабек (по сборам Сапожникова и Шишкина).

5 *Betula microphylla* Bunge 1835, Mem. Sav. Etr. Petersb. 2:606; Крылов 1930, Фл. Зап. Сиб. 4:792; Кузенева 1936, Фл. СССР, 5:301; Шемберг 1992, Фл. Сиб. 5:68; Голоскоков 1960, Фл. Казахст. 3:60; Абдулина 1999, Сп. сосуд. раст. Казахст. :52. – Береза мелколистная

Дерево, 4–5 м выс., кора беловато-серая, иногда розоватая.

Часто. Горно-среднеазиатско-алтайский, мезофит. Светолюбива.

Горные пойменные леса, остепненные долины, надпойменные террасы горных рек, в высотном пределе от 800 до 1500 м над ур. м. Распространена рассеянно по всей территории Казахстанского Алтая.

Южный Алтай: хр. Сарымсакты (юго-вост. склон пер. Бурхат, 2010 м над ур. м., в понижениях, 7 08 2015, Котухов Ю.); хр. Азутау (сев.-зап. склон, остепненные кустарниковые сообщества, 13 08 2001, Котухов Ю.; горы Булгартабаты, окраина заболоченной лужайки, 2 08 1983, Котухов Ю.; дол. р. Кальджир, ур. Байпакбулак, прибрежная терраса, 27 08 1983, Котухов Ю.); хр. Нарымский (юго-вост. склон, в районе с. Кайнар, среди гранитных глыб, 26 07 2017, Котухов Ю.; окр. с. Свинчатка, каменистая долина реки, 5 07 2015, Котухов Ю.; окр. с. Маймыр, дол. р. Нарым, 1600 м над ур. м., ур. Шертан, заболоченный луг, 5 07 2016, Котухов Ю.); Катон-Карагайская впадина (дол. р. Катонка, 1930, Крылов).

Западный Алтай: хр. Убинский (в районе с. Секисовка, сев.-зап. предгорье, карьер, 27 08 2014, Котухов Ю.); хр. Ульбинский (около с. Октябрьское, дол. ключа, сырая лужайка, 16 08 2016, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: Восточная Калба (горы Коктау, дол. р. Сибинка, заболоченная лужайка, 2 08 2017, Котухов Ю.; г. Медведка, юго-зап. склон, около с. Тоганас, кочкарниковое болото, 3 08 2018, Котухов Ю.; ур. Байчи, дол. р. Байчи, кустарниковое сообщество, 5 08 2018, Котухов Ю.; г. Медведка, сев.-вост. склон, в районе с. Скалистое, 7 08 2018, Котухов Ю.).

Примечание. Нередко образует гибриды с *B. pendula* Roth (*B. x reznichenkoana* (Litv.) Schischk.).

6 *Betula reznichenkoana* (Litv.) Schischk. Крылов 1930, Фл. Зап. Сиб. 4:793; Кузенева 1936,

Фл. СССР, 5:302; Голоскоков 1960, Фл. Казахст. 3:61. — *B. microphylla* var. *reznitzenkoana* Litv. 1914, Тр. бот. муз. АН, 12:37 — *B. kirgisorum* Andreev 1929. Тр. по прикл. ботан. генет. и селекц. 21,2:190. — Береза Резниченковская

Невысокое многоствольное деревцо, 8–12 м выс., с желтоватой корой.

Обычно. Джунгаро-алтайский, мезогигрофит. Светолюбива.

Горно-степные долины рек, ручьев, заболоченные долины, высотный предел — 500–700 м над ур. м. Входит в состав кустарниковых сообществ. Встречается рассеянно, небольшими группами, реже образует чистые насаждения или с примесью *Populus tremula* L., *Salix rorida* Laksch., *S. pentandra* L., *S. cinerea* L., по опушкам нередко с *B. pubescens* Ehrh.

Южный Алтай: Катон-Карагайская впадина (юго-зап. с. Катон-Карагай, заболоченный кочкарниковый луг, 17 08 2015, Котухов Ю.); хр. Южный Алтай (дол. р.р. Ак-Каба, Ак-тасты, Кальджир, 1930, Крылов П.).

Калбинский Алтай: Восточная Калба (Царская долина, галечниковая пойма р. Калгуты, 20 08 2017, Котухов Ю.; дол. р. Кокпекты, окр. с. Базанбай, прибрежный галечник, 24 07 2017, Котухов Ю.; горы Коктау, г. Медведка, прибрежные кустарниковые сообщества, 24 06 2019, Котухов Ю.; Сибинская впадина, чрезмерно сырое кочкарниковое болото, площадь березового массива около 40 га, 25 08 2017, Котухов Ю.; дол. кл. Чукумбай, сырые луговины, 25 08 2017, Котухов Ю.).

Сауро-Манрак: хр. Манрак (ур. Сасыбулак, берег ключа, 12 07 2011, Котухов Ю.; ущ. Бала-Кальджир, 1930, Крылов П.).

Зайсанская котловина (дол. р. Кокпектинка, окр. с. Кокпекты, кустарниковое сообщество, 24 08 2018, Котухов Ю.; дол. р.р. Черный Иртыш, Баэрлу, 1930, Крылов П.).

Примечание. *B. reznitzenkoana* (Litv.) Schischk. — гибридного происхождения, возникшая по И.Ю. Коропачинскому [33,34] от скрещивания *B. pendula* Roth с *B. microphylla* Bunge. По А.К. Скворцову и др. [35] этот вид является гибридом *B. pendula* Roth х *B. tianschanica* Rupr.

7 *Betula falcata* V. Vassil. 1971, Новос. сист. высш. раст. 7:120; Черепанов 1995, Сосуд. раст. Росс. и сопред. гос. :221. — Береза серповидная

Дерево до 12 м выс. Кора серовато-розовая.

Очень редко. Узколокальный эндем Юго-Западного Алтая. Мезофит. Умеренно светолюбива.

Лиственнично-кедровые редколесья, парково-лиственничные леса, в высотном пределе

1700–1900 м над ур. м. Растет рассеянно отдельными особями или небольшими группами.

Западный Алтай: хр. Ивановский (ур. Серый луг, сев.-зап. склон, 1790 м над ур. м., парковый лиственничный лес, 13 08 2017, Котухов Ю.; ур. Широкий Лог, 1800 м над ур. м., лиственничные редины, 28 08 2014, Котухов Ю.; верш. г.Крестовая, лиственнично-кедрово-березовые сообщества, 2 08 2014, Котухов Ю.; окр. с. Климовка, 1900 м над ур. м., лиственнично-кедровое редколесье, 15 08 2017, Котухов Ю.; ур. Серый Луг, 1870 м над ур. м., древняя закрытая морена, кедрово-лиственничное редколесье, 16 07 2017, Котухов Ю.).

Примечание. Встречается с другими видами берез: *B. pendula* Roth, *B. x pseudomiddendorffii* V. Vassil., *B. rotundifolia* Spach, *B. fruticosa* Pall., реже *B. pubescens* Ehrh., *B. microphylla* Bunge. Вполне возможно, что *B. falcata* V. Vassil. является сложным гибридом от скрещивания *B. pubescens* Ehrh. х *B. pendula* Roth х *B. microphylla* Bunge.

Описана В. Васильевым [28] по сборам П.Полякова. 4 IX 1947 (Зап. Алтай, хр. Ивановский, парковый лиственничный лес).

8 *Betula fruticosa* Pall. 1776, Reise, 3:758; Шемберг 1992, Фл. Сиб. 5:67; Эбель 2012, Консп. фл. сев.-зап. части Алт.-Саян. провинц. :176 — *B. humilis* Schrank 1789, Baier. Fl.I. p. 1:421, non Marschall, 1785; Крылов 1930, Фл. Зап. Сиб. 4:794; Кузенева 1936, Фл. СССР, 5:288; Голоскоков 1960, Фл. Казахст. 3:64. — Береза низкая

Кустарник, 2–3 м выс. Кора стволиков серо-бурая, гладкая, блестящая.

Обычно. Евразийский, мезопетрофит. Светолюбива.

В лесном и субальпийском поясах Южного и Западного Алтая, в высотном пределе 1200–1900 м над ур. м.

Сырые хвойные леса, реже редколесья, кочкарниково-моховые болота, заросли ерника.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (верх. р. Черная Берель, сырые прибрежные закустаренные луга, 29 08 2013, Иващенко А.).

Южный Алтай: хр. Сарымсакты (пер. Бурхат, 1900 м над ур. м, дол. ключа, сырая луговина, 27 08 2016, Котухов Ю.; сев.-зап. склон, 1930 м над ур. м., кедрово-лиственничный лес, в районе с. Арчаты, 27 08 2016, Котухов Ю.); хр. Курчумский (дол. р. Таутекели, прибрежные сырые луга, 29 08 2017, Котухов Ю.; Верхн. и Ниж. Зимовье, окр. оз. Маркаколь, окр. с. Урунхайка, 1930, Крылов П.); Катон-Карагайская впадина (окр. с. Катон-Карагай, р. Катонка, пер. Бурхат, 1930, Крылов П.).

Западный Алтай: хр. Ивановский (дол. р. Большая Поперечка, сев.-вост. щебнистый склон, 24 07 2002, Котухов Ю.); дол. р. Поперечка, 1900 м над ур. м., парковый лиственный лес, 20 07 2002, Котухов Ю.; верш. Вышеивановская, 1980 м над ур. м., окраина курума, 27 08 2004, Котухов Ю.; ур. Широкий Лог, 1760 м над ур. м., зарастающий курумник, 17 08 2017, Котухов Ю.; ур. Серый Луг, дол. р. Большая Поперечка, 1900 м над ур. м., окраина курума, 27 08 2015, Котухов Ю.); хр. Коксинский (сев.-зап. склон, дол. р. Черноубинская Линейчиха, 1800 м над ур. м., заболоченное кустарниковое сообщество, 17 07 2002, Котухов Ю.); хр. Линейский (перевал, 1700 м над ур. м., сырой кедрчак, 15 07 2015, Премина Н.; дол. р. Черная Уба, заболоченные кустарниковые лужайки, 15 07 2002, Премина Н.; хр. Убинский (лесная дача, 1300 м над ур. м., 1930, Крылов П.).

Примечание. *B. fruticosa* Pall. распространена в верхнем пределе, часто образует гибриды с *B. pendula* Roth и *B. x pseudomiddendoraffii* V. Vassil.

9 *Betula fruticosa* subsp. *montana* M. Schemberg 1992, Фл. Сиб., 5:67. – Береза горная

Низкий, до 1,5 м выс. кустарник. Кора стволиков серо-бурая, гладкая, блестящая.

Редко. Саяно-алтайский, мезофит. Светолюбива.

Сырые луга, долины горных рек, моховые и осоковые болота, древние террасы рек. Встречается в лесном, субальпийском и альпийском поясах, в высотном пределе 1700–2000 м над ур. м., небольшими плотными группами, реже в виде обширных зарослей. Распространена на хребтах Южного и Западного Алтая.

Южный Алтай: хр. Южноалтайский Тарбагатай (дол. р. Каракаба, заболоченные кустарниковые луговины, 20 07 2015, Котухов Ю.; Каракабинская впадина, дол. р. Каракаба, 3 07 1987, Котухов Ю.); хр. Азутау (дол. р. Урунхайка, в районе оз. Маркаколь, сырые луга, 29 08 1984, Котухов Ю.).

Западный Алтай: хр. Ивановский (сев.-зап. склон, верш. Вышеивановская, 1900 м над ур. м., лиственный-кедровый лес, редица, 15 08 2017, Котухов Ю.); хр. Коксинский (дол. р. Белая Уба, кочкарниково-моховое болото, 15 08 2018, Котухов Ю.); хр. Линейский (дол. р. Черная Уба, моховое болото, 13 07 2002, Котухов Ю.; сырой луг, дол. р. Платониха, 1800 м над ур. м., закустаренное болото, 27 08 2003, Котухов Ю.).

10 *Betula x kelleriana* Sukacz. 1914, Bull. Acad. Sci. St.-Petersb. :253; Крылов 1930, Фл. Зап.

Сиб. 4:794; Кузенева 1936, Фл. СССР, 5:303 – *B. microphylla* auct. non. Bunge; Шемберг 1992, Фл. Сиб. 5:67. – Береза Келлера

Невысокое дерево, 3–6 м выс., с желтовато-серой корой.

Редко. Узколокальный эндем Юго-Западного Алтая. Мезофит. Светолюбива.

Пойменные леса, остепненные кустарниковые склоны, долины горных рек. Встречается ограниченно, небольшими группами на хр. Азутау и Бухтарминских горах.

Южный Алтай: хр. Азутау (г. Мраморная, сев.-вост. предгорье в районе с. Николаевка, дол. р. Алгабас, 24 06 2007, Котухов Ю.; матрацевидные гранитоиды, юго-вост. склон, 17 08 2011, Котухов Ю.; дол. р. Бастерек, в районе с. Маркаколь (Теректы), 7 08 2011, Котухов Ю.; юго-вост. предгорье, межгорное понижение, около с. Акжайляу, 11 08 2017, Котухов Ю.); Бухтарминские горы (южный склон, скальная гряда, окр. с. Алтайка, межгорное понижение, 7 07 2011, Котухов Ю.).

Примечание. Вероятно, гибридогенный вид: *B. microphylla* Bunge x *B. pendula* Roth.

11 *Betula rotundifolia* Spach 1841, Ann. Sci. Nat., 2 ser 15:194; Крылов 1930, Фл. Зап. Сиб. 4:797; Кузенева 1936, Фл. СССР, 5:283 Голоскоков 1960, Фл. Казахст. 3:56; Абдулина 1999, Сп. сосуд. раст. Казахст. :52; Черепанов 1995, Сосуд. раст. Росс. и сопред. гос. :221; Эбель 2012, Консп. фл. сев.-зап. част. Алт.-Саян. провинц. :177. – *B. nana* subsp. *rotundifolia* (Spach) Malyshev 1965, Высокогорн. Фл. Вост. Саяна :110; Шемберг 1992, Фл. Сиб. 5:69. – Береза круглолистная

Кустарник, 0,5–2,5 м выс., серо-бурой или коричневой корой.

Часто. Саяно-алтайско-монгольский, мезофит. Светолюбива.

Субальпийские редколесья, высокогорные мохово-лишайниковые тундры, кустарниковые заросли. Встречается на хребтах Южного и Западного Алтая.

Центральный Алтай: Чиндагатуйские горы (оз. Бухтарминское (сев.-вост. склон, 1950 м над ур. м., парковый лиственный лес, 10 08 1999, Котухов Ю.; Рахмановские ключи, 1930, Крылов П.).

Южный Алтай: хр. Южноалтайский Тарбагатай (Каракабинская впадина, 1900 м над ур. м., окраина осыпи, 29 07 1987, Цыганов А.; пер. Бурхат, 2050 м над ур. м., ерниковая тундра, 27 08 2016, Котухов Ю.; пер. Бурхат, 1930, Крылов П.); хр. Курчумский (юго-вост. склон, в районе оз. Маркаколь, субальпийский пояс, осоково-

моховая тундра, 17 08 1986, Оленина С., Зинченко Е.); хр. Сарымсакты (сев.-зап. склон, 1960 м над ур. м., дол. р. Сарымсак, 16 08 2010, Котухов Ю.); хр. Южный Алтай (сев.-вост. склон, 2050 м над ур. м., моховая тундра, 24 08 2018, Котухов Ю.; окр. с. Катон-Карагай, верх. р.р. Сарака, Ак-Каба, Кара-Каба, Канаса, Алаха, Талды-булак, ур. Чебамбай, 1930, Крылов П.).

Западный Алтай: хр. Коксинский (дол. р. Марчиха, 1800 м над ур. м., кедровая редица, 20 07 2019, Премина Н.); хр. Ивановский (сев.-зап. склон, 1970 м над ур. м., дол. р. Большая Поперечка, курумник, 17 08 2008, Котухов Ю.; сев.-зап. склон, верш. Вышеивановская, 1960 м над ур. м., мохово-лишайниковый ерник, 21 08 2008, Котухов Ю.).

Примечание. Часто образует гибриды с *B. pendula* Roth (*B. x pseudomiddendorffii* V. Vassil.).

12 *Betula talassica* P. Pol. 1950, Бюл. Глав. бот. сада, 6:53–*B. pendula* Roth, Черепанов 1995, Сосуд. раст. Росс. и сопред. гос. :224. – Береза таласская

Многоствольное дерево, 10–12 м выс., с гладкой белой корой.

Очень редко. Тяньшанско-алтайский, ксеро-мезопетрофит. Вид горного происхождения. Светолюбива.

Встречается в степном и кустарниковом поясах в высотном пределе 700–900 м над ур. м..

Остепненные юго-западные и юго-восточные скалистые склоны. Встречается рассеянно, единичными особями или очень редко небольшими группами.

Калбинский Алтай: Восточная Калба (горы Коктау, юго-зап. скалистый склон г. Медведка, 860 м над ур. м., среди гранитных глыб, 15 08 2017, Котухов Ю.; г. Карасиыр, сев.-вост. склон, 860 м над ур. м., среди обломков горной породы, 7 08 2013, Котухов Ю.).

13 *Betula x aurata* Borkh. 1790, Versuch Forstbot. Beschreib. :378; Цвелев 2004, Фл. Вост. Евр. 11:76. – Береза золотистая

Дерево, 18–20 м выс., с гладкой белой корой. У старых особей у основания глубоко трещиноватая, черная.

Редко. Евро-алтайский, мезогигрофит. Тенелюбива.

Елово-березовые леса, долины горных рек, заболоченные кустарниковые сообщества, березово-тополевыя сообщества, предпочитает увлажненные богато гумусированные субстраты. Отмечается на хребтах Западного Алтая (хр. Ивановский, Линейский, Коксинский, Тигирецкий).

Западный Алтай: хр. Ивановский (сев.-зап. склон, предгорье, 1100 м над ур. м., елово-березовый лес, 24 08 2018, Котухов Ю.); хр. Линейский (дол. р. Белая Уба, 1300 м, елово-березовый лес, 17 08 2017, Котухов Ю.; дол. р. Белая Уба, в районе с. Поперечное, сырой березняк, 10 08 2018, Котухов Ю.; дол. р. Черноубинская Линейчиха, опушка елового леса, 7 08 2017, Котухов Ю.).

Примечание. Нередко отмечается образование смешанных березняков (*B. pendula* Roth, *B. pubescens* Ehrh., *B. fruticosa* Pall., *B. x aurata* Borkh.).

14 *Betula pseudopendula* V. Vassil. 1958, Тр. Инст. леса АН СССР 37:134; Черепанов 1995, Сосуд. раст. Росс. и сопред. гос. :223. – Береза бородавчатая

Дерево, 12–15 м выс., с буровато-желтой корой.

Редко. Западно-алтайский эндем, мезофит. Умеренно теневынослива.

Долины горных рек, южные и юго-восточные лесные склоны, умеренно увлажненные березово-еловые леса.

Встречается единичными особями или небольшими группами. Рожиц не образует. Нередко проникает в пределы субальпийского пояса.

Западный Алтай: хр. Коксинский (юго-вост. предгорье, дол. р. Черная Уба, кустарниково-березовое сообщество, 15 08 2015, Котухов Ю.; дол. р. Черноубинская Линейчиха, березово-кустарниковые колки, 3 08 2018, Котухов Ю.); хр. Ивановский (сев.-зап. склон, 1800 м над ур. м., ур. Серый Луг, кедрово-березовый лес, 20 08 2016, Котухов Ю.); хр. Линейский (дол. р. Белая Уба, 1780 м над ур. м., елово-березовые насаждения, 5 07 2018, Котухов Ю.; дол. р. Черноубинская Линейчиха, 1800 м над ур. м., березово-лиственничный лес, 20 07 2017, Котухов Ю.); хр. Тигирецкий (юго-вост. склон, лиственно-кустарниковый лес, 1800 м над ур. м., Котухов Ю.; юго-зап. склон, дол. р. Черная Уба, березово-лиственничное сообщество, Котухов Ю.).

Примечание. По В.Н. Васильеву [28] от *B. pubescens* Ehrh., к которой наиболее близка, отличается меньшими листьями с 4–5 парами жилок, короткими плодущими сережками, более мелкими чешуями и более узкими крылышками. Сравнительно молодой гибридогенный вид. Узколокальный эндем Западного Алтая. Описан с хр. Тигирецкий В.Н. Васильевым [28] по сборам П. Полякова.

15 *Betula x pseudomiddendorffii* V. Vassil. 1958, Тр. Инст. леса АН СССР 37:134; Черепанов 1995,

Сосуд. раст. России и сопред. гос. :223. – Береза ложномиддендорфа

Кустарник, 2,5–4 м выс., многоствольный. Кора гладкая, блестящая, красновато-бурая или темно-бурая.

Редко. Саяно-алтайский, мезофит. Теневынослива.

Кедро-лиственничные редколесья, опушки зарастающих курумов, древние надречные морены, ерниковые тундры, склоны глубоких распадков, в высотном пределе 1700–2000 м над ур. м. Встречается на хребтах Западного Алтая.

Западный Алтай: хр. Ивановский (ур. Серый Луг, 1800 м над ур. м., сев.-зап. склон, кедрово-лиственничный лес, 14 07 2002, Котухов Ю.); верх. р. Большая Поперечка, опушка кедрового леса, 10 07 2014, Котухов Ю.; верш. г. Вышеивановская, 1900 м над ур. м., парковый кедрчак, 24 07 2014, Котухов Ю.; сев.-зап. склон, дол. р. Большая Поперечка, 1900 м над ур. м., 10 08 2019, Котухов Ю.; сев.-зап. склон, 1860 м над ур. м., слабо закрытая древняя морена, 16 08 2016, Котухов Ю.; верх. р. Большая Поперечка, 1950 м над ур. м., кедровое криволесье, 22 08 2018, Котухов Ю.; ур. Серый Луг, глубокое тенистое ущелье, 10 08 2014. Котухов Ю.); хр. Линейский (дол. р. Платониха, кедровое редколесье, 22 08 1018, Котухов Ю.); хр. Коксинский (дол. р. Белая Уба, 1780 м над ур. м., лиственничный лес, 15 08 2014, Премина Н.).

Примечание. *B. x pseudomiddendorffii* V. Vassil., вероятно, гибрид *B. rotundifolia* Spach x *B. pendula* Roth; возможно, гибрид *B. rotundifolia* Spach x *B. falcata* V. Vassil.

16 *Betula tianschanica* Rupr. 1869, Mem. Acad. Sci. Petersb., 7 ser. 14,4:72; Литвинов 1914, Тр. бот. муз. 12:96; Кузенева 1936, Фл. СССР, 5:301; Голоскоков 1960, Фл. Казахст. 3:60; Скворцов 1972, Определ. раст. Сред. Азии, 3:27; Грубов 1989, Раст. Центр. Азии, 9:60; Голоскоков 1984, Фл. Джунгар. Алат. :45; Абдулина 1999, Сп. сосуд. раст. Казахст. :52. – Береза тяньшанская

Невысокое деревцо, 3–4 м выс. с розоватой корой.

Очень редко. Горно-среднеазиатский, ксеро-мезофит. Светолюбива.

Щебнистые склоны, долины горных рек, высотном пределе 1100–1300 м над ур. м. Встречается рассеянно или небольшими группами.

Южный Алтай: хр. Нарымский (ур. Коктерек, скальный массив, юго-зап. склон, 17 06 2014, Котухов Ю.); хр. Азутау (г. Булгартабаты, юго-вост. скалистый склон, 17 08 2014, Котухов Ю.).

Калбинский Алтай: хр. Восточная Калба (юго-зап. скалистый склон, дол. кл. Чурмей, 27 07 2018, Котухов Ю.; окр. с. Тоганас, заболоченная долина, 27 07 2017, Котухов Ю.; г. Медведка, юго-зап. скалистый склон, 27 08 2018, Котухов Ю.).

Сауро-Манрак: хр. Манрак (ур. Кызыл-Кайин, сырые лужайки, 27 06 2018, Котухов Ю.; ур. Кемпир-Булак, сырая лужайка около родника, 10 06 1982, Котухов Ю.).

Выводы

1 Установлено произрастание на территории Казахстанского Алтая, Сауро-Манрака и Зайсанской впадины 15 видов и 1 подвида рода *Betula* L.

2 Флора Казахстана пополнилась 7 видами из рода *Betula* L.: *B. x aurata* Borkh., *B. pseudopendula* V. Vassil., *B. falcata* V. Vassil., *B. x kelleriana* Sukacz., *B. x pseudomiddendorffii* V. Vassil., *B. talassica* P. Pol., *B. fruticosa* subsp. *montana* M. Schemberg.

3 Низкая насыщенность видами рода *Betula* L. во флоре Казахстанского Алтая, Сауро-Манрака и Зайсанской впадины указывает на то, что сем. *Betulaceae* является в регионе характерным элементом бореальных и голарктических флор, включая бореальные, средиземноморские географические элементы.

4 Статья написана в рамках грантового проекта AP05133050 «Изучение флоры гор Коктау как потенциального объекта сохранения биологического разнообразия Калбинского нагорья»

Литература

- 1 Голоскоков В.П. Род *Betula* L. // Флора Казахстана, 1960. – Т. 3. С. 55–65.
- 2 Абдулина С.А. Список сосудистых растений Казахстана. – Алматы, 1999. – 52 с.
- 3 Тахтаджян А. Л. Флористические области земли. – Л., 1978. – 248 с.
- 4 Камелин Р.В. Флора Сырдарьинского Каратау (Материалы к флористическому районированию Средней Азии). – Л., 1990. – 146 с.
- 5 Артемов И.А. Высшие сосудистые растения // Флора и растительность Катунского заповедника, 2001. – С. 162.

- 6 Байтулин И.О., Котухов Ю.А., Синицына В.Г., Иващенко А.А. Флора хребта Азутау // Флора Восточного Казахстана, 1991. – С. 3–134.
- 7 Голоскоков В.П. Флора Джунгарского Алатау. – Алма-Ата, 1984. – 45 с.
- 8 Иващенко А.А., Котухов Ю.А., Утебеков К.И. Флора лесного пояса Чиндагатуйского горного пояса // Ботанические исследования Сибири и Казахстана, 2013. – Вып. 19. – С. 99–113.
- 9 Котухов Ю.А. Список сосудистых растений Казахского Алтая // Ботанические исследования Сибири и Казахстана, 2005. – С. 11–83.
- 10 Крылов П.Н. Флора Западной Сибири. – Томск, 1930. – Т. 4. – С. 785–798.
- 11 Ревушкин А.С. Высокогорная флора Алтая. – Томск: Изд-во Томского ун-та, 1988. – 56с.
- 12 Эбель А. Л. Конспект флоры северо-западной части Алтае-Саянской провинции. – Кемерово, 2012. – 566 с.
- 13 Большаков Н.М. Дендрофлора Саур-Тарбагайской горной области. – Новосибирск, 1987. – 174 с.
- 14 Кузенева О.И. Флора СССР. – М., Л., 1936. – Т. 5. – С. 269–305.
- 15 Шемберг М.А. Флора Сибири. – Новосибирск, 1992. – Т. 5. – С. 63–70.
- 16 Clausen K.E. Introgressive hybridization between two Minnesota birches // *Silvae genet.*, 1962. Vol.11. № 5/6. P. 142–150.
- 17 Boinska, U. Zmianosc lisci, owocow i lusek *Betula humilis* Schrk. w polnocej Polsce / U. Boinska // *Stud. Soc. sci torun*, 1974. – D. 9. – № 6. – P. 1–108.
- 18 Dancik B.P., Barnes B.V. Leaf variability in Yellow birch (*B. alleghamensis*) in relation to environment // *Canad. J. Forest Res.*, 1975. Vol.5. №2. P. 149 – 159.
- 19 Cayford J. H., McRae D. J. The ecological role of fire in jack pine forests // *The role of fire in northern circumpolar ecosystems*. Chichester: J. Wiley and Sons, 1983 P. 183–199.
- 20 Frieman A. Sequence of DNA-encoding nitrite reductase from the tree *Betula pendula* and identification of protein regions / A. Frieman, K. Brinkmann, W. Hachtel // *Molecular & General Genetics*. 1992. – 231 (1). – P. 411–416.
- 21 Renou F., Scallan U., Keane M., Farrell E.P. Early performance of native birch (*Betula* spp.) planted on cutaway peatlands: influence of species, stock types and seedlings size // *European J. of Forest Research*, 2007. – V. 126. – P. 545–554.
- 22 Gagne L., Genet A., Weiskittel A., Achim A. Assessing the Potential Stem Growth and Quality of Yellow Birch Prior to Restoration: A Case Study in Eastern Canada // *J. of Forests*, 2013. №. 4. – P. 766–785.
- 23 Oluwatobi A., Jian R. Assessing effects of seed source and transfer potential of white birch populations using transfer functions // *Open J. of ecology*, 2013. – V. 3. – № 5. – P. 359–369.
- 24 Jankovska I., Brumelis G., Nikodemus O., Kasparinskis R., Amatniece V., Straupmanis G. Tree Species Establishment in Urban Forest in Relation to Vegetation Composition, Tree Canopy Gap Area and Soil Factors // *Forests*, 2015. – №. 6. – P. 4451–4461.
- 25 Быков Б.А. Геоботаника. – Алма-Ата, 1957. – 381 с.
- 26 Флора Сибири. – Новосибирск, 1992. – Т.5. – 310 с.
- 27 Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. – СПб: Мир и семья, 1995. – 992 с.
- 28 Васильев В.Н. Новые виды берез (*Betula* L.) Средней Азии и Казахстана // *Новости систематики высших растений*, 1970. – Т. 7. – С. 97–191.
- 29 Васильев В.Н. Байкало-Саянская область как один из главнейших поздних центров формирования рода *Betula* L. // *Труды института леса АН СССР*, 1978. – Т. 37. – С. 120–142.
- 30 Цвелев Н.Н. О родах *Betula* L. и *Alnus* Mill. (*Betulaceae*) в Восточной Европе // *Новости систематики высших растений*, 2002. – Т. 34. – С. 47–73.
- 31 Флора Казахстана. – Алма-Ата: Наука, 1956. – Т.1. – 352 с.
- 32 Соколов А.А. О рельефе Восточного Казахстана // *Почвы, удобрения и урожаи в условиях Восточного Казахстана*. Алма-Ата, 1974. – Т.3–С.5–57.
- 33 Коропачинский И.Ю. Об интрагрессивной гибридизации между *B. pendula* Roth. и *B. microphylla* Bunge в Тувинской АССР // *Известия Сиб. отд. АН СССР*, 1966. – №8. – С.95–100.
- 34 Коропачинский И.Ю. Дендрофлора Алтайско-Саянской горной области. – Новосибирск: Наука, 1975. – 290 с.
- 35 Скворцов А.К., Огуреева Г.Н., Связева О.А., Соколов С.Я. Род *Betula* L. – Береза // *Ареалы деревьев и кустарников СССР*. Ч.1.Л.: Наука, 1977. – С. 89–100.

References

- 1 Goloskokov V.P. (1960) Rod *Betula* L. [Genus *Betula* L.] // *Flora Kazakhstan*. V. 3. pp. 55–65.
- 2 Abdulina S.A. (1999) Spisok sosudistykh rasteniy Kazakhstan [List of vascular plants in Kazakhstan]. Almaty, 52 p.]
- 3 Takhtadzhyan A.L. (1978) Floristicheskiye oblasti zemli. [Floristic areas of the earth]. L., 248 p.
- 4 Kamelin R.V. (1990) Flora Syrdar'inskogo Karatau (Materialy k floristicheskomu rayonirovaniyu Sredney Azii). (Flora of Syrdarya Karatau (Materials for floristic zoning of Central Asia)]. L., 146 p.
- 5 Artemov I.A. (2001) Vysshieye sosudistyye rasteniya [Higher vascular plants] // *Flora i rastitel'nost' Katunskogo zapovednika*, 162 p.
- 6 Baytulyn I.O., Kotukhov YU.A., Simitsyna V.G., Ivashchenko A.A. (1991) Flora khrehta Azutau [Flora of the Azutau range] // *Flora Vostochnogo Kazakhstan*, pp. 3–134.
- 7 Goloskokov V.P. (1984) Flora Dzhungarskogo Alatau [Flora of the Jungar Alatau]. Nauka. – 45 p.
- 8 Ivashchenko A.A., Kotukhov YU.A., Utebekov K.I. (2013) Flora lesnogo poyasa Chindagatuyskogo gornogo poyasa [Flora of the forest belt of the Chindagatui mountain belt] // *Botanicheskiye issledovaniya Sibiri i Kazakhstan*, 2013. V. 19. P. 99–113.

- 9 Kotukhov YU.A. (2005) Spisok sosudistyykh rasteniy Kazakhstanskogo Altaya [List of vascular plants of the Kazakh Altai] // *Botanicheskiye issledovaniya Sibiri i Kazakhstana*, pp. 11–83.
- 10 Krylov P.N. (1930) *Flora Zapadnoy Sibiri* [Flora of Western Siberia]. Tomsk, 1930. V. 4, pp. 785–798.
- 11 Revushkin A.S. (1988) *Vysokogornaya flora Altaya* [Alpine flora of the Altai] Tomsk: Izd-vo Tomskogo un-ta, 56 p.
- 12 Ebel' A. L. (2012) *Konspekt flory severo-zapadnoy chasti Altaye-Sayanskoy provintsii* [Synopsis of the flora of the North-Western part of the Altai-Sayan province]. Kemerovo, 566 p.
- 13 Bol'shakov N.M. (1987) *Dendroflora Saur-Tarbagayskoy gornoy oblasti* [Dendroflora of Saur-Tarbagatai mountain region]. Novosibirsk, 174 p.
- 14 Kuzeneva O.I. (1936) *Flora SSSR* [Flora of the USSR]. M., L., v. 5, pp. 269–305.
- 15 Shemberg M.A. (1992) *Flora Sibiri* [Flora of Siberia]. Novosibirsk, v. 5, pp. 63–70.
- 16 Clausen K.E. Introggressive hebridizatsiya mezhdu dvumya Minnesota birchami // *Silvae genet.*, 1962. Vol. 11. № 5/6. P. 142–150.
- 17 Boinska, U. Zmianosc lisci, owocow i lusek *Betula humilis* Schrk. w polnocnej Polsce / U. Boinska // *Stud. Soc. sci torun*, 1974. – D. 9. – № 6. – R. 1–108.
- 18 Dancik B.P., Barnes B.V. Leaf variability in Yellow birch (*B. alleghamensis*) in relation to environment // *Canad. J. Forest Res.*, 1975. Vol. 5. № 2. R. 149 – 159.
- 19 Cayford J. H., McRae D. J. The ecological role of fire in jack pine forests // *The role of fire in northern circumpolar ecosystems*. Chichester: J. Wiley and Sons, 1983 P. 183–199.
- 20 Frieman A. Sequence of DNA-encoding nitrate reductase from the tree *Betula pendula* and identification of protein regions / A. Frieman, K. Brinkmann, W. Hachtel // *Molecular Genetics*. 1992. – 231 (1). – Pp. 411–416.
- 21 Renou F., Scallan U., Keane M., Farrell E.P. Early performance of native birch (*Betula* spp.) planted on cutaway peatlands: influence of species, stock types and seedlings size // *European J. of Forest Research*, 2007. – V. 126. – Pp. 545–554.
- 22 Gagne L., Genet A., Weiskittel A., Achim A. Assessing the Potential Stem Growth and Quality of Yellow Birch Prior to Restoration: A Case Study in Eastern Canada // *J. of Forests*, 2013. №. 4. – Pp. 766–785.
- 23 Oluwatobi A., Jian R. Assessing effects of seed source and transfer potential of white birch populations using transfer functions // *Open J. of ecology*, 2013. – V. 3. – № 5. – Pp. 359–369.
- 24 Jankovska I., Brumelis G., Nikodemus O., Kasparinskis R., Amatniece V., Straupmanis G. Tree Species Establishment in Urban Forest in Relation to Vegetation Composition, Tree Canopy Gap Area and Soil Factors // *Forests*, 2015. – №. 6. – Pp. 4451–4461.
- 25 Bykov B.A. (1957) *Geobotanika [Geobotany]* Alma-Ata, 381 p.
- 26 *Flora Sibiri* (1992) [Flora of Siberia] Novosibirsk, V. 5, 310 p.
- 27 Cherepanov S.K. (1995) *Sosudistyye rasteniya Rossii i soprodel'nykh gosudarstv* [Vascular plants of Russia and neighboring countries], SPb: Mir i sem'ya, 1995. – 992 p.
- 28 Vasil'yev V.N. (1970) *Novyye vidy berez (Betula L.) Sredney Azii i Kazakhstana* [New species of birch (*Betula* L.) in Central Asia and Kazakhstan] // *Novosti sistematiki vysshikh rasteniy*, v. 7, pp. 97–191.
- 29 Vasil'yev V.N. (1978) *Baykalo-Sayanskaya oblast' kak odin iz glavneyshikh pozdnykh tsentrov formirovaniya roda Betula L.* [Baikal-Sayan region as one of the main late centers of formation of the genus *Betula* L.] // *Trudy instituta lesa AN SSSR*, v. 37. – Pp. 120–142.
- 30 Tsvelev N.N. (2002) *O rodakh Betula L. i Alnus Mill. (Betulaceae) v Vostochnoy Evrope* [On the genera *Betula* L. and *Alnus* Mill. (*Betulaceae*) in Eastern Europe] // *Novosti sistematiki vysshikh rasteniy*, v. 34. – Pp. 47–73.
- 31 *Flora Kazakhstana* (1956) [Flora of Kazakhstan] Nauka, v. 1. – 352 p.
- 32 Sokolov A.A. *O rel'yefe Vostochnogo Kazakhstana* (1974) [About the relief of East Kazakhstan] // *Pochvy, udobreniya i urozhai v usloviyakh Vostochnogo Kazakhstana*. Alma-Ata, v. 3. pp. 5–57.
- 33 Koropachinskiy I.YU. (1966) *Ob intragressivnoy gibridizatsii mezhdu B. pendula Roth. i B. microphylla Bunge v Tuvinskoy ASSR* [About introgressive hybridization between *B. pendula* Roth. and *B. microphylla* Bunge in the Tuva ASSR] // *Izvestiya Sib. otd. AN SSSR*, № 8. – Pp. 95–100.
- 34 Koropachinskiy I.YU. (1975) *Dendroflora Altaysko-Sayanskoy gornoy oblasti* [Dendroflora of the Altai-Sayan mountain region]. Novosibirsk: Nauka, – 290 p.
- 35 Skvortsov A.K., Ogureyeva G.N., Svyazeva O.A., Sokolov S.YA. (1977) *Rod Betula L. – Bereza* [The Genus *Betula* L. – Birch] // *Arealy derev'yev i kustarnikov SSSR. CH. 1.*, Nauka, – Pp. 89–100.

D. Mirzaliyeva^{1*}  B. Sultanova², A. Aksoy³

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Institute of Botany and Phytointroduction, Kazakhstan, Almaty

³Akdeniz University, Turkey, Antalya

*e-mail: dinara-myrzaliyeva@mail.ru

BIOCHEMICAL AND ANATOMICAL RESEARCH OF KAZAKHSTAN *SERIPHIDIUM HEPTAPOTAMICUM* (ASTERACEAE)

Currently, the study of the structure and composition of plants is very important for medicine, perfumery, farms, etc. The section of the Asteraceae family includes *Seriphidium heptapotamicum* (Poljak) Ling & Y.R. Ling. This study discusses biochemical and anatomical features. According to new observations, the previous description of the species was added by the additional information. Anatomical studies were carried out by the vegetative organs of *S.heptapotamicum* using the paraffin method. The anatomy of *S.heptapotamicum* have not been studied. Anatomically, the root cross section has the epidermis as a protective tissue in the outer layer and the endodermis is not clearly seen. The stems have a thick, well-developed layer of sclerenchyma. Leaves are equilateral. For a biochemical study, the essential oil was isolated from the aerial parts of *S.heptapotamicum* using a Clevenger type apparatus. The yield of *S.heptapotamicum* essential oil was found to be 2.4 %. The chemical composition of the essential oil was analyzed by GC-FID and GC-MS simultaneously. The chemical composition of essential oil depends on the collectionsites. The essential oil is composed of 14 components, in which the major dominant constituents were Thujone-41.10%, 1,8-Cineole-22.84%, β -Thujone-17.45% and Camphor (11.99%). In addition, the essential oil contents of *S. heptapotamica* have been obtained in this study.

Key words: *Seriphidium heptapotamicum*, Altyn-Emel, Essential Oil, GC; GC-MS.

Д. Мирзалиева^{1*}, Б. Султанова², А. Аксой³

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

²Ботаника және фитоинтродукция институты, Қазақстан, Алматы қ.

³Ақдениз университеті, Түркия, Анталья қ.

*e-mail: dinara-myrzaliyeva@mail.ru

Қазақстандағы *Seriphidium heptapotamicum* (Asteraceae) өсімдігінің биохимиясы мен анатомиялық құрылысын зерттеу

Қазіргі кезде өсімдіктің құрылысы мен құрамын зерттеу медицина, парфюмерия, фермер шаруашылығы және т.б. салалар үшін өте маңызды. *Seriphidium heptapotamicum* (Poljak) Ling & Y.R. Ling. өсімдігі күрделігүлділер тұқымдасына жатады. Бұл мақалада *Seriphidium heptapotamicum* өсімдігінің биохимиялық және анатомиялық ерекшеліктері талқыланды. Жаңа зерттеулерге сәйкес түрдің алдыңғы сипаттамаларына қосымша ақпарат берілді. *Seriphidium heptapotamicum* өсімдігінің вегетативті мүшелеріне (тамыр, сабақ, жапырақ) анатомиялық зерттеу «Парафин» әдісін қолдану арқылы жүргізілді. *Seriphidium heptapotamicum* өсімдігінің анатомиялық құрылысы осы уақытқа дейін зерттелмегендігі анықталды. Өсімдік тамырының көлденең кесіндісінің анатомиялық құрылысында эпидермис қорғаушы ұлпа ретінде сыртқы қабатын қаптайды, ал эндодерма анық көрінбейді. Сабақта склеренхима қабатының жақсы дамығаны анықталды. Жапырағы тең қабырғалы. *Seriphidium heptapotamicum* өсімдігіне биохимиялық зерттеу жүргізілді және өсімдіктің жерүсті бөліктерінен Кливенджер аппаратының көмегімен эфир майы алынды. Нәтижесінде шыққан эфир майы 2,4%-ды құрады. Эфир майының химиялық құрамына GC-FID және GC-MS аппаратының көмегі арқылы талдау жасалды. Бұл зерттеуде *Seriphidium heptapotamicum* өсімдігіндегі эфир майының құрамы алынып, эфир майы 14 компоненттен тұратындығы және ондағы негізгі доминантты компоненттер туйон-41,10%, 1,8-цинеол-22,84%, β -туйон-17,45%, камфор-11,99% екендігі анықталды.

Түйін сөздер: *Seriphidium heptapotamicum*, Altyn-Emel, эфир майы, GC; GC-MS.

Д. Мирзалиева^{1*}, Б. Султанова², А. Аксой³

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

²Институт ботаники и фитоинтродукции, Казахстан, г. Алматы

³Университет Акдениз, Турция, г. Анталья

*e-mail: dinara-myrzalieva@mail.ru

Биохимические и анатомические исследования *Seriphidium heptapotamicum* (Asteraceae) в Казахстане

В настоящее время изучение структуры и состава растений очень важно для медицины, парфюмерии, фермерских хозяйств и т.д. *Seriphidium heptapotamicum* (Poljak) Ling & Y.R. Ling. входит в раздел семейства сложноцветных. В этом исследовании обсуждаются биохимические и анатомические особенности. Согласно новым наблюдениям, предыдущее описание вида было дополнено дополнительной информацией. Анатомические исследования проводились на вегетативных органах *Seriphidium heptapotamicum* с использованием парафинового метода. Анатомия *Seriphidium heptapotamicum* не изучена. Анатомически, поперечное сечение корня имеет эпидермис в качестве защитной ткани во внешнем слое и эндодерма четко не видна. Стебли имеют толстый, хорошо развитый слой склеренхимы. Листья равносторонние. Для биохимического исследования эфирное масло было выделено из надземных частей *Seriphidium heptapotamicum* с использованием аппарата Кливенджера. Выход эфирного масла *Seriphidium heptapotamicum* составил 2,4%. Химический состав эфирного масла анализировали с помощью GC-FID и GC-MS одновременно. Химический состав эфирного масла зависит от коллекций. Эфирное масло состоит из 14 компонентов, в которых основными доминирующими компонентами были туйон-41,10%, 1,8-цинеол-22,84%, β-туйон-17,45% и камфора – 11,99%. Кроме того, в этом исследовании было получено содержание эфирного масла *Seriphidium heptapotamicum*.

Ключевые слова: *Seriphidium heptapotamicum*, Алтын-Эмель, эфирное масло, GC; GC-MS.

Introduction

Kazakhstan flora is rich in economically important kinds of plants. In Kazakhstan there are about 6000 species, 1120 genera and 160 families (Ivaschenko, 2006). More than 700 species are endemic and no less than 1406 species of medicinal plants are the members of 612 genera belong to 134 families (Grudzinskaya et al., 2014).

Asteraceae includes over 32000 currently accepted species, in over 1900 genera in 13 subfamilies. The family Asteraceae has about 1186 species, of which almost 196 are endemic, and about 130 are medicinal in Kazakhstan (The Plant List, 2016; Ivaschenko, 2006).

The genus *Artemisia* (Astraceae) consists of about 500 species, occurring throughout the world (Bora & Sharma, 2011). The species of the genus are spread throughout the Northern Hemisphere's temperate zones with few members in the Southern Hemisphere (Valles et al., 2005). The most commonly accepted subdivisions of *Artemisia* are separated into 5 subgenera as *Artemisia* Less., *Absinthium* (Mill.) Less., *Dracunculus* (Bess.) Rydb., *Seriphidium* (Bess.) Rouy., and *Tradentatae* (Rydberg) McArthur (Kurşat et al., 2015; Valles & McArthur, 2001). Most of *Artemisia* species have economic importance as therapeutics, foodstuff, fodder, esthetics and soil binders in destructive habitats; some taxa are poisonous or allergenic and

some others are noxious weeds, which can badly affect crops (Tan et al. 1998, Hayat et al. 2009). Many *Artemisia* and *Seriphidium* species are used by the folk medicine (Nofal et al., 2009; Amin et al., 2019; Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2018).

Many papers devoted anatomical (Janačković et al., 2019; Rodica&Broască, 2012; Hussain et al., 2019; Abderabbi et al., 2018) and biochemical (Asilbekova et al., 2012; Velikorodov et al., 2011; Bodoev et al., 2000; Gilani et al., 2010) studies of *Seriphidium* (formely *Artemisia*) species have been published for the last few decades.

Janačković et al. (2019) carried out the anatomical analysis of vegetative organs of five Serbia flora *Artemisia* L. (Anthemideae, Asteraceae) species (*Artemisia campestris* L., *A. absinthium* L., *A. arborescens* L., *A. judaica* L. and *A. herba-alba* Asso). Bercu & Broască (2012) studied the anatomical features of the *Artemisia alba* subsp. *saxatilis* (Will.) P. Four. in Romania. Hussain et al. (2019) examined the anatomical characteristics of 13 species of *Artemisia* of the region of Pakistan. Abderabbi et al. (2018) studied morphological and anatomical parameters of the leaf and variations of *Artemisia herba-alba* Assopopulation in a steppe zone of western Algeria.

Velikorodov et al. (2011), Bodoev et al. (2000) investigated the main essential oil components of *Artemisia lerchiana* Web. and *Artemisia santonica* L. Gilani et al. (2010) studied the *Seriphidium*

kurramense (Qazilb.) Y.R.Ling in Pakistan. Sefidkon et al. (2002) identified the essential oil components of 3 types of *Artemisia* spp. in Iran. Asilbekova et al. (2012) identified the main essential oil components of *Artemisia heptapotamica* Poljak (now *Seriphidium heptapotamicum* Poljak).

The essential oil content of *S.heptapotamicum* (Poljak) Ling & Y.R. Ling have been studied by Asilbekova et al. (2012). But, the anatomy of *S.heptapotamicum* have not been studied.

The aim of this study is to:

determine root, stem and leaf anatomy of *Seriphidium heptapotamicum*;

identify essential oil composition of *Seriphidium heptapotamicum*.

Materials and methods

The samples of *Seriphidium heptapotamicum* (Poljak) Ling & Y.R. Ling, Asteraceae, were collected from Altyn- Emel National Natural Park, Kazakhstan (Figure 1), on September 29, 2019 (43°57'443" N and 079°00'416" E, 652 m., Aksoy 3118). The plant species were identified by Prof. Dr. Ahmet AKSOY (Turkey) and candidate of biological sciences Bakhytzhama Sultanova (Kazakhstan).



Figure 1 – Map of the Altyn- Emel National Park in Kazakhstan

Seriphidium heptapotamicum is herbs, perennial, 20-35 (-40) cm tall, with a thick rootstock, densely gray arachnoid tomentose, later partly glabrescent. Lower and middle stem leaves are petiole short; leaf blade is oblong-ovate or ovate-elliptic, 2-2.5 × 1-1.5 cm, 2-pinnatisect (1 or 2 – pinnatisect in middle leaves); segments are 3 or 4 (or 5) pairs; lobules linear is 3-5 × 0.3-0.5 mm, acute apically. Upper leaves and leaflike bracts are pinnatisect or entire. Synflorescence a is somewhat broad and elongated panicle. Involucre is oblong or ovoid, 1.5-2.5 mm in diam.; phyllaries sparsely arachnoid are pubescent (Figure 2 a) (Ling et al., 1988).

Anatomical studies were carried out on plant material that was found in a mixture of alcohol (70%). Sections of root, stem and leaves were used

through paraffin method, each section was taken by microtome and stained with safranin and fast-green (Johansen, 1944). Further anatomical investigation was carried out under a light microscope and photographs were taken by Leica DM750 research microscope.

Concerning the biochemical studies, air-dried aerial parts of the plant material underwent hydro-distillation for 3 h using a Clevenger type apparatus. The essential oils were analyzed by GC/MS using a Agilent 7890A GC-MSD system according to the literature (Shaimerdenova et al. 2018). An Innowax FSC column (60 m × 0.25 mm L, with 0.25 µm film thickness) was used with helium as carrier gas (0.8 mL/min). GC oven temperature was kept at 60°C for 10 min and programmed to 220°C at a

rate of 4°C/min, then kept constant at 220°C for 10 min and then programmed to 240°C at a rate of 1°C/min. Alkanes were used as reference points in the calculation of relative retention indices (RRI). Split ratio was adjusted at 40:1. The injector temperature was at 250°C. MS were taken at 70 eV. Mass range was from 35 to 450 m/z. Library search was carried out using the Wiley GC/MS Library and the TBAM Library of Essential Oil Constituents. Relative percentage amounts were calculated from TIC by a computer.

Results

This paper presents an anatomical study of the vegetative organs and the composition of the essential oil of Kazakhstan *S. heptapotamicum*.

Anatomical characteristics

When studying the anatomical structure of the vegetative organs of *S. heptapotamicum*, the following microdiagnostic signs were established (Figure 2 a-d and Table 1).

Root: – The largest average size of roots of *S. heptapotamicum*: epidermis (27.3±7.79 μm), cortex (36.32±10.68μm), phloem (16.08±9.83μm), cambium (20.08±6.72 μm), xylem (17.46μm), pith (11.04 μm). The outer layer of the primary cortex, the exoderm, consists of tightly closed polygonal cells, the walls of which are subsequently corked and perform a protective function. Then the main parenchyma (mesoderm) is located, which makes up the main mass of the primary cortex. Between xylem and phloem there is a wide cambial zone. Endodermis is not clearly seen (Table 1, Figure 2 b).

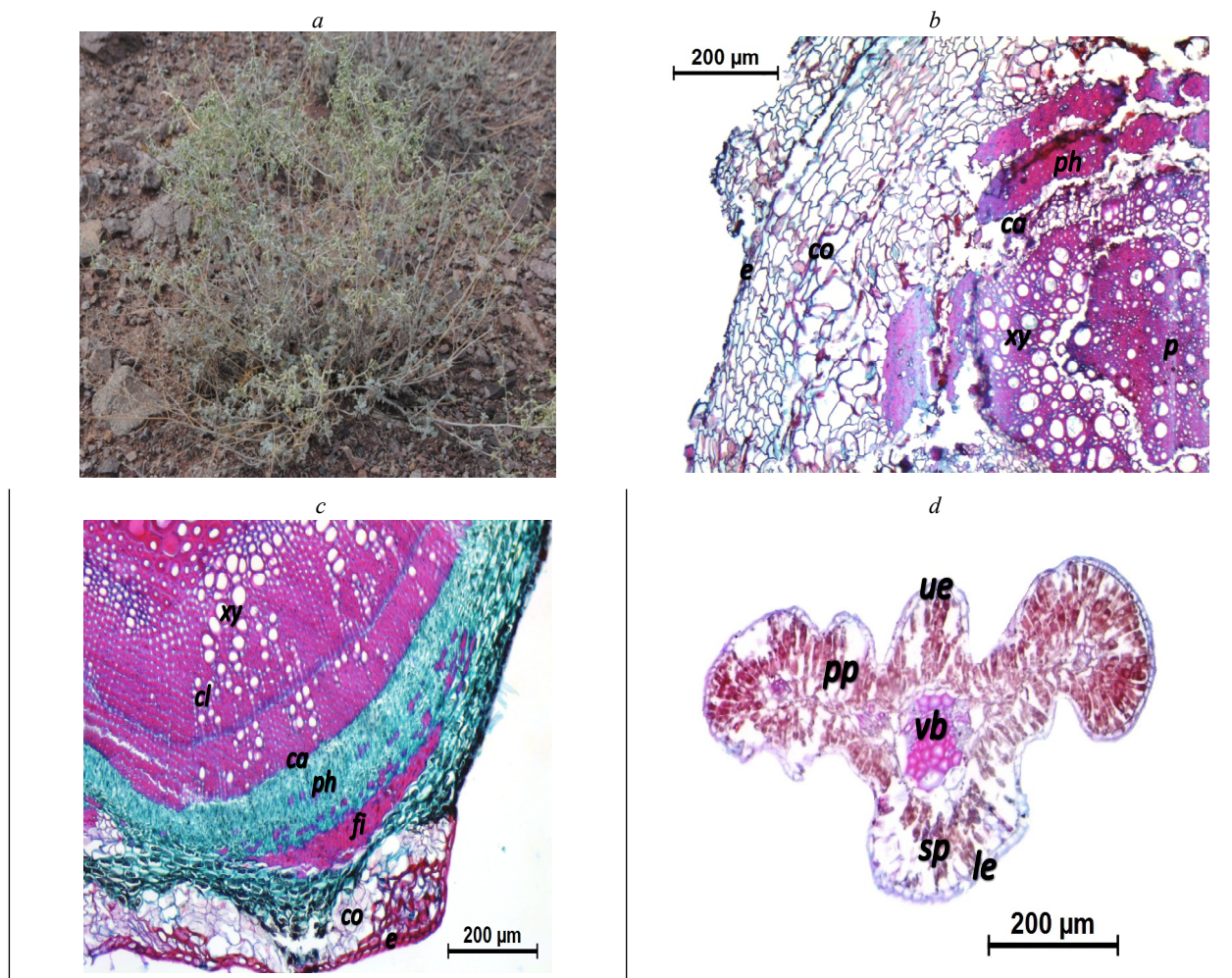


Figure 2 – *Seriphidium heptapotamicum* a. General view. b. Cross-section of root. c. Cross-section of stem. d. Cross-section of leaf (p: pith, co: cortex, ca: cambium, cl: chlorenchyma, fi: fiber, x: xylem, ph: phloem, e: epidermis, ue: upper epidermis, le: lower epidermis, pp: palisade parenchyma, sp: spongy parenchyma, vb: vascular bundle).

Table 1 – Anatomical measurements of *Seriphidium heptapotamicum*.

	Width (µm)				Length (µm)			
	Min. – Max.		Avr. ± Sd		Min. – Max.		Avr. ± Sd	
Root								
Epidermis cell	4.97	13.77	7.79	1.95	14.53	45.31	27.3	6.8
Cortex	3.93	24.63	10.11	3.5	13.33	52.24	28.64	8.2
Phloem	3.63	36.24	9.83	6.55	5.42	47.75	16.08	7.74
Cambium	4.23	16.6	6.72	2.28	12.25	34.52	20.08	4.39
Ksilem (diameter)	2.79	38.24	12.35	9.1				
Pith cell (diameter)	3.42	30.9	9.9	6.25				
Stem								
Epidermis cell	5.88	12.07	8.22	1.35	11.6	39.65	21.56	6.16
Cortex	5.51	31.22	12.23	4.13	15.49	53.42	29.6	7.66
Sclerenchyma	4.3	12.77	8.4	5.88	13.66	42.47	24.29	5.88
Perivascular fibers	5.91	14.1	8.95	1.63	10.45	28.83	17.48	3.26
Phloem	2.92	9.73	6.5	1.3	7.15	21.01	13.22	2.4
Ksilem (diameter)	3.49	29.7	15.03	6.69				
Pith cell (diameter)	4.83	46.99	14.07	8.04				
Leaf								
Epidermis cell	4.73	12.36	7.49	1.61	7.08	48.68	17.26	8.2
palisade parenchyma	4.48	11.06	7.7	1.46	14.35	46.03	27.28	6.43
spongy parenchyma	4.31	11.19	7.41	1.34	8.61	31.77	16.01	3.71
Sclerenchyma	4.84	15.33	9.13	2.72	11.05	49.11	23.59	7.85
vascular bundle (diameter)	5.22	20.9	12.18	3.97				
Min: minimum, Max: maximum, Avr: average, Sd: standard deviation.								

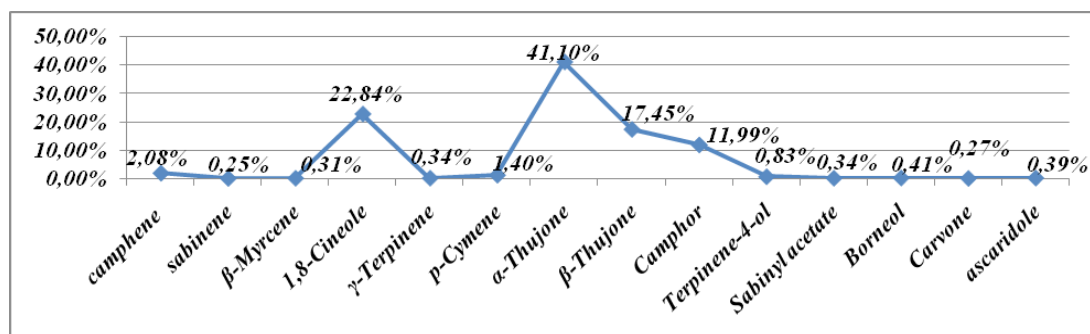
Stem: – The largest average size in stems of *S. heptapotamicum*: epidermis (21.56±8.22µm), cortex (29.6±12.23µm), sclerenchyma (24.97±8.58µm), perivascular fibers (17.48±8.95 µm), phloem (13.22±6.50µm), xylem (15.03µm), pith (28.93 µm). The epidermis is composed of single-row rectangular-like cells at the outermost layer. Beneath the epiderm, there is a cortex layer composed of 5-6 rows of parenchymatic cells. Right under this layer, there are 8–10 rows of well-developed chlorenchyma layer. Between parenchymal cells and sclerenchyma perivascular leaves are located. Fragmented epidermis cells are all covered with a thin cuticle layer at the outermost layer. The stele is represented by the phloem, poorly developed, protected in periphloemic groups of sclerenchymatous cells. The xylem is more developed than the phloem (Table 1, Figure 2 c).

Leaf: – The leaf cross-section clearly shows the 3 basic parts: epidermis, mesophyll tissue and vascular system. Mesophyll tissue is composed of two

types of cells as palisade and sponge parenchyma. After the cuticle, it is possible to observe a single layer of regular and rectangular epidermal cells on both the upper and lower sides. There was no significant difference between the lower epidermis and upper epidermis cells. Beneath both the upper and lower epidermis, there is a palisade parenchyma which has two layers containing a large number of chloroplasts (Table 1, Figure 2 d).

Biochemical characteristics

Yields of essential oils are 2.4 % for *S. heptapotamicum*. The main components of *S. heptapotamicum* are essential oil were camphene – 2.08%, sabinene-0.25%, β-myrcene-0.31%, 1,8-cineole-22.84%, γ-terpinene-0.34%, p-cymene-1.40%, α-thujone-41.10%, β-thujone-17.45%, camphor-11.99%, terpinene-4-ol-0.83%, sabinyl acetate-0.34%, borneol-0.41%, carvone-0.27% and ascaridole-0.39%. The histogram displays these components as follows (Table 2).

Table 2 – Chemical compositions of *Seriphidium heptapotamicum* essential oils from Kazakhstan


Our study showed that the main constituents were α -thujone (41.10%), 1,8-cineole (22.84%), β -thujone (17.45%), and camphor (11.99%) for *S.heptapotamicum* essential oil. Other compounds were found in minor amounts (% 0.25- 2.08).

Discussion

The majority of studied rare *Artemisia* species including *S. heptapotamicum* have not been researched by other researchers for many years because of their foliar anatomical attributes.

Janačković et al. (2019) described a secondary anatomical structure, a well-developed xylem, a multilayer exodermis in the cross section of the root using anatomical analysis of vegetative organs of five *Artemisia* L.(Anthemideae, Asteraceae) species (*Artemisia campestris* L., *A. absinthium* L., *A. arborescens* L., *A. judaica* L. and *A. herba-alba* Asso (now *Seriphidium herba-alba* (Asso) Soják) Our studies showed that secondary tissues were not revealed and a single-layer exodermis was covered (Fig. 2 b). The cross-sectional stems had a secondary structure due to the activity of the cambium, especially in the xylem region and xylem was more developed than phloem like in the *Artemisia alba* subsp. *saxatilis* (Will.) P. Four (now *Artemisia alba* Turra) studied by Bercu and Broaske (2012). Our study confirms this conclusion (Fig. 2c).

Hussain et al. (2019) have been examined the anatomical characteristics 13 species of *Artemisia* of the region of Pakistan and found out that *A. annua* L., *A. chamaemelifolia* Vill., *A.tournefortiana* Reichenb. (now *Artemisia biennis* Willd.), *A. verlotiorum* Lamotte, *A. indica* Willd., *A. Chinensis* L. (*Crossostephium chinense* Makino), *A. austriaca* Jacq., *A. gmelinii* Web., *A.vulgaris* L. and *A. dubia* Wall. ex Bess. showed irregular epidermal cells shape with wavy walls. *A. herba-alba* showed elongated shape of cells with smooth walls. *A. ar-*

gyi Levl.&Vaniot. and *A.montana* Pamp. showed polygonal shape with smooth walls. The epidermis of vegetative organs in our work consisted of single-row, dense, rectangular cells in the outer layer (Fig. 2 b-d). Abderabbi et al. (2018) have found that the chlorophyll in parenchyma is located on the periphery of leaf structure and the water reserve parenchyma is located deeper nearby the vascular bundles and have identified the main mechanisms for adaptation to drought. Our studies, revealed that the palisade and spongy parenchyma, which are located chloroplasts, matured well in *S.heptapotamicum* (Fig. 2 d).

In many species of *Artemisia lerchiana* Web. (formerly *Seriphidium lerchianum* (Weber) Poljakov), *Artemisia santonica* L. (now *Seriphidium caeruleum* (L.) Soják), the main component of the essential oil is camphor (33-74%) (Velikorodov et al., 2011, Bodoev et al., 2000). Gilani et al. (2010) studied the *Seriphidium kurramense* (Qazilb.) Y.R.Ling (formerly *Artemisia kurramensis* Qazilb.) in Pakistan and it was found that main component of essential oil consisted of α -thujone (26.0 – 73.4 %), β -thujone (3.14 – 49.3 %), 1,8-cineole (10.2 – 22.3 %) and camphor (0 – 26.3 %).

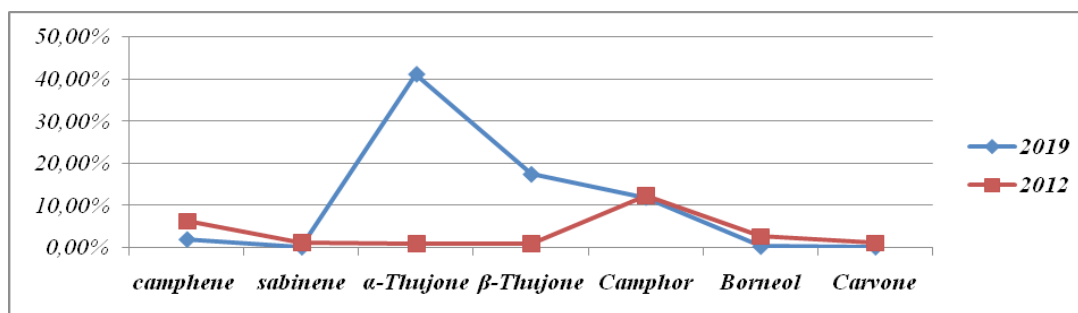
Essential oil from Iran was *A.aucheri* Boiss. (now *Seriphidium aucheri* (Boiss.) Ling & Y.R.Ling), *A. santolina* Schrenk (now *Seriphidium santolinum* (Schrenk) Poljakov), *A.sieberi* Bess. (now *Seriphidium sieberi* (Bess.) K.Bremer&Humphries ex Y.R.Ling). Twenty-six compounds were identified in the oil of *A.aucheri*, representing more than 79.6% of the oil. The main components of this oil were verbenone (21.5%), camphor (21.0%), 1,8-cineole (8.3%), trans-verbenol (8.1%) and p-cymene (3.5%). Thirty-nine compounds were identified in the oil of *A.santolina*, representing 89.6% of the oil. The main components of this oil were neryl acetate (13.4%), bornyl acetate (10.9%), trans-verbenol (9.9%), lavan-dulol (8.8%), linalool (6.9%), 1,8-cin-

eole (6.5%) and geranyl acetate (3.6%) (Sefidkon et al., 2002).

Asilbekova et al. (2012) previously reported cineole (41.5%), camphor (25.6%), camphene (6.4%), p-cymene (4.9%) and ketone (4.8%) as main constituents in the essential oil of *Seriphidium heptapotamicum*.

When comparing data obtained in 2012 and 2019, the following table appears (Table 3). As we can see from the comparison table of the component composition of *A. sieberi* and *S.heptapotamicum*, the following components were similar: sabine, camphor, borneol, carvone.

Table 3 – The comparison of essential oils content of two populations of *S.heptapotamicum* in Kazakhstan



Forty compounds were identified in the oil of *A.sieberi*, representing more than 98.1% of the oil. The main components of this oil were camphor

(49.3%), 1,8-cineole (11.1%), bornyl acetate (5.8%) and nerylacetate (4.3%) (Sefidkon et al., 2002).

Referencers

- Ivaschenko, A.A., Grudzinskaya, L.M., Gemedzhieva, N.G., Jaime, A., Teixeira da Silva, Ryabushkina, N.A. Genetic Resources of Kazakhstan Flora: Experience, Basic Targets and Methods for Conservation of Flowering Plants // Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology. -2006. -Vol.12. -P. 583-584.
- Грудзинская Л.М., Гемеджиева Н.Г., Нелина Н.В., Каржаубекова Ж.Ж. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана. Справочное издание. -2014. - Т.20. №1. - С. 200.
- The Plant List: Compositae / Royal Botanic Gardens Kew and Missouri Botanic Garden. -2016. Retrieved 18.
- Bora K.S., Sharma A. The genus *Artemisia*: a comprehensive review // *Pharmaceutical Biology*. - 2011. - Vol. 49. - №1. - P. 101-9.
- Valles J., Garnatje T., Garcia S., Sanz M., Korobkov A. A. Chromosome numbers in the tribes Anthemideae and Inuleae (Asteraceae) // *Botanical Journal of the Linnean Society*. -2005. -Vol. 148. -P. 77-85.
- Kurşat M., Civelek Ş., Türkoğlu İ., Tabur S., Gür N. A new species of subgenus *Seriphidium* of *Artemisia* L. (Asteraceae) from Turkey // *Turkish Journal of Botany*. -2015. -Vol. 39. -P. 88-95.
- Valles J., McArthur E. D. *Artemisia* systematics and phylogeny: Cytogenetic and molecular insights // *Shrubland Ecosystem Genetics and Biodiversity: Proceedings*. -2001. -P. 67-74.
- Tan R.X., Zheng W.F., Tang H.Q. Biologically active substances from the genus *Artemisia* // *Planta Med*. - 1998. - Vol. 64. - P. 295-302.
- Hayat, M. Q., Ashraf, M., Khan, M. A., Yasmin, G., Shaheen, N., Jabeen, S. (2009). Phylogenetic relationships in *Artemisia* spp. (Asteraceae) based on distribution of foliar trichomes. *International Journal of Agricultural and Biology* 11, 553-558.
- Nofal S.M., Mahmoud S.S., Ramadan A., Soliman G.A. Fawzy R. Anti-Diabetic Effect of *Artemisia judaica* Extracts // *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*. -2009. -Vol. 4. №1. -P.42-48.
- Amin S.M., Hassan H.M., El Gendy A.E., El Beih A.A., Mohamed T.A., Elshamy A.I., Bader A., Shams K.A., Mohammed R., Hegazy M. Comparative chemical study and antimicrobial activity of essential oils of three *Artemisia* species from Egypt and Saudi Arabia // *Flavour and Fragrance Journal*. -2019. -Vol. 34. -P. 450-459.
- Zhang Zh., Pang X., Guo S., Cao J., Wang Y., Chen Zh., Feng Y., Lei N., Du Sh. Insecticidal Activity of *Artemisia frigida* Willd. Essential Oil and Its Constituents Against Three Stored Product Insects // *Records of Natural Products*. -2019. -Vol. 13. №2. -P.176-181.
- Zhang L.-B., Chang J.-J., Guo L.-M., Lv J.-L. Triterpenoids with α -glucosidase inhibitory activity from *Artemisia argyi* // *Journal of Asian Natural Products Research*. -2018. -Vol.20. №12. -P. 1101-1193.

- 14 Janačković P., Gavrilović M., Rančić D., Dajić-Stevanović Z., Giweli A. A., Marin P.D. Comparative anatomical investigation of *Artemisia* L. (Anthemideae, Asteraceae) species in view of taxonomy // *Brazilian Journal of Botany*. – 2019. – Vol.42. – P. 135–147.
- 15 Bercu R., Broască L. Histoanatomical features of *Artemisia alba* subsp. *saxatilis* (Willd.) P.Fourn. // *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. –2012. -Vol.17. №1. –P. 278-280.
- 16 Hussain A., Hayat M.Q., Sahreen S., Bokhari Syed A.I. Unveiling the Foliar Epidermal Anatomical Characteristics of *Artemisia* L. (Asteraceae) from Northeast (Gilgit-Baltistan), Pakistan // *International Journal of Agriculture and Biology*. -2019. -Vol.21. №3. –P. 630-638.
- 17 Abderabbi Kh., Adda A., Benhassaini H., Merah O. Leaf morphological and anatomical traits variation of *Artemisia herba-alba* in a steppe zone of Algeria // *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. -2018. –Vol.24. №4. –P. 631–637.
- 18 Asilbekova D.T., Bekker N.P., Chernenko T.V., Glushenkova A.I., Ul'chenko N.T. Lipids, Lipophilic Components and Essential Oils from Plant Sources / Springer Science+Business Media, LLC. -2012. -P. 76-77.
- 19 Velikorodov A. V., Morozova L. V., Pilipenko V. N. Kovalev, V. B. The chemical composition of the essential oil of four endemic species of wormwood in the Astrakhan region: *Artemisia lerchiana*, *Artemisia santonica*, *Artemisia arenaria* and *Artemisia austriaca* / *Chemistry of plant raw materials*. -2011. -Vol. 4. –P. 115-120.
- 20 Bodoev N. V., Bazarova S. V., Pokrovsky L. M., Namzalov B. B., Tkachev A. B. The composition of essential oil of wormwood in the cold flora of Buryatia. *Chemistry of plant raw materials*. -2000. -Vol. 3. –P. 41-44.
- 21 Gilani S. A., Fujii Y., Sugano M., Watanabe K. N. Chemotypic variations and phytotoxic studies of essential oils of endemic medicinal plant *Seriphidium kurramense* from Pakistan // *Journal of Medicinal Plants Research*. -2010. -Vol. 4. №4. –P. 309-315.
- 22 Sefidkon F., Jalili L. A., Mirhaji T. Essential oil composition of three *Artemisia* spp. from Iran // *Flavour and Fragrance Journal*. -2002. -Vol. 17. –P. 150 – 152.
- 23 Ling Y., Ling Y. R. The Chinese *Seriphidium* (Bess.) Poljak. The classification, distribution and application of *Seriphidium* (Bess.) Poljak in China // *Bulletin of Botanical Research*. -1988. -Vol. 8. №3. –P.119.
- 24 Johansen D. A. Plant microtechnique / McGraw-Hill. New-York. -1944. – P. 523.
- 25 Shaimerdenova Zh. R., Makubayeva A. I., Özek T., Özek G., Süleyman Y. G., Atazhanova A., Adeckenov S.M. Chemical composition of essential oils from *Artemisia glabella* Kar. et Kir. and *Artemisia rupestris* L. obtained by different extraction methods // *Natural Volatiles and Essential Oils*. -2018. -Vol. 5. №2. –P. 1-9.

References

- 1 Abderabbi Kh., Adda A., Benhassaini H., Merah O. (2018). Leaf morphological and anatomical traits variation of *Artemisia herba-alba* in a steppe zone of Algeria. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24(4): 631–637.
- 2 Amin S.M., Hassan H.M., El Gendy A.E. □N.G., El □Beih A.A., Mohamed T.A., Elshamy A.I., Bader A., Shams K.A., Mohammed R., Hegazy M. □E.F. (2019). Comparative chemical study and antimicrobial activity of essential oils of three *Artemisia* species from Egypt and Saudi Arabia. *Flavour and Fragrance Journal*, 34: 450–459.
- 3 Asilbekova D.T., Bekker N.P., Chernenko T.V., Glushenkova A.I., Ul'chenko N.T. (2012). Lipids, Lipophilic Components and Essential Oils from Plant Sources. *Springer Science+Business Media, LLC*. 76-77.
- 4 Bercu R., Broască L. (2012). Histoanatomical features of *Artemisia alba* subsp. *saxatilis* (Willd.) P. Fourn. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 17(1): 278-280.
- 5 Bodoev N. V., Bazarova S. V., Pokrovsky L. M., Namzalov B. B., Tkachev A. B. (2000). The composition of essential oil of wormwood in the cold flora of Buryatia. *Chemistry of plant raw materials*, 3: 41-44.
- 6 Bora K.S., Sharma A. (2011). The genus *Artemisia*: a comprehensive review. *Pharmaceutical Biology*, 49 (1): 101-9.
- 7 Gilani S. A., Fujii Y., Sugano M., Watanabe K. N. (2010). Chemotypic variations and phytotoxic studies of essential oils of endemic medicinal plant *Seriphidium kurramense* from Pakistan. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (4): 309-315.
- 8 Grudzinskaya L.M., Gemedzhiyeva N.G., Nelina N.V., Karzhaubekova ZH.ZH. (2014). Annotirovannyi spisok lekarstvennykh rasteniy Kazakhstana. *Spravochnoye izdaniye*, 20 (1): 220. (in Russian).
- 9 Hayat, M. Q., Ashraf, M., Khan, M. A., Yasmin, G., Shaheen, N., Jabeen, S. (2009). Phylogenetic relationships in *Artemisia* spp. (Asteraceae) based on distribution of foliar trichomes. *International Journal of Agricultural and Biology* 11, 553–558.
- 10 Hussain A., Hayat M.Q., Sahreen S., Bokhari Syed A.I. (2019). Unveiling the Foliar Epidermal Anatomical Characteristics of *Artemisia* L. (Asteraceae) from Northeast (Gilgit-Baltistan), Pakistan. *International Journal of Agriculture and Biology*, 21(3): 630-638.
- 11 Ivaschenko A.A., Grudzinskaya L.M., Gemedzhiyeva N.G., Jaime A., Teixeira da Silva, Ryabushkina N.A. (2006). Genetic Resources of Kazakhstan Flora: Experience, Basic Targets and Methods for Conservation of Flowering Plants. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology*, 12: 583-584.
- 12 Janačković P., Gavrilović M., Rančić D., Dajić-Stevanović Z., Giweli A. A., Marin, P.D. (2019). Comparative anatomical investigation of *Artemisia* L. (Anthemideae, Asteraceae) species in view of taxonomy. *Brazilian Journal of Botany*, 42:135–147.
- 13 Johansen D. A. (1944). Plant microtechnique. *McGraw-Hill*, New-York, 523.
- 14 Kurşat M., Civelek Ş., Türkoğlu İ., Tabur S., Gür N. (2015). A new species of subgenus *Seriphidium* of *Artemisia* L. (Asteraceae) from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 39: 88-95.
- 15 Ling Y., Ling Y. R. (1988). The Chinese *Seriphidium* (Bess.) Poljak. The classification, distribution and application of *Seriphidium* (Bess.) Poljak in China. *Bulletin of Botanical Research, Harbin*. 8 (3): 119.

- 16 Nofal S.M., Mahmoud S.S., Ramadan A., Soliman G.A. Fawzy R. (2009). Anti-Diabetic Effect of *Artemisia judaica* Extracts. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 4(1): 42-48.
- 17 Sefidkon F., Jalili L. A., Mirhaji T. (2002). Essential oil composition of three *Artemisia* spp. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 17: 150 – 152.
- 18 Shaimerdenova Zh. R., Makubayeva A. I., Özek T., Özek G., Süleyman Y. G., Atazhanova A., Adekenov S.M. (2018). Chemical composition of essential oils from *Artemisia glabella* Kar. et Kir. and *Artemisia rupestris* L. obtained by different extraction methods, *Natural Volatiles and Essential Oils*, 5 (2): 1-9.
- 19 Tan, R.X., Zheng, W.F., Tang H.Q. (1998). Biologically active substances from the genus *Artemisia*. *Planta Med.* 64: 295–302.
- 20 The Plant List: Compositae (2016). *Royal Botanic Gardens Kew and Missouri Botanic Garden*. Retrieved 18.
- 21 Valles J., Garnatje T., Garcia S., Sanz M., Korobkov A. A. (2005). Chromosome numbers in the tribes Anthemideae and Inuleae (Asteraceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 148: 77-85.
- 22 Valles J., McArthur E. D. (2001). *Artemisia* systematics and phylogeny: Cytogenetic and molecular insights. *Shrubland Ecosystem Genetics and Biodiversity: Proceedings*, 67–74.
- 23 Velikorodov A. V., Morozova L. V., Pilipenko V. N., Kovalev V. B. (2011). The chemical composition of the essential oil of four endemic species of wormwood in the Astrakhan region: *Artemisia lerchiana*, *Artemisia santonica*, *Artemisia arenaria* and *Artemisia austriaca*. *Chemistry of plant raw materials*, 4: 115-120.
- 24 Zhang Zh., Pang X., Guo S., Cao J., Wang Y., Chen Zh., Feng Y., Lei N., Du Sh. (2019). Insecticidal Activity of *Artemisia frigida* Willd. Essential Oil and Its Constituents Against Three Stored Product Insects. *Records of Natural Products*, 13 (2): 176-181.
- 25 Zhang L.-B., Chang J.-J., Guo, L.-M. Lv, J.-L. (2018). Triterpenoids with α -glucosidase inhibitory activity from *Artemisia argyi*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 20 (12): 1101-1193.

А.Ж. Чилдибаева* , А.А. Аметов 

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы,
*e-mail: a.zh.childebaeva@gmail.com

**ОПЫТЫ ИНТРОДУКЦИИ РЕДКОГО,
НАХОДЯЩЕГОСЯ ПОД УГРОЗОЙ ИСЧЕЗНОВЕНИЯ,
УЗКОЭНДЕМИЧНОГО РАСТЕНИЯ *ROSA ILIENSIS CHRSHAN*.
В УСЛОВИЯХ СТЕПНОГО ПОЯСА
ЗАИЛИЙСКОГО АЛАТАУ**

В статье рассматриваются вопросы введения в интродукцию редкого, находящегося под угрозой исчезновения, узкоэндемичного растения *Rosa iliensis Chrshan*. семенным путем в условиях степного пояса Заилийского Алатау. Отмечается что результаты исследований были положительными. Несмотря на то, что из 100 посеянных семян всходы дали всего лишь от 10 до 20%, из появившихся всходов от 90 до 99% благополучно прижились. Это дает возможность в перспективе рассмотреть вопросы интродукции *Rosa iliensis Chrshan*. семенным путем с большим оптимизмом. Причем введя *Rosa iliensis Chrshan*. в интродукцию, мы можем одновременно решить несколько важных вопросов. Главные из них: сохраним *Rosa iliensis Chrshan*. от исчезновения; создавая искусственную плантацию *Rosa iliensis Chrshan*., обеспечим витаминную промышленности и фармацевтическую отрасли Республики Казахстан натуральным и дешевым сырьем; *Rosa iliensis Chrshan*. можем рекомендовать для озеленения парков, скверов, аллей городов, районных центров и отдаленных населенных мест; введя в интродукцию *Rosa iliensis Chrshan*. в ботанических садах Республики Казахстан, можно использовать его в качестве маточника для скрещивания с культурными сортами с целью выведения новых сортов Казахстанских садовых роз.

Ключевые слова: интродукция, популяция, эндемичные растения, стратификация, черенкование.

A.Zh. Childibayeva*, A.A. Ametov

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty,
*e-mail: a.zh.childebaeva@gmail.com

**Experiments on the introduction of a rare, endangered,
narrow-endemic plant *Rosa iliensis Chrshan*.
in the conditions of the steppe zone of Zailiysky Alatau**

The article deals with the introduction of a rare, endangered, narrow-endemic plant *Rosa iliensis Chrshan*. by seed in the conditions of the steppe zone of the ZailiyskyAlatau. It is noted that the results of the study were positive. Although only 10 to 20% of the 100 seeds sown were sprouted, but 90 to 99% of the sprouts that appeared successfully took root. This makes it possible to consider the introduction of *Rosa iliensis Chrshan*. in the future seminal way of great optimism. Moreover, by entering *Rosa iliensis Chrshan*. during the introduction, we can simultaneously solve several important issues. The main ones, save *Rosa iliensis Chrshan*. from extinction; creating an artificial *Rosa iliensis Chrshan* plantation. we will provide the vitamin industry and pharmaceutical industry of the Republic of Kazakhstan with natural and cheap raw materials; *Rosa iliensis Chrshan*. we can recommend landscaping of parks, squares, alleys of cities, district centers and remote localities; introducing *Rosa iliensis Chrshan*. into the introduction in the Botanical gardens of the Republic of Kazakhstan, it can be used as a Queen for crossing with cultural varieties in order to breed new varieties of Kazakhstan garden roses.

Key words: introduction, population, endemic plants, stratification, cuttings.

А.Ж. Чилдибаева*, А.А. Аметов

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.,

*e-mail: a.zh.childebaeva@gmail.com

**Іле Алатауының далалық белдеуі жағдайында сирек кездесетін,
жойылуға жақын, таралу аймағы шектеулі эндемдік *Rosa iliensis* Chrshan.
өсімдігін интродукцияға ендіру тәжірибесі**

Мақалада Іле Алатауының далалық белдеуі жағдайында тұқымдық жолмен көбейетін сирек кездесетін, жойылуға жақын, таралу аймағы шектеулі эндемдік *Rosa iliensis* Chrshan өсімдігін интродукцияға енгізу мәселелері қарастырылады. Зерттеу нәтижелері оң көрсеткішке ие болды. Дегенмен егілген 100 тұқымның тек 10-нан 20%-ға дейін өскіні ғана бергенімен, 90-нан 99%-ға дейін сәтті өскен. Бұл болашақта *Rosa iliensis* Chrshan өсімдігін интродукциялау мәселелерін қарастыруда тұқымдық жолмен көбейтуге үлкен мүмкіндік береді. Оның үстіне *Rosa iliensis* Chrshan. өсімдігін интродукцияға енгізуде біз бір мезгілде бірнеше маңызды мәселелерді шеше аламыз. Олардың ең бастылары, *Rosa iliensis* Chrshan өсімдігін жойылып кетуден сақтаймыз; *Rosa iliensis* Chrshan. өсімдігінің жасанды плантациясын құру арқылы Қазақстан Республикасының дәрумендік өнеркәсібі мен фармацевтикалық саласын табиғи және арзан шикізатпен қамтамасыз етеміз; *Rosa iliensis* Chrshan. өсімдігін саябақтарды, скверлерді, қала саяжайларын, аудан орталықтарын және шалғайдағы елді мекендерді көгалдандыру үшін ұсыныс бере аламыз; *Rosa iliensis* Chrshan. интродукцияға енгізе отырып, Қазақстан Республикасының ботаникалық бақтарында оны қазақстандық бақшалық раушандардың жаңа сорттарын шығару мақсатында мәдени сорттармен будандастыру үшін аналық ретінде пайдалануға болады.

Түйін сөздер: интродукция, популяция, эндемдік өсімдіктер, стратификация, қалемшелеу.

1. Введение

В последние годы в связи с ухудшением экологической обстановки окружающей среды на планетарном уровне, повсеместно в Международных масштабах широко стали обсуждаться вопросы сохранения биологического разнообразия как растительного, так и животного мира. Например, в 1992 году на заседании Генеральной Ассамблеи Международного Союза Биологических наук при поддержке ЮНЕСКО была принята Международная программа «DIVERSITAS» и в том же году в Рио-де-Жанейро (Бразилия) Международная конвенция о сохранении биологического разнообразия. Последняя была ратифицирована (1995) Казахстаном и на ее основе была подготовлена программа “Биологическое разнообразие”. Приоритетными направлениями программы были инвентаризация биологического разнообразия и оценка их современного состояния. Особое внимание в программе уделяется изучению редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений и животных. В связи с этим особый интерес заслуживают исследования редких и находящихся под угрозой исчезновения эндемичных видов растений на популяционном уровне, без которых практически невозможно дать научно обоснованную оценку их современного состояния и принять соответствующие меры по их охране [1].

Одним из таких редких и эндемичных видов растений флоры Казахстана, находящихся под угрозой исчезновения является – *Rosa iliensis* Chrshan. Этот вид впервые был описан в 1947 году В.Г.Хржановским из долины р.Или Алматинской области [2, 3]. В Казахстане тугайные леса – это деревья, кустарники и растительные сообщества в пойме реки Сырдарья, Чу, Или, Каратал, Лепсы, Аксу и Чарын с общей площадью около 400 тыс. га, из которых не более 150 тыс. га покрыто лесом [4, 5]. *Rosa iliensis*-Chrshan. растет по берегам пустынных рек, на песках в Муюнкумском и Балхаш-Алакульском флористических районах [6]. К основным пустынным рекам Юго-Восточного Казахстана относятся Или, Каратал, Аксу, Лепсы, Каскелен, Шарын, Шелек и др. [7].

Ареал его распространения в последние 45-50 лет резко сократился в связи с строительством Капчагайской ГЭС на р.Или. Пойма реки Или начиная от района курорта Аяк-Калган до Капчагайского моста полностью затоплена. Здесь образовалось искусственное озеро протяженностью порядка 160-180 км и шириной 3-5 км, под названием «Капчагайское водохранилище». Это привело, во-первых, к разрыву ареала *Rosa iliensis* Chrshan., во-вторых, к ухудшению экологической обстановки не только нижнего течения р.Или, но и региона Южного Прибалхашья в целом. Резко упал уровень воды в р.Или ниже Капчагайской ГЭС, в результате чего перестала

ла затапливаться его пойма, заполняться водой старое русло и рукава реки, засохли мелкие озера дельты, что привело к исчезновению камышовых и тростниковых зарослей, изреживанию тугайных лесов и густых непроходимых кустарниковых зарослей. Ухудшилось состояние популяции отдельных редких и эндемичных видов растений, в том числе *Rosa iliensis* Chrshan. В связи с этим мы поставили перед собой цель поиска популяции *Rosa iliensis* Chrshan. в поймах р. Или и его главного левого притока р. Шарын, изучить их во всех аспектах с использованием традиционных и новейших методов ботанических исследований и дать оценку современному состоянию этого ценного, редкого, узкоэндемичного растения. Тем самым приложить максимум усилий для сохранения естественной популяции *Rosa iliensis* Chrshan. и рассмотреть вопросы его интродукции [8, 9].

Род *Rosa* L. насчитывает сотни видов и тысячи культурных растений. *Rosa* L. несомненно, являются одним из наиболее экономически важных и любимых декоративных растений. Миллионы розовых кустов высаживаются в садах или горшках, а миллиарды срезанных роз ежегодно продаются по всему миру [10]. Растения розы размножают семенами, обрезкой стеблей, прививкой, бутонизацией, обрезкой-прививкой (стентированием), обрезкой-бутонизацией, корневой прививкой и культурой тканей [11-13].

Во многих ботанических садах дальнего и ближнего зарубежья (Киеве, Львове, Одессе, Санкт-Петербурге, Ташкенте, Алматы, а также в Варшаве, Софии, Позани и др.) есть данные о том, что *Rosa iliensis* Chrshan. внедрены в интродукцию [14]. Растения розы выращивают на Украине в культурных условиях (на опытном поле Института розовых и ароматических растений Казанька) как витаминное растение. В настоящее время на Украине ведется организация плантации витаминных растений [15]. Выращивание роз датируется тысячелетиями. Во многих случаях происхождение и правильные названия роз чрезвычайно трудно выяснить [16].

Rosa L. также широко используются в озеленении городских территорий, для лесомелиоративных работ и создания живых изгородей. Кроме того, шиповники незаменимы в качестве подвоев для разных сортов садовых роз, особенно в условиях сурового климата, когда корнесобственные розы вымерзают [17, 18]. Цветы *Rosa* L. широко используются в арабской кухне и могут быть использованы в кремах, муссах или в сочетании с фруктовыми соками, салата-

ми, десертами, джемами и напитками, такими как лимонад и апельсиновый сок, чтобы придать экзотический оттенок. Кроме того, цветы можно подавать в качестве украшения кондитерских изделий [19, 20]. Не случайно, широкие исследования, связанные с интродукцией и селекцией шиповников, проводятся в Сибири, в Центральном сибирском Ботаническом саду РАН [21] получены первые крупноплодные, урожайные сорта шиповника селекции ВНИВИ [22] и сорта селекции ЮжУралНИИПОК ВНИВИ [23].

2. Материалы и методы исследования

Объектом нашего исследования является редкое, находящееся под угрозой исчезновения, узкоэндемичное растение *Rosa iliensis* Chrshan. В условиях степного пояса Заилийского Алатау.

При проведении исследований использованы общепринятые комплексные методики фенонаблюдений, качества семян и продуктивности растений [24, 25].

3. Результаты и их обсуждение

Rosa iliensis Chrshan. плотный кустарник высотой 150-200 см, цветет с первой декады мая до конца июня. Плодоносит в июле, августе месяцев. Полное созревание плодов и семян приходится на сентябрь и октябрь месяцы. Плоды *Rosa iliensis* Chrshan. мелкие, голые и гладкие, шаровидные, 5-7 мм в диаметре, при созревании черные [26].

Rosa L. – одна из основных культур декоративного садоводства. Современный мировой сортимент роз, насчитывающий около 30000 сортов [27], создан благодаря интродукционной и селекционной работе [28].

Для интродукции *Rosa iliensis* Chrshan. были собраны плоды с семенами из трех популяций поймы рек Или и Шарын Алматинской области.

Изучение роз проводилось с использованием общепринятых методик [1,4].

Популяция 1. *Rosa iliensis* Chrshan., где были собраны плоды с семенами для интродукции найдена в густо ясеневом (*Fraxinus potamophila* Herd.) лесу поймы реки Шарын, ниже моста автотрассы Алматы-Шонжы. Местность называется Сарытогай, что находится на территории Шарынского национального парка. Административно Шарынский национальный парк относится к Уйгурскому району Алматинской области. Координаты по GPS навигатору: N43°31.710'; E 079°16.031'. Высота участка над уровнем моря

629 м. Растительный покров представлен ясенево-ивово-кустарниковой ассоциацией (ass. *Rosa beggeriana*, *Rosa iliensis*, *Berberis iliensis*, *Tamarix ramosissima*-*Salix caspica*-*Fraxinus potamophila*). Почвы лесолуговые-пойменные. Рельеф слабонаклонная равнина. Сбор плодов с семенами был проведен 22 сентября 2018 г. В каждом плоду в среднем были от 13 до 32 полноценных семян. Сырая масса 1000 плодов составила 26,75 граммов, а сухая масса – 21,10 граммов. Семена отделяли от плодов после их полного засыхания до воздушно сухого состояния. Перед взвешиванием чистоту семян довели до кондиции. Поэтому семена взвешивали один раз, так как они уже были сухими. Масса 1000 семян составила 0,48 граммов.

Популяция 2. *Rosa iliensis* Chrshan. была найдена в пойме верхнего течения р.Или, недалеко от моста через реки Или автотрассы Алматы-Хоргос. Административно местность относится к Панфиловскому району Алматинской области. Координаты по GPS навигатора: N43°58.327'; E 079°34.766'. Высота над уровнем моря 494 м. Растительный покров популяции представлен ивово-лохово-кустарниковой ассоциацией (ass. *Rosa beggeriana*, *Rosa iliensis*, *Berberis iliensis*-*Elaeagnus oxycarpa*-*Salix caspica*). Почва аллювиально-луговая наносная. Плоды с семенами *Rosa iliensis* Chrshan. были собраны 14 октября 2018 г. В каждом плоде в среднем были от 20 до 39 полноценных семян. Сырая масса 1000 плодов составила 24,53 граммов, а сухая масса – 19,04 граммов. Семена отделяли от плодов после их полного засыхания до воздушно сухого состояния. Перед взвешиванием чистоту семян довели до кондиции. Поэтому семена взвешивали один раз, так как они уже были сухими. Масса 1000 семян составила 0,47 граммов.

Популяция 3. *Rosa iliensis* Chrshan. была найдена в среднем течении поймы р. Или, ниже Капчагайской ГЭС. Точнее сказать *Rosa iliensis* Chrshan. была обнаружена в 4-5 км ниже Илийской метеостанции в пойме р.Или. Административно местность относится к Илийскому району Алматинской области. Координаты по GPS: N44°09.427'; E 076°57.888'. Высота над уровнем моря 417 м. Растительный покров популяции представлен злаково-гребеншиково-шиповниковой ассоциацией (ass. *Rosa beggeriana*, *Rosa iliensis*-*Tamarix ramosissima*-*Phragmites australis*, *Calamagrostis epigeios*, *Achnatherum splendens*). Почва аллювиально-луговая. Рельеф плоская равнина. Плоды *Rosa iliensis* Chrshan. были собраны 20 октября 2018 г. В каждом плоду в

среднем насчитали от 16 до 23 полноценных семян. Сырая масса 1000 плодов составила 18,50 граммов, а сухая масса – 17,04 граммов. Масса 1000 семян составила 0,53 граммов.

Rosa iliensis Chrshan. – мезофит. Мезофиты слабо адаптированы к условиям предгорной зоны Заилийского Алатау и часто не образуют полноценных семян [29]. Семена *Rosa iliensis* Chrshan. хранились в бумажном пакете при температуре 20-22°C выше нуля, в лаборатории морфологии и анатомии растений кафедры биоразнообразия и биоресурсов, факультета биологии и биотехнологии КазНУ имени аль-Фараби. Для определения лабораторной всхожести семян были посеяны по 100 семян с каждой популяции в трех кратной повторности в чашке Петри. Перед посевом в чашку Петри поместили промокательную бумагу и пропитывали ее водой, используя для этого грушу медицинскую, после этого вручную произвели посев. Температура комнаты, отведенной для лаборатории не превышала 20-22°C. После посева семян промокательную бумагу в чашке Петри ежедневно пропитывали водой из крана, используя для этого как было сказано выше грушу медицинскую. После этого каждый день проводили наблюдения над ростом семян начиная с их набухания. При этом не только определяли всхожесть семян, но и одновременно определяли степень интенсивности их роста. Результаты ежедневного наблюдения полностью наносились в дневник. Это подсчет набухших семян, количество семядольного и настоящего листьев, длина гипокотилия и эпикотилия, зародышевого корня, количество боковых корней. В целом всхожесть семян *Rosa iliensis* Chrshan. в лабораторных условиях не превышала 35-40%, а полевая всхожесть – еще ниже и составила от 10 до 20%. Но зато приживаемость всходов в полевых условиях очень высокая и составила от 90 до 99%.

3. Результаты и их обсуждение

После определения лабораторной всхожести семян *Rosa iliensis* Chrshan. сразу приступили к их посеву в закрытом грунте. Для этого свежесобранные семена без периода покоя сразу посеяли в лабораторных условиях в пластмассовые стаканчики. Стаканчики были заполнены грунтом, половину которого составил песок, половину – размельченная дубовая кора. Перед заполнением стаканчиков дубовую кору смешали с песком. После этого вручную произвели посев. Глубина заделки семян составила 2,5-3 см. С

каждой популяции посеяли по 100 семян, в трехкратной повторности. Полив произвели сразу после посева. В дальнейшем полив производился систематически через каждые 2 дня. Однако положительного результата добиться не удалось. Из 100 посеянных семян всходы дали всего 2. При этом первый всход едва давал два семядольных листа засох. Второй всход рос нормально, первоначально дал зародышевый корень и семядольные листья. Спустя 30 дней у этого всхода появились настоящие листья и боковые корни. Однако один нормальный всход из 100 семян нельзя считать положительным результатом. Главной причиной столь неудачного результата посева семян *Rosa iliensis* Chrshan. в лабораторных условиях может быть три:

- Первый (на наш взгляд главный), это неполноценность семян. Хотя сроки сбора плодов с семенами *Rosa iliensis* Chrshan. вполне совпал с их созреванием. Однако для полного дозревания семян необходим покой как минимум 3 месяца, а то и полных 6 месяцев.

- Второй, чересчур глубокая заделка семян (2,5-3 см). Заделка семян должна быть поверхностной, не глубже 0,3-0,5 см.

- Третий, неудачный подбор грунта. В лабораторных условиях когда произвели посев, пластмассовые стаканчики заполняли песком с смесью с плохо измельченной дубовой корой. Нам думается что, лучше было для этой цели использовать либо торф, либо чернозем с песком. Тогда возможно результат был бы иным.

В открытом грунте посев семян *Rosa iliensis* Chrshan. с целью интродукции был произведен в двух местах степного пояса Заилийского Алатау. Первая точка это Главный ботанический сад института ботаники и фитоинтродукции МОН РК. Координаты по GPS навигатора N43°31.710'; E 079°16.031'. Высота над уровнем моря 650 м. Рельеф слабонаклонная к северу равнина. Почва темно-каштановая. Участок был заранее подготовлен, т.е. вспахан отвальным плугом осенью 2018 г. до глубины 20-22 см, одновременно была проведена боронования. Весной 2019 г. для закрытия влаги провели дискования.

Однако несмотря на своевременное проведение всех приемов агротехнических мероприятий появление всходов длился очень долго. Причем из 100 посеянных семян всход дал только один. Это очень низкий показатель. На наш взгляд такой низкий показатель может быть связан прежде всего с глубокой заделкой семян *Rosa iliensis* Chrshan.

Вторая точка был частный огород, который находился в окраине г.Талгар Алматинской области. Координаты по GPS N43° 18' 44,7" E77° 11' 53,4". Высота над уровнем моря 933 м. Почва темно-каштановая. Здесь почва имела разрушенную структуру. Рельеф поля наклонная равнина. На участке в недавнем прошлом велись строительные работы, были выкопаны котлованы, вокруг лежали строительные мусоры. В связи с этим почва здесь имела разрушенную структуру и поверхности участка были неровными. Поэтому с целью выравнивания участка и проведения рекультивационных работ было привезено несколько машин чернозема. Толщина такого насыпного грунта местами достигала 45-50 см. Перед посевом семян *Rosa iliensis* Chrshan. вдоль забора почву обработали вручную штыковой лопатой глубиной до 25-30 см. Размельчали комки и граблями, вручную разровняли поверхности почвы. После этого 27 октября 2018 г. произвели посев семян *Rosa iliensis* Chrshan., с каждой популяции посеяли по 100 семян в трехкратной повторности. В этот раз глубина заделки семян составляла не более 0,3-0,5 см. Весной 10 апреля 2019 г. появились первые всходы *Rosa iliensis* Chrshan. Большинство всходов выросших из семян собранных со всех трех выше перечисленных популяций прижились нормально.

Подсчеты показали, что из 100 посеянных семян собранных с поймы р.Шарын (популяция 1) *Rosa iliensis* Chrshan. всходы дали 11 штук, что составляет 11%. Из них к концу вегетационного сезона первого года жизни сохранились 10 штук. Приживаемость всходов составляла 99%. Из 100 посеянных семян собранных в верховьях р.Или *Rosa iliensis* Chrshan. (популяция 2) всходы дали 18 штук, что составляет 18%. Из них к концу вегетационного сезона первого года жизни сохранились 17 штук. Приживаемость всходов составляла 99%. Наконец из 100 посеянных семян, собранных в среднем течении р.Или, ниже Капчагайской ГЭС *Rosa iliensis* Chrshan. (популяция 3) всходы дали 20 штук, что составляет 20%. Из них к концу вегетационного сезона первого года жизни сохранились 18 штук. Это означает, что приживаемость всходов *Rosa iliensis* Chrshan. составляла 90%. Такой показатель дает возможность рассмотреть вопросы интродукции *Rosa iliensis* Chrshan. семенным путем с большим оптимизмом.

Высота растения первого года жизни *Rosa iliensis* Chrshan., введенного в интродукцию достигла от 42 до 49 см. На одном растении к концу вегетационного периода первого года жизни

были обнаружены по 3 по 4 побега. В каждом черешке насчитали по 3-4 пары листочков. Черешок в конце заканчивался с одним непарным листочком. Это означает, что у *Rosa iliensis* Chrshan. непарноперистый сложный лист. Помимо того в конце вегетационного сезона первого года жизни мы изучали особенности развития корневой системы *Rosa iliensis* Chrshan.,

выросшего из семян собранных со всех трех вышеперечисленных популяций Алматинской области.

Высота растения *Rosa iliensis* Chrshan., выросшего из семян собранных с поймы р.Шарын (популяция 1) достигала 49 см, диаметр куста составлял 5-6 см, а диаметр корневой шейки – 0,4 см (Рисунок 1 – А).

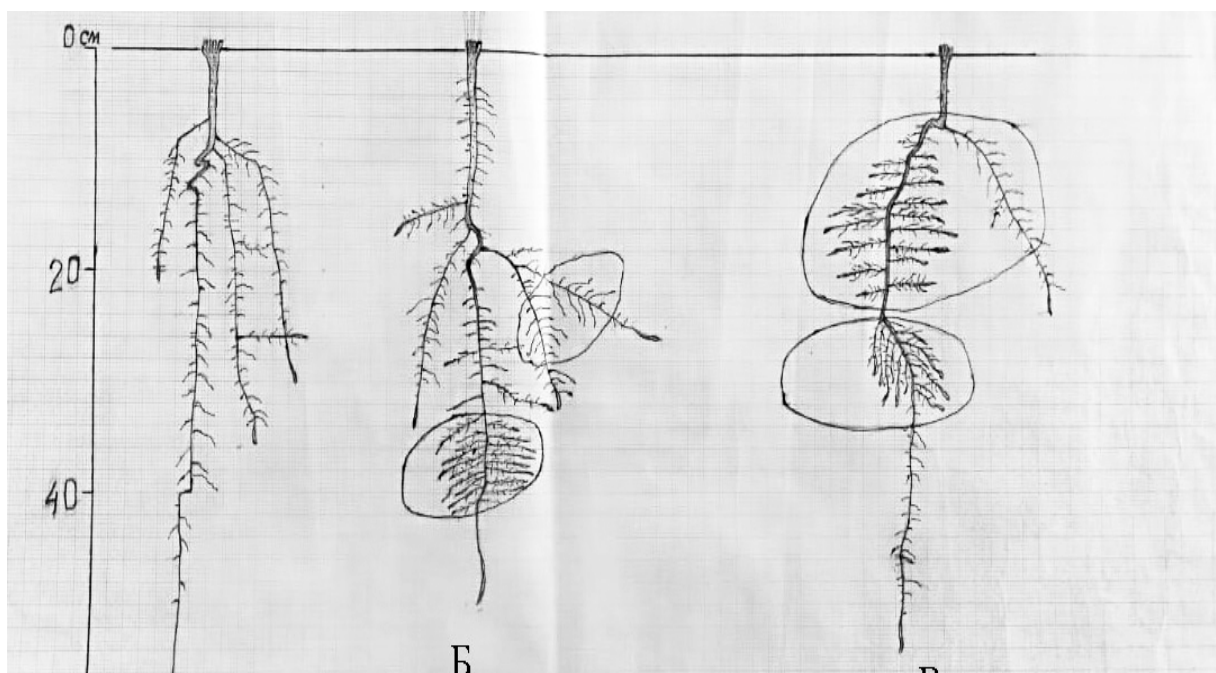


Рисунок 1 – Корневая система интродуцированного растения *Rosa iliensis* Chrshan. первого года жизни (М 1:4)

А – Популяция 1 *Rosa iliensis* Chrshan. поймы р.Шарын; Б – Популяция 2 *Rosa iliensis* Chrshan. в верхней части поймы р.Или; В – Популяция 3 *Rosa iliensis* Chrshan. поймы р.Или ниже Капчагайской ГЭС

Стержневой корень до глубины 8 см растет строго вертикально вниз, затем делая несколько спиралевидных изгибов, продолжает рост вертикально вниз и проникает в почву на глубину 64 см. С глубины 6-7 см от стержневого корня отходят несколько (3-4) хорошо развитых боковых корней первого порядка. Растут они первоначально полого вниз на протяжении 5-6 см, затем резко изгибаясь направляются вертикально вниз параллельно стержневому корню и проникают в почву на глубину 36 см. Ветвление корней идет до образования боковых ответвлений четвертого порядка. Длина отдельных боковых корней второго порядка достигает 23 см, третьего порядка 5-7 см, а четвертого порядка не превышает 0,3-0,5 см.

Интенсивность ветвления корней до глубины 40 см достаточно густое, а ниже этой глу-

бины скудное. В ходе отмывки корней мы без особого труда доходили до кончика как стержневого корня, так и его боковых ответвлений. Кончики корней бывают булавовидно утолщенными и голыми. В частности нижняя часть стержневого корня в пределах 20 см бывали совершенно голыми и кончики его булавовидно утолщенными.

В целом корневая система *Rosa iliensis* Chrshan., выросшего из семян Шарынской популяции более компактная и имеет тенденцию к вертикальному росту.

В целом в пределах глубины от 15 до 40 см ветвление корней достаточно густое. Особенно это наблюдается на тех местах, где встречаются каменные глыбы разного размера. Корни на поверхности каменной глыбы лежат плотно и тем самым образует густую сеть мелких всасываю-

щих корешков. Причем корешки эти часто бывают плоскими и сплюснутыми.

Высота растения *Rosa iliensis* Chrshan., выросшего из семян собранных в верхнем течении р. Или (популяция 2) к концу вегетационного сезона первого года жизни в среднем составляла 42 см, диаметр куста 10 см, а диаметр корневой шейки 0,2-0,3 см (Рисунок 1 – Б).

Стержневой корень до глубины 15 см растет строго вертикально вниз, затем встретив на пути небольшой камень, обходя его делает дуговидный изгиб, далее продолжает рост отвесно вниз и проникает в почву на глубину 50 см. С глубины 15 см от стержневого корня отходят несколько хорошо развитых боковых корней первого порядка. Растут они преимущественно полого вниз и достигают длины до 25-30 см. Боковые корни второго порядка многочисленные, имеют различную длину. Длина некоторых из них достигают 20 см. Ветвление корней идет до образования боковых ответвлений четвертого порядка. Длина боковых корней третьего порядка составляет 5-7 см, а четвертого порядка не превышает 0,3-0,5 см.

Высота растения *Rosa iliensis* Chrshan., выросшего из семян собранных в среднем течении р. Или, ниже Капчагайской ГЭС (популяция 3) к концу вегетационного сезона первого года жизни достигает 41 см, диаметр куста 10-11 см, диаметр корневой шейки 0,5 см (Рисунок 1 – В).

На одном из растений обнаружили по два побега. Стержневой корень до глубины 5-6 см растет строго вертикально вниз, затем встретив несколько каменных глыбов разного размера, обходя их делает несколько резких изгибов, далее продолжает рост отвесно вниз и проникает в почву на глубину 54 см. С глубины 8 см где лежат каменные глыбы от стержневого корня пучками отходят масса боковых корней первого порядка. Большинство из них имеют примерно одинаковую длину и буквально прилипают к каменным глыбам. При этом корни становятся плоскими и сплюснутыми. Кончики их имеют булавовидно утолщенную форму и бывают голыми. Только единичные боковые корни первого порядка могут достичь значительную длину. Один из таких крупных боковых корней первого порядка с глубины 8 см отходя от стержневого корня растет полого вниз и проникает в почву на глубину 24 см.

Ветвление корней идет до образования боковых ответвлений четвертого порядка. Длина боковых корней второго порядка составляет 7-10

см, третьего порядка 3-5 см, а четвертого порядка не превышает 0,3-0,5 см.

Интенсивность ветвления мелких корешков чрезвычайно густое в пределах глубины от 10 до 100 см, где встречаются камни различного размера.

В целом изучение в сравнительном аспекте особенностей строения и распространения корневой системы первого года жизни *Rosa iliensis* Chrshan. по горизонтам почвы, выращенных из семян собранных с трех популяций поймы рек Или и Шарын Алматинской области показали, что при одинаковых почвенно-климатических условиях в их росте как надземных, так и подземных частей не были обнаружены существенной разницы. Те небольшие отклонения по глубине проникновения и радиусу распространения корневой системы непосредственно связаны с толщиной насыпного грунта, встречаемости там каменных глыбов разного размера, обломков плит и комковатых остатков строительного раствора.

Однако успех интродукции *Rosa iliensis* Chrshan. семенным путем во многом зависит от проведения следующих важных мероприятий. Первое, это своевременный сбор плодов с семенами; второе, доведение чистоты семенного материала до кондиции; третье, соблюдение технологий сушки и хранения семян; четвертое, обязательное проведение стратификации семян перед посевом; пятое, тщательная подготовка почвы участка к посеву; шестое, правильное определение сроков сева и нормы высева семян; седьмое, строгое соблюдение всех видов агротехнических мероприятий. Малейшие отклонения или ослабления одного из выше перечисленных мероприятий могут привести наши усилия по интродукции *Rosa iliensis* Chrshan. семенным путем на нет.

Rosa iliensis Chrshan. корнеотпрысковое растение в естественных условиях преимущественно размножается вегетативным путем с помощью корневых отпрысков, образуя клоны различных размеров. Поэтому его можно размножать путем черенкования стебля и отрезками подземных побегов. Этим вопросам мы обязательно займемся в будущем.

Заключение

Опыты по интродукции *Rosa iliensis* Chrshan. семенным путем в условиях степного пояса Заилийского Алатау дали положительные результаты. Хотя показатели далеки от ожидаемого,

поскольку из 100 посеянных семян на открытом грунте всходы дали всего лишь от 10 до 20%. Это естественно невысокий показатель. Однако из появившихся всходов от 90 до 99% благополучно прижились, что дает возможность в перспективе рассмотреть вопросы интродукции *Rosa iliensis* Chrshan. семенным путем с большим оптимизмом. В целом, при одинаковых почвенно-климатических условиях из посеянных семян *Rosa iliensis* Chrshan., собранных с трех разных популяций поймы рек Или и Шарын Алматинской области в их росте и развитии как надземных, так и подземных частей не было обнаружено существенной разницы. Высота растения и диаметр куста, выросших из семян которые были собраны с трех разных популяций, были примерно одинаковыми и составляли 49 см и 35 см соответственно. Что касается особенностей роста и распространения корневой системы первого года жизни по горизонтам почвы показали, что при одинаковых условиях в их росте особой разницы не наблюдается. Например, глубина проникновения стержневого корня *Rosa iliensis* Chrshan. первого года жизни, выросшего из семян собранных с поймы р.Шарын (популяция 1) составляет 49 см, из семян собранных в верхней части поймы р.Или (популяция 2) – 50 см, а из семян собранных в среднем течении поймы р.Или ниже Капчагайской ГЭС- 54 см. Те небольшие отклонения по глубине проникновения, радиусу распространения корневой системы непосредственно связаны с толщиной насыпного грунта, встречаемости там каменистых глыбов разного размера, обломков плит и комковатых остатков строительного раствора.

В конце хотим отметить, что введя в интродукцию *Rosa iliensis* Chrshan. одновременно можно решить несколько важных вопросов. Главные из них вопросы о сохранении столь

ценного, редкого и находящегося под угрозой исчезновения узкоэндемичного вида флоры Казахстана, каковым является *Rosa iliensis* Chrshan. из семейства *Rosaceae* Juss. Поэтому рекомендуем его ввести в интродукцию не только в Главном ботаническом саду, но и во всех региональных ботанических садах Республики Казахстан, тем самым обеспечить его сохранность. Второй, *Rosa iliensis* Chrshan. является ценным лекарственным, техническим, витаминоносным и эфиромасличным растением, в плодах которого содержится до 12,5% витамина С. Поэтому введение его в интродукцию, дает возможность создавать искусственную плантацию этого вида шиповника и тем самым обеспечить витаминную промышленности и фармацевтическую отрасли Республики Казахстан необходимым натуральным и дешевым сырьем. Третий, *Rosa iliensis* Chrshan. одновременно является ценным декоративным растением, цветет достаточно долго с первой декады мая до конца августа. Цветы в щитке имеют белую окраску с розоватыми оттенками, что придает растению особый декоративный облик. *Rosa iliensis* Chrshan. даже осенью в фазе плодоношения не теряет своего декоративного качества. Черные плоды его собранные в щитке придают растению своеобразную, неповторимую красоту.

Поэтому введя *Rosa iliensis* Chrshan. в интродукцию можно смело рекомендовать его для озеленения парков, скверов и аллеи только крупных городов Республиканского, и областного значения, но и небольших городов и районных центров, а также отдаленных населенных мест. Кроме того, в ботанических садах *Rosa iliensis* Chrshan. можно использовать в качестве маточника для скрещивания его с культурными сортами садовых роз с целью выведения новых декоративных сортов Казахстанских садовых роз.

Литература

- 1 Постановление Правительства Республики Казахстан от 21.06.2007 г. № 521.
- 2 Хржановский В. Г. Розы. Филогения и систематика. Спонтанные виды европейской части СССР, Крыма и Кавказа. Опыт и перспективы использования / Отв. ред. чл.-корр. Азерб. АН И. И. Карягин. – М.: Сов.наука, – 1958. – 497 с.
- 3 Хржановский В.Г. Шиповники Казахстана // Журнал. Народное хозяйство Казахстана. – 1941, № 5. – С.21-24.
- 4 Borissova Yu.S. Review of Saproxylis Beetles in Tugai Forests of Kazakhstan* Scientia agriculturae bohemia, 49, 2018 (2): 105–117.
- 5 Байзаков С.Б., Медведев А.Н., Исаков С.И., Муканов Б.М. Лесные культуры в Казахстане. Том 2. Лесная культура, лесные мелиорации. – Алматы. – Агроуниверситет. – 2007. – 288 с.
- 6 Флора Казахстана. Алма-Ата. – Т. 4. – 1961. – 288 с.
- 7 Тлеппаева А.М. Видовое разнообразие Жуков-самоцветов (Coleoptera, Vuprestidae) в пойменных местообитаниях рек Юго-Восточного Казахстана. Вестник КазНУ. Серия биологическая. – Алматы. – 2013. №1 (57). – С.108-117.

- 8 Аметов А., Чилдибаева А., Сулейменова Н., Елепбай Г. / Трансформация флоры и растительного покрова в нижнем течении реки Или (ниже Капчагайской ГЭС). / Вестник КазНУ. Серия экологическая. – Алматы. – 2018. №3 (56). – С. 115-124.
- 9 Чилдибаева А.Ж., Аметов А.А., Тыныбеков Б.М. / Характеристика некоторых растительных сообществ с участием узкоэндемичного вида *Rosa iliensis* Chrshap. в поймах реки Или. / Вестник КазНУ. Серия экологическая. – Алматы. – 2019. №1 (78). – С. 58-73.
- 10 Khosh-Khui, M., Teixeira da Silva, J.A. / In vitro culture of *Rosa* species. In: Teixeira da Silva, J.A. (Ed.). / Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology, Advances and Topical Issues, vol. 2. Global Science Books, Ltd., UK. – 2006. – pp.516–526.
- 11 Dole, J.M., Wilkins, H.F. / Floriculture Principles and Species. Prentice Hall, Inc., USA. – 2005. – p. 1023.
- 12 Salehi, H., Khosh-Khui, M. / A simple procedure for disinfection of 'BabyMasquerade' miniature rose explants. *Sci. Hortic.* 68. – 1997a. – 145–148.
- 13 Salehi, H., Khosh-Khui, M. / Effects of explant length and diameter on in vitro shoot growth and proliferation rate of miniature roses. *J. Hortic. Sci.* 72. – 1997b. – 673–676.
- 14 Щибря Г.И. Селекционные работы по шиповнику. / Г.И. Щибря, Е.М. Степанова, А.И. Каланова // Сб. науч. тр. / ВИЛР. М., 1974. - Вып. 4. - 316 с.
- 15 Dobрева A., Velcheva A., Bardarov A., Bardarov K.. // Chemical composition of different genotypes oil-bearing roses. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19 (No 6) 2013, 1213-1218 Agricultural Academy.
- 16 D. Bown, The royal horticultural society. *New encyclopedia of herbs and their uses*, Dorling Kindersley Limited, Penguin Company, London, 2002, p. 346–347.
- 17 Васильева О.Ю. Павлова Т.А. Методы изучения биоразнообразия декоративных растений при интродукции в Сибири // Сибирский экологический журнал. - 1997. - № 1. – С. 45-50.
- 18 Васильева О.Ю. Интродукция роз в Западной Сибири. Новосибирск: Наука. Сиб. предприятие РАН, 1999. – 184 с.
- 19 Franzen F.L., Richards N.S., Oliveira M.S.R., Backes F.A.A.L., Menegaes J.F., & Zago A.P. Caracterización y calidad nutricional de pétalos de flores ornamentales. *Acta Iguazú, Cascavel.* – 2016. – 5(3) – 58-70.
- 20 Prata G.G. Compostos bioativos e atividade antioxidante de pétalas de rosas de corte (master thesis). 2009. – Universidad Federal de Paraíba, João Pessoa, Brazil.
- 21 Васильева О.Ю. Особенности репродуктивной биологии шиповников при интродукции. В кн.: Проблемы репродуктивной биологии растений / Тезисы докладов симпозиума (Пермь, 4-6 июня 1996) / Перм. ун-т.- Пермь. – 1996. – С. 64-66.
- 22 Стрелец В.Д., Николаев Г.В., Чекунова З.В. Выращивание посадочного материала шиповника // Лесоводство, лесоразведение, лесные пользования.-М: ЦБНТИ Гослесхоза СССР, 1984.- В. 1.- 24 с.
- 23 Ильин В.С., Ильина Н.А. Шиповник // Сборник науч. тр. Южно-Уральского НИИ плодородия и картофелеводства.- Челябинск.-1996.- Т. 2.- С. 35-42.
- 24 Вайнагий И.В. К методике изучения семенной продуктивности растений // Бот. жур. – М., 1974. – Т. 59. № 6. – С. 826-831.
- 25 Методика исследований при интродукции лекарственных растений. – М., 1989. 39 с. (ЦБ НТИ, Сер. лекарственные растения. – 1984. – №4).
- 26 Энциклопедия растений / *Encyclopedia Botanica*. Национальное название растений. Россия. Агбина. – 2004.
- 27 *Modern Roses – 12.* – Shreveport: American Rose Society.- 2007. – 576 p.
- 28 Рубцова Е.Л., Чижанькова В.И. Интродукция *Rosa eglanteria* L., ее формы и сорта в Национальном Ботаническом саду им. Н.Н. Гришко НАН Украины. // Бюллетень Никитского ботанического сада (*Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gardens*), 2011, вып. 102, с. 90-93
- 29 Грудзинская Л.М., Арысбаева Р. Продуктивность коллекционных лекарственных растений семейства *Ranunculaceae* Juss. // Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. Серия биологическая и медицинская. № 2. – 2016. – С. 96-104.
- 30 D. Bown, The royal horticultural society. *New encyclopedia of herbs and their uses*, Dorling Kindersley Limited, Penguin Company, London, 2002, p. 346–347.

References

- 1 Postanovlenie Pravitel'stva Respubliki Kazahstan ot 21.06.2007 g. № 521. [Decree of the Government of the Republic of Kazakhstan dated June 21, 2007 № 521].
- 2 Khrzhanovsky V.G.(1958) *Rozy. Filogeniya i sistematika. Spontannyye vidy evropeyskoy chasti SSSR. Kryma i Kavkaza. Opyt i perspektivy ispolzovaniya* http://herba.msu.ru/shipunov/school/books/hrzhanovskij1958_rozy.djvu [Roses. Phylogeny and taxonomy. Spontaneous views of the European part of the USSR, Crimea and the Caucasus. Experience and prospects of use] / Ed. ed. Corr. Azerb. AN I. I. Karyagin. M.: Soviet science. 497 p.
- 3 Khrzhanovsky V.G. (1941) *Shipovniki Kazahstana*[Rosehip Trees Of Kazakhstan] // *Journal. National economy of Kazakhstan.* – № 5. – P. 21-24.
- 4 Borissova Yu.S. (2018) Review of Saproxyllic Beetles in Tugai Forests of Kazakhstan* *Scientia agriculturae bohemica*, 49, (2): 105–117.
- 5 Baizakov S.B., Medvedev A.N., Isakov S.I., Mukanov B.M. (2007) *Lesnye kul'tury v Kazahstane*. [Forest crops in Kazakhstan]. Volume 2. Forest culture, forest reclamation. – Алматы. – The agricultural University. – 288 p.

- 6 Flora kazakhstana(1961) [Flora of Kazakhstan] Alma-Ata. Vol. 4. 288 p.
- 7 Tleppaeva A.M. (2013) Vidovoe raznoobrazie ZHukov-samocvetov (Coleoptera, Buprestidae) v pojmyennyh mestoobitaniyah rek YUGo-Vostochnogo Kazakhstana. [Species diversity of gem beetles (Coleoptera, Buprestidae) in floodplain habitats of rivers of South-Eastern Kazakhstan]. KazNU Bulletin. Biology series. – Almaty. – №1 (57). – Pp. 108-117.
- 8 Ametov A., Childibaeva A., Suleymenova N., Elepbay G. (2018) / Transformaciya flory i rastitel'nogo pokrova v nizhnem techenii reki Ili (nizhe Kapchagajskoj GES). [Transformation of flora and vegetation cover in the lower reaches of the Ili river (below kapchagayskaya HPP)] / Al-Farabi Kazakh National University Eurasian Journal of Ecology. – Almaty. – №3 (56). – Pp. 115-124.
- 9 Childibayeva A.Zh., Ametov A.A., Tynybekov B.M. (2019) / Harakteristika nekotoryh rastitel'nyh soobshchestv s uchastiem uzkoendemichnogo vida Rosa iliensis Chrshan. v pojmah reki Ili. [Characteristics of some plant communities involving the narrow-endemic species Rosa iliensis Chrshan. in the floodplains of the Ili river] Al-Farabi Kazakh National University Experimental biology. – Almaty. – №1 (78). – Pp. 58-73.
- 10 Khosh-Khui, M., Teixeira da Silva, J.A. (2006) / In vitro culture of Rosa species. In: Teixeira da Silva, J.A. (Ed.). / Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology, Advances and Topical Issues, vol. 2. Global Science Books, Ltd., UK. – pp.516–526.
- 11 Dole, J.M., Wilkins, H.F. (2005) / Floriculture Principles and Species. Prentice Hall, Inc., USA. – p. 1023.
- 12 Salehi, H., Khosh-Khui, M. (1997 a.) / A simple procedure for disinfection of 'BabyMasquerade' miniature rose explants. Sci. Hortic. 68. – pp. 145–148.
- 13 Salehi, H., Khosh-Khui, M. (1997 b.) / Effects of explant length and diameter on in vitro shoot growth and proliferation rate of miniature roses. J. Hortic. Sci. 72.- pp.673–676.
- 14 Schibrya G.I. (1974) Seleksionnyye raboty po shipovniku [Seed works on dogrose] G.I. Shibrya, EM Stepanova, A.I. Kalanova. Sat. scientific tr. WILR. M. Vol. 4. 316 p.
- 15 Dobрева A., Velcheva A., Bardarov A., Bardarov K.. (2013) Chemical composition of different genotypes oil-bearing roses. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 19 (No 6). – pp.1213-1218 Agricultural Academy.
- 16 D. Bown. (2002) The royal horticultural society. New encyclopedia of herbs and their uses, Dorling Kindersley Limited, Penguin Company, – London, – p. 346–347.
- 17 Vasileva O. Yu. Pavlova T. A. (1997) Metody izucheniya bioraznoobraziya dekorativnyh rastenij pri introdukcii v Sibiri [Methods for studying the biodiversity of ornamental plants introduced in Siberia] Siberian ecological journal, № 1. – Pp. 45-50.
- 18 Vasileva O. Yu. (1999) Introdukcija roz v Zapadnoj Sibiri. [Introduction of roses in Western Siberia] Novosibirsk: Nauka. Sib. enterprise RAS. – 184 p.
- 19 Franzen F.L., Richards N.S., Oliveira M.S.R., Backes F.A.A.L., Menegaes J.F., & Zago A.P. (2016) Caracterización y calidad nutricional de pétalos de flores ornamentales. Acta Iguazú, Cascavel. – 5(3) – 58-70.
- 20 Prata G.G. (2009) Compostos bioativos e atividade antioxidante de pétalas de rosas de corte (master thesis).- Universidad Federal de Paraíba, João Pessoa, Brazil.
- 21 Vasileva O. Yu. (1996) Osobennosti reproduktivnoj biologii shipovnikov pri introdukcii [Features of the reproductive biology of rosehip during introduction] In: Problems of plant reproductive biology / Abstracts of the Symposium (Perm, June 4-6, 1996) / Perm. UN-t.- Perm. – Pp. 64-66.
- 22 Strelets V.D., Nikolaev G.V., Chekunova Z.V. (1984) Vyrashchivanie posadochnogo materiala shipovnika [The growing of planting material of rose hips] // Forestry, afforestation, forest use. – M: Central research Institute of state Forestry of the USSR. – V. 1. – 24 p.
- 23 Ilyin V.C., Ilyina N.A. (1996) Shipovnik [Rosehip] // Collection of scientific Tr. of the South Ural research Institute of fruit and vegetable growing and potato growing. Chelyabinsk. – Vol. 2.- Pp. 35-42.
- 24 Vainagiy I.V. (1974) K metodike izucheniya semennoj produktivnosti rastenij [To the method of studying the seed productivity of plants] // Bot. Zhur. – M. – Vol. 59. No. 6. – P. 826-831.
- 25 Metodika issledovanij pri introdukcii lekarstvennyh rastenij. (1989) [Methods of research in the introduction of medicinal plants]. – M. – 39 p. (Central Bank of NTI, Ser.drug plants. – 1984. – №4).
- 26 Enciklopediya rastenij (2004) [Encyclopedia of plants] / Encyclopedia Botanica. National name of plants. Russia. Agbina. – P. 523-524.
- 27 Modern Roses – 12. (2007) Shreveport: American Rose Society.- 576 p.
- 28 Rubtsova E.L., Chizhankova V.I. (2011) Introdukcija Rosa eglanteria L., ee formy i sortov v Nacional'nom Botanicheskom sadu im. N.N. Grishko NAN Ukrainy [Introduction of Rosa eglanteria L., its forms and varieties in the national Botanical garden named after N. N. Grishko of the NAS of Ukraine]. // Bulletin of the state Nikitsky Botanical Gardens. – Issue 102, – Pp. 90-93
- 29 Grudzinskaya L. M., Arysbaeva R. (2016) Produktivnost' kollekcionnyh lekarstvennyh rastenij semejstva Ranunculaceae Juss. [Productivity of collection medicinal plants of the family Ranunculaceae Juss.]. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Biological and medical series. No. 2. – Pp. 96-104.
- 30 D. Bown, The royal horticultural society. New encyclopedia of herbs and their uses, Dorling Kindersley Limited, Penguin Company, London, 2002, p. 346–347.

2-бөлім
БИОТЕХНОЛОГИЯ

Section 2
BIOTECHNOLOGY

Раздел 2
БИОТЕХНОЛОГИЯ

А.У. Исаева¹, Р. Панкиевич², А.А. Отарбекова^{1*}

¹М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университеті,
Қазақстан, Шымкент қ.

²Познаньдағы Адам Мицкевич университеті, Польша, Познань қ.,
*e-mail: aina_756@mail.ru

ОҢТҮСТІК ӨҢІРІНДЕГІ ҚҰРАМЫНДА ФОСФОРЫ БАР ҚАЛДЫҚТАРЫНЫҢ МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ АНАЛИЗИ

Мақалада Қазақстанның оңтүстік өңіріндегі бұрынғы Шымкент фосфор зауытының техногендік қалдықтарының шламдары мен шлактарына физико-химиялық және микробиологиялық сандық-сапалық сипаттамалар берілді. Зерттеу барысында көрсетілгендей, фосфор қалдықтарының шламдары мен шлактарының рН – 6-7, яғни әлсіз сілтілікке ие, құрамы минералданған: SiO₂ кварц, CaCO₃ – кальцит, Fe₂O₃ – гематит болатыны анықталыны. Сонымен қатар, микробиологиялық зерттеу барысында анықталғандай құрамында фосфор қалдығы бар шламдар мен шлактардың аэробты микроорганизмдері айтарлықтай экожүйелер үшін экологиялық маңызды, яғни белсенді микромицеттер (5,4 ± 0,5) × 10⁴ КОЕ/г, гетеротрофтар – (3,8 ± 0,3) × 10⁴ КОЕ/г, нитрификаторлар 1 фаза – 10⁸ КОЕ/г., азотфиксирлеуші бактериялар 90 % өсу, актиномицеттер – 10⁵ КОЕ/г, энтеробактериялар – 10⁷ КОЕ/г. Анаэробтар шлак сынамаларында – 3,8 × 10⁴ КТБ/мл, ал шлам сынамаларында – 0,50 × 10² КТБ/мл, яғни анаэробты микроорганизмдер саны аэробтарға қарағанда төмен.

Жұмыс барысында Қазақстанның оңтүстік өңірінде ірі көлемде жатқан фосфор қалдықтарының құрамынан 73 микроорганизм культуралары бөлініп алынды, бөлініп алынған микроорганизмдер түрлері өндірістік қалдық құрамынан бағалы және сирек кездесетін микроорганизмдерді бөліп алу технологиясын құру үшін перспективті микроорганизмдер ретінде оларды одан әрі зерттеу қазіргі таңдағы маңызды талаптардың бір бағыты болып табылады.

Түйін сөздер: микроорганизмдер, биосілтісіздеу, бактериялар, құрамында фосфоры бар қалдықтар, элемент.

A.U. Issayeva¹, Radoslaw Pankiewicz², A.A. Otarbekova^{1*}

¹M. Auezov South Kazakhstan State University, Kazakhstan, Shymkent

²Adam Mickiewicz University in Poznań, Poland, Poznań,

*e-mail: aina_756@mail.ru

Microbiological analysis of phosphorus-containing waste in the southern region

The article presents the physical, chemical and microbiological quantitative and qualitative characteristics of phosphorus-containing man-made waste (slags and sludges) of the former Shymkent phosphorus plant in the South of Kazakhstan. The study found that slurries and slags of phosphorus-containing waste have a pH of 6-7,5 and such components as SiO₂-quartz, CaCO₃ –calcite, and Fe₂O₃ –hematite predominate in the composition of surface eroded waste. The following groups of microorganisms were identified in the composition of phosphorus waste: micromycetes in quantity (5,4 ± 0,5) × 10⁴ CFU/g, heterotrophs-in the amount of –(3,8 ± 0,3) × 10⁴ CFU/g, phase 1 nitrifiers -10⁸ CFU / g, nitrogen-fixing bacteria-in quantity 90 % fouling of lumps, actinomycetes-in quantity 10⁵ CFU/g, enterobacteria-in quantity 10⁷ CFU/g. Anaerobes in slag samples -3, 8 × 10⁴ CFU / ml, and in sludge samples -0, 50 × 10² CFU / ml, that is, the number of anaerobic microorganisms is less than aerobes. Thionic and sulfur-oxidizing bacteria were not detected in the phosphorus-containing waste. As a result of screening work, 73 isolates of microorganisms that are promising for biogeotechnological purposes were isolated.

Key word: microorganisms, bio-leaching, phosphorus-containing waste, slag, sludge.

А.У. Исаева¹, Р. Панкиевич¹, А.А. Отарбекова*²

¹Южно-Казахстанского государственного университета М. Ауэзова, Казахстан, г. Шымкент

²Университет Адама Мицкевича в Познани, Польша, г. Познань,

*e-mail: aina_756@mail.ru

Микробиологический анализ фосфорсодержащих отходов южного региона

В статье даны физико-химические и микробиологические количественно-качественные характеристики фосфорсодержащих техногенных отходов (шлака и шлама) бывшего Шымкентского фосфорного завода на юге Казахстана. В ходе исследования установлено, что шламы и шлаки фосфорсодержащих отходов имеют pH – 6–7,5, а в составе поверхностных эрозированных отходов преобладают такие компоненты как SiO₂ – кварц, CaCO₃ – кальцит, Fe₂O₃ – гематит. В составе фосфорных отходов выявлены следующие группы микроорганизмов: микромицеты – (5,4±0,5)×10 КОЕ/г, гетеротрофы –(3,8 ±0,3) ×10⁴ КОЕ/г, нитрификаторы 1 фазы – 10⁸ КОЕ/г, азотфиксирующие бактерии –90% обрастания комочков, актиномицеты – 10⁵ КОЕ/г, энтеробактерии – 10⁷КОЕ/г. Анаэробы в шлаковых пробах – 3, 8x10⁴ КОЕ/мл, а в пробах шлама – 0, 50x10² КОЕ / мл, то есть количество анаэробных микроорганизмов меньше, чем аэробы. Тионовые и сероокисляющие бактерии в фосфорсодержащих отходах не выявлены. В результате скрининговых работ выделено 73 изолята микроорганизмов, перспективных для биоготехнологических целей.

Ключевые слова: микроорганизмы, биовыщелачивание, фосфорсодержащие отходы, шлак, шлам.

Кіріспе

Қазақстандағы кен өндіру, қазба байлықтарын игеру жұмыстары қарқынды жұмыс жасап жатқан салалардың бірі, және заман талабы да соны қажет етеді. Қазіргі таңда елімізде ірі көлемдегі жинақталған өндірістік қалдықтар ошағы өте көп, олардың құрамында бағалы компоненттердің кездесетін анық, және ол көптеген зерттеулер арқылы да анықталған. Қалдықтардың құрамында қалып қойған бағалы компоненттерді игеруде биотехнологиялық бағыттағы жаңа технологияны меңгеруді және оны дамытуды қажет етеді.

Қазақстан кен байлықтарын өндіру көлемі бойынша батыс, араб, қытай және басқа да аса бай елдермен бір қатарда тұр және жиырма ірі әлемдік өндірушілердің қатарына кіреді. Кен және кендер қалдықтарындағы жинақталған қабаттарының биоценозын құрайтын микроорганизмдер қауымдастығы органикалық заттар мен биогенді элементтердің айналу процесінде басты звено болып табылатыны белгілі, бірақ айналым процесінде микроорганизмдердің метал иондарына төзімділігін туралы ескермеуге болмайды. Көптеген биосілтісиздендіру саласы бойынша зерттеулерге әдеби шолу жасасақ мысалы, қазақстандық ғалым К.М. Камаловтың ғылыми еңбектерінде (1990 ж.) құрамында күкірт қосылған ортада өсірілген бактериялардың жасушалары кадмий, натрий, мырыш, кальций және темірдің жоғары концен-

трациясына сезімталдылығы байқалмайтығы айтылады, темір никель мен марганецтің аз мөлшердегі концентрациясында тотығады, бірақ кобальт, мыс, күміс, арсенит, нитраттар, хлороидтар және тиосульфаттар организмнің тіршілік әрекетін тежейді, яғни төзімсіз екендігі көрсетілген. Mn, Co, Cu тұздары қосылған ортада тек инокуляттың көлемін ұлғайтқан жағдайда *Thiobacillus ferrooxidans* бактериясының жылдам өсуі байқалатыны айтылады. *T. ferrooxidans* бактериясының әртүрлі штамдары Al, Zn, Cu, Co, Ni элементтерінің мөлшері 10 г\л-ға дейін төзімді келген. 965 мг\л концентрациясындағы мышьяк пен уранның 1 г\л –не дейінгі мөлшері бактериялар тіршілігі үшін уытсыз екендігі анықталған.

R.V. Bhappu өз әріптестерімен бірге микроорганизмдер молибденге өте сезімтал келетіндігін көрсетіп,оның өте төмен конентрациясының (9-12 мг\л) өзі бактериялар тіршілігін жоя алатындығын анықтаған [Bhappu R.V., et al.1965].

Т.А. Пивоварова, Е.Д. Коробушкина және т.б. (1986) орта құрамында Au (III) 0,166 г / л-ге болғанға дейін *T. ferrooxidans* бактерияларының тыныс алуы қалыпты болатындығын айтқан, бірақ оның концентрациясы артқан сайын бактериялардың оттегіні тұтыну жылдамдығы төмендеп, тыныс алу тізбегіндегі ферменттердің белсенділігі бәсеңдегенін өз еңбектерінде көрсеткен. Бұл факт микроорганизмдердің барлығы дерлік метал иондарына бірдей төзімді келе

бермейтімен түсіндіруге болады, олардың жар-тысы экстремалды жағдайда қырылуы мүмкін [Kamalov M. R.1990., Chunsheng Qiu et al. 2020, Wasim S., et al.2019].

Ресейлік Д.В. Четверикованың зерттеулерінде алғаш рет *Acidithiobacillus ferrooxidans* пен *Ferroplasma sp.* микроорганизмдер дақылдарының көмегімен перколяциянды қондырғыларда мысты-мырыш кендерін байыту қалдықтарынан мырыш пен мысты алудың биологиялық технологиясын ұсынған. Олардың зерттеулерінде бактериялар мырыш, мыс, никель, кобальт және марганец иондарына жоғары тұрақтылыққа ие екендігі айтылған [Chetverikova D. V.2013., Mäkinen J. et al. 2019].

Көптеген биосілткісідендіру бойынша әдеби деректердегі зерттеулерде биосілткісідендіру үрдісіне тек тион бактериялары ғана қатысып қоймайды, бұл процесте микроорганизмдер консорциумы, яғни микроорганизмдер бірлесіп қатысатыны анықталған.

Әдеби көздердегі деректер бойынша микроорганизмдер консорциумы ретінде *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, *Acidithiobacillus caldus* және *Acidiplasma sp.*, *Acidithiobacillus ferrivorans*, *Leptospirillum ferriphilum* инокуляттарын қолдану арқылы мыс пен мырыштың бөлініп алынуы 200 тәулікте сұйық ерітіндіде 67,5 и 53,9% -ға өскен [Bulaev A.G. et al. 2018, NING Zh., et al. 2019].

Қалдықтар құрамына металдарды биосілткісідендіруде микромицетті саңырауқұлақтарды, оның ішінде *Aspergillus niger* саңырауқұлағын пайдалануда көптеген зерттеулер кездеседі, мысалы кейбір зерттеулерде *Aspergillus niger* микромицетін қолдануда 7 тәулік ішінде V-ді 100%-ға Ni 33% -ға бөліп шығарған, сонымен қатар ауылшаруашылық заттарының қалдықтарын қайта өңдеп биосілткісідендіруде *Aspergillus niger* K (85%), Cl (90%), Mg(60%), and P (70%) элементтерін қайта бөліп шығару қарқындылығын көрсеткен [Payam Rasoulnia, Seyyed Mohammad Mousavi. 2016, Ning Zhanga et al.2019].

Биологиялық сілткісідендіруде *Herbaspirillum sp.* диазотрофты бактерияларын қолданудың тиімділігін, бактерияның биологиялық потенциалы мен төзімділік қабілеті жоғары екендігін көрсетеді, шахталы топырақтардан бөліп шығарғанын зерттеулерден көруге болады [Govarathanan M. et al., 2014].

Сонымен қатар биосілткісідендіруде хемолитотрофты *Acidithiobacillus sp.*, гетеротрофты бактериялар *Acidophilum sp.*,

Pseudomonas sp., *Acetobacter sp.*, *Arthrobacter sp.* және *Bacillus sp.* қолданылады. Сондай-ақ, *Aspergillus* және *Penicillium* саңырауқұлақтары органикалық қышқылдарды өндіруде өзінің жоғары қабілеттілігінің арқасында металдарды биосілткілеуде үлкен қарқындылық көрсеткен, сонымен қатар қазақстандық А.У. Исаева өз әріптестерімен бірге жасаған жұмыстарында, биосілткісідендіру бойынша зерттеулерінде *Nitrosomonas europaeae* нитрифицирлеуші бактерияларды қолданып жұмыс жүргізген көруге болады [Govarathanan M. et al.,2014; T. J. Xu and Y. P. Ting., 2009, A. U. Issayeva et al. 2017., A. U. Issayeva et al. №29154.2013].

Мысалы Ресейлік зерттеушілердің мәліметінше биосілткісідендіру технологиясында микроорганизмдер қауымдастығының сандық арақатынасының маңыздылығы туралы деректер келтіреді [Rogatykh S.V. et al., 2013, Rogatykh S.V. 2018]. Осыған байланысты біздің зерттеулеріміздің мақсаттарының бірі Қазақстанның оңтүстік өңіріндегі жұмысы тоқтатылған Шымкент фосфор зауыты өндірісінің құрамында фосфоры бар техногендік қалдықтарының (шламдар мен шлактар) физика-химиялық және микробиологиялық көрсеткіштерін зерттеу болды.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу материалы ретінде құрамында фосфоры бар қалдықтар (шламдар мен шлактар) алынды.

Физико-химиялық талдаулар, титриметриялық және колориметриялық, рентген-дифрактометриялық әдістер, расстрлы-электронды микроскопты пайдалану арқылы М. Әуезов атындағы ОҚМУ-дың «ИРЛИП» Республикалық ғылыми-өндірістік зертханасының МемСТ ISO/IEC 17025-2019 талаптарына сәйкестікке аккредиттелген базасында және аккредиттеу аттестаты KZ.И.16.1049 «САПА» химиялық сынақ зертханаларында жүргізілді.

Зерттеуге алынған сынамалар әртүрлі тереңдіктен қазып алынды және техногендік қалдықтар жиналған орынның 4-жерінен (А; В; С; D) іріктеліп алынды. Сынамалар арнайы полиэтиленді қапшықтарға 10 кг-нан 4 горизонттардан (0-10;10-20;20-30;30-50 м;) әртүрлі тереңдіктерден алынды, әкелінген сынамаларға химиялық және микробиологиялық талдаулар жүргізілді. Сынамаларды дайындаудың барлық процедуралары стерильді жабдықтармен асептикалық жағдайларды сақтай отырып жүргізілді.

Жұмыста микроорганизмдерді зерттеудің дәстүрлі микробиологиялық әдістері қолданылды: аэробты және анаэробты микроорганизмдерді өсіруде, олардың жалпы санын, титрін анықтауда элективты қоректік орталар пайдаланылды, микробиологиялық препараттарды дайындауда микроскопиялық әдістер пайдаланылды.

Қоректік орталарды дайындауда әртүрлі мөлшердегі, 500 мл, 1000 мл көлемдегі Эрленмейер колбаларына келесі қоректік орталар дайындалды:

Микромицетті саңыраулақтар үшін агарланған Чапек қоректік ортасына г/л: сахароза -30,0 немесе глюкоза - 20,0; NaNO_3 -2,0; K_2HPO_4 - 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5; KCl - 0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,1.

Acidithiobacillus ferrooxidans және *Leptospirillum* бактериялары үшін Сильвериана-Люндгрена 9К сұйық қоректік ортасы: (г/л): 1-ші ерітінді - 700 мл дистилденген суға (NH_4)₂ SO_4 - 3,0; KCl - 0,1; K_2HPO_4 - 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,01; 2-ерітінді - 300 мл дистилденген суға: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 44,2 г салып, ерітіп, орта рН-ін 10 Н H_2SO_4 -н 2,0-ге түсірдік. Екі ерітіндіні жекеley, 1-ші ерітіндіні 1 атм, 2-ші ерітіндіні 0,5 атм қысымда стерилдедік. Екі ерітіндіні араластырып, 10-еселік сұйылту әдісі арқылы 20 мл пробиркаларға бактерияларды ектік.

Маннинга қатты қоректік ортасы (Теміртотықтырушы бактериялар үшін):

Ерітінді А: 300 мл дистилденген суға 33,4 г/л $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ салып ерітеміз, рН 2,5 (6М H_2SO_4) түсіріп, сүзу арқылы зарарсыздандырдық.

Ерітінді Б: 550 мл дистилдеген суға: (NH_4)₂ SO_4 6 г, KCl -0,2 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -1,0 г, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,02 г; рН -3,0.

Ерітінді В: 150 мл дистилденген суға 7 г тазартылған агарды L28 қосып, 15 мин көлемінде тұнықтырып, 15 мин 121°C температурада автоклавта стерилдедік.

Б және В ерітінділерін араластырып, бөлме температурасында 5 минут бойы салқындатып, оған А ерітіндісін араластырып, қостық. Дайын болған қоректік ортаны залалсыздандырылған диаметрі 100 мм және биіктігі 15 мм (90x18мм) Петри табақшаларына құйдық. Сұйық қоректік орталарға микроорганизмдерді егуде он еселік сұйылты әдісі арқылы 16 x 152 мм, көлемі 20 мл болатын пробиркаларға ектік.

Thiobacillus thiooxidans бактериялары үшін Ваксман сұйық қоректік ортасы (1000 мл дистилдеген суға): (NH_4)₂ SO_4 - 0,2 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,5 г; KH_2PO_4 - 3,0; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,25 г; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,0001г. S° -10г. рН-3,0.

Ваксман тығыз қоректік ортасы *T.thiooxidans* үшін: (г/л) дистилденген 1 литр суға: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,5; $\text{NH}_4 \text{Cl}$ - 0,1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,1; K_2HPO_4 - 3,0. Агар-агар 20 г; рН 5,0.

Нитрификаторлы бактериялар *Nitrosomonas* үшін Виноградский I фазалы қоректік ортасына: глюкоза - 20,0; K_2HPO_4 - 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5; CaCO_3 - 20,0; ашытқы экстрактісі-10; раствор микроэлементов- 1,0 мл.

Денитрификаторлы бактериялар үшін Виноградский II фаза қоректік ортасы дайындалды.

Азоттұтқыш бактериялар үшін Эшби қоректік ортасы: Маннит немесе глюкоза - 20,0г; K_2HPO_4 - 0,2г; NaCl - 0,2г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,2г; K_2 - 0,1г; CaCO_3 - 5г; дистилденген су - 1 литр.

Гетеротрофты бактериялар үшін дайын ЕПА ортасын пайландық.

Анаэробты микроорганизмдер үшін Постгейта қоректік ортасы дайындалды.

Аэробты және анаэробты микроорганизмдер әртүрлі орта жағдайларында өсірілді. Аэробты микроорганизмдер 37° С температурада 24; 4; 72 сағат ішінде инкубациялық кезеңде арнайы ТС- 1/80 СПУ ТУ 9452-002-00141798-97 (Ресей) маркалы термостатта өсірілді, ал анаэробты микроорганизмдер арнайы түтікшелерде (30см) егілді, резиналы тығынмен ауа өткізілмей герметикалық жағдайда тығыз жабылған.

Микроорганизмдердің таза дақылдарын егуде Кох әдісі, он еселік сұйылту әдісі, сиретіп егу әдістері пайдаланылды және микроорганизмдерді микроскопиялық зерттеулер МСХ100 № 3-101752 Micros (Austria), МикМед-5 (Ресей) микроскопында жасалынды.

Микробиологиялық зерттеулер жүргізуде қолданылған лабораториялық ыдыстар мен құрал-жабдықтар, колбалар, Петри табақшалары, микробиологиялық пипеткалар, ілмешектер, шпательдер, т.б. қажетті ыдыс-аяқтарды, қоректік орталарды залалсыздандыруда СПГА-100-1-НН № 141 маркалы автоклав, ГП-20СПУ №14113 (Ресей) маркалы стерилизатор және ШС-80 ТУ 92-00243346-01-92 (Беларус) кептіргіш шкафы қолданылды.

Қоректік орталарды дайындауда пайдаланған дисстелген суларды АЭ-10МО ТУ 9452.003.07606036-96 электрлі аквадистиллятор құрылғысы пайдаланылды

Қоректік орталарды дайындау барысында «Scout-Pro» маркалы электронды таразысы пайдаланылды.

1-суретте дайындалған қоректік орталар топтамасы көрсетілген. Қоректік орталарды тоңазытқыштарда сақтадық.



1-сурет – Микробиологиялық зерттеулер жүргізуде дайындалған қоректік орталар топтамасы

Фосфор қалдықтарына физико-химиялық зерттеулер Varian-ProStar (Голландия) тиімділігі жоғары сұйықтықтық хроматографында физико-химиялық талдаулары жүргізілді.

Қалдықтардың элементті құрамын анықтау INCA Energy-350 (OXFORD Instruments, Ұлыбритания) энергодисперсті микроталдау жүйесі және HKL Basic (OXFORD Instruments, Ұлыбритания) поликристалды объектілерді құрылымдық талдау жүйесі, JEOL (Жапония) фирмасының JSM-6490LV растрлі электрондық микроскопында, сондай-ақ атомды-адсорбционды AAnalyst 800 (Perkin-Elmer) спектрометрінде МемСТ ҚР 17294-2-2006 (ISO17294-2-2006 [STS R ISO 7523-2016. STS 33208-2014. STS 28353.3-2017. STS R 57655-2017. FER F 16.1: 2.2: 2.3: 3.36-02. FER F 14.1: 2: 4.140-98. Atomic absorption spectroscopy: objects of analysis, fulfilled standards. January, 2019.] сәйкес жүргізілді.

Fe^{+2} u Fe^{+3} темірді анықтауда трилонометриялық титрлеу әдісі қолданылды, ерітінді құрамындағы темірдің мөлшері 0,1-10 г/л. құрады [Reznikov A.A. 1970].

Қалдықтардың минералогиялық құрамын анықтауда рентгенодифрактометрлі талдаулар автоматтандырылған ДРОН-4 және Cu K α – сәулелену, β -фильтрлі дифрактометрінде жүргізілді [20].

Микробиологиялық зерттеулер жүргізуде МемСТ Р ЕН 12297-2012, талаптарына сәйкес М. Әуезов атындағы ОКМУ-дың «БжЭ» ҒЗИ микробиологиялық зертханасында жүргізілді.

Statistical analysis of the results. Эксперименттер $0,95 > P > 0,80$ деңгейінде стандартты ауытқуды есептей отырып, бес рет қайталаумен өткізілді. Статистикалық қондеу “Пентиум-IV” ДК-де *Microsoft Excel* статистикалық бағдарламалық

пакетін пайдалану арқылы жүргізілді. Өлшеу саны мен жалпы диагностикалық топ бойынша орташа арифметикалық [Schabenberger O., Pierce F.J.2002].

Зерттеу нәтижелері мен оның талдаулары

Бұрынғы Шымкент фосфор зауыты Қазақстан Республикасының ірі мегаполисі Шымкент қаласының оңтүстік шығысынан 1.42015’42.92”, солтүстігінен 1.69043’15.57” қашықтықта, теңіз деңгейінен 619 м биікте орналасқан. Жалпы көлемі 50 млн т. құрайтын қалдық 16,0 гектар жерді қамтып жатыр.

Кен құрамынан, аз байытылған өндірістік қалдықтардың құрамынан метал қалдықтарын қайта кәдеге пайдалану процесі үлкен биологиялық процестерге негізделген, ол табиғи процестердің негізі үлкен биоценозының құрамды бөліктерінің бірі микроорганизмдердің тіршілік әрекетінің салдарынан туындайды, сол микробиоценоздың табиғи ареалының заңдылығын зерттеп, микроорганизмдердің моно культурасының ерекшелігін зерттеуді меңгеру үлкен биотехнологиялық технологияны игеруге мүмкіндік береді. Кез келген өндірісте микробиологиялық әдістерді қолданудың тиімділігін көрсететін негізгі фактор микроорганизмдердің тіршілік әрекеті мен олардың белсенділігі болып табылады. Әсіресе өндірістік техногендік қалдықтардың құрамында қалып қойған бағалы компоненттерді қайта игеру ондағы қалыптасқан биоценоздың болуының арқасында өтеді.

Кен қалдығының немесе кен орындарының терең қабаттарының горизонттарында сырттан келетін микроорганизмдермен қатар абorigендік

микрoфлораның болатындығы белгілі, алайда барлық микрoорганизмдер қабаттық жағдайларға төтеп бере алмайды, олардың бір бөлігі қабаттың экстремалды жағдайларында летальды жағдайға ұшырайды.

Осы жағдайларды ескере отырып біздің зерттеулерімізде әртүрлі тереңдіктерден (0-10 см; 10-20 см; 20-30 см; 30-40 см; 40-50 см) алынған құрамында фосфоры қалдықтары бар

шламдар мен шлактардың сынамларының алдымен физикалық-химиялық сипаттамасы жасалынды: Құрамында фосфоры бар қалдықтарды 2-ші суретте көрсетілгендей 4 шартты топқа бөлуге болады: А – ашық түсті борпылдақ, В – сұр-қара түсті қопсытылған, С – қою қара тығыз, D – Ашық түсті тығыз (2-сурет). Құрамында фосфор қалдығы бар шлактардың рН көрсеткіші – 6-7, шламдардың рН көрсеткіші 7,0 тең болды.



2-сурет – Құрамында фосфоры бар техногендік қалдықтардың шлактары мен шламдары

Біздің ғылыми-зерттеу жұмыстарымызға дейін жүргізілген зерттеулерден белгілі болғандай құрамында фосфор қалдықтары бар шламдар мен шлактардың фракциялық құрамы зерттелген. Қалдықтардың түйіршіктелген фракциялары басымдылыққа ие, түйіршіктелген фракциялардың көптеп қалыптасуына шикізатты қайта өңдеудің технологиялық параметрлері ғана емес, сондай-ақ, ауа-райының климаттық жағдайлары мен сақтаудың уақытша сипаттамалары да әсер етеді. Қалдық жиналған қойма алаңдарындағы үйінділердегі түйіршіктелген шлактар көлемі 10,0-18,0 см шамасында, кейде көлемі 30,0 см дейінгі үлгілер кездеседі [Issayeva A.U. et al. 2017].

Құрамында фосфор қалдығы бар шламдар мен шлактар әртүрлі тұздылыққа, минералдық құрамға және сілтілік жағдайға ие және олардың

геологиялық жасы, пайдаланылған горизонттың стратиграфиясына және т.б. жағдайларға байланысты құрамы, минералдануі жүреді. Фосфор қалдықтарының рентген-структура дифрактометриялық талдаулар нәтижесінде шлактар мен шламдардың минералдық құрамында SiO_2 кварц, CaCO_3 – кальцит, Fe_2O_3 – гематит болатыны анықталды.

Әрі қарай фосфор қалдықтарының шламдары мен шлактарының үлгілеріне микробиологиялық зерттеулер жүргізілді. Қалдық қабаттарының микробиологиялық сандық сипаттамасы аэробты және анаэробты микрoорганизмдердің құрамын анықтауды қамтыды. 1-кестеде құрамында фосфоры бар шламдар мен шлактардағы аэробты және анаэробты микрoорганизмдерінің құрамын зерттеу нәтижелері берілген.

1-кесте – Құрамында фосфоры бар шламдар мен шлактардағы ЖМС, КТБ\мл

Үлгілер	Микрoорганизмдердің жалпы саны, КТБ\мл	
	Аэробтар	Анаэробтар
Құрамында фосфоры бар шламдар	$2,5 \times 10^7$ КТБ/мл	$3,8 \times 10^4$ КТБ/мл,
Құрамында фосфоры бар шлактар	$80,00 \times 10^6$ КТБ/мл	$0,50 \times 10^2$ КТБ/мл,

Құрамында фосфоры бар қалдықтардың микроорганизмдерінің жалпы санын зерттеу барысында аэробты микроорганизмдердің жалпы саны, тиісінше $80,00 \times 10^6$ КТБ/мл және $2,5 \times 10^7$ КТБ/мл құрайтыны анықталды.

Құрамында фосфоры бар шламдар қабаттарындағы аэробты микроорганизмдер жасушаларының саны құрамында фосфоры бар шлактар қабаттарының қалдықтарынан төмен, ал анаэробтардың мөлшері кері корреляция байқалады, шлак сынамаларында $-3,8 \times 10^4$ КТБ/мл, ал шлам сынамаларында анаэробтардың саны $-0,50 \times 10^2$ КТБ/мл, яғни анаэробты микроорганизмдер саны аэробтарға қарағанда төмен.

Заттардың айналу процестерінде (айналым) экологиялық маңызға тек белсенді өмір сүруге

қабілетті микроорганизмдер ғана ие болады. Бактериялар үшін санның шартты өлшемі ретінде 1 г субстратқа кемінде 1 млн. шама қабылданды, яғни мұндай санда ғана олар елеулі экологиялық маңызға ие болуы мүмкін. Әрбір экологиялық фактор (температура, қоректік заттардың саны, макро- және микроэлементтердің шоғырлануы) белгілі бір сандық көрсеткіштермен сипатталады, атап айтқанда, оптимум деп аталатын фактордың қолайлы дозасы және организмдер қатты сезінетін фактордың қолайсыз дозасы [Kakareka, E. V. et al. 2017].

Бөлініп алынған гетеротрофты микроорганизмдердің таза культураларына толық морфологиялық, таксономиялық сипаттамалары [Don J. Brenner et al. 2004, John G. Holt et al. 1997] 2-кестеде келтірілген.

2-кесте – Гетеротрофты микроорганизмдердің таксономиялық сипаттамасы

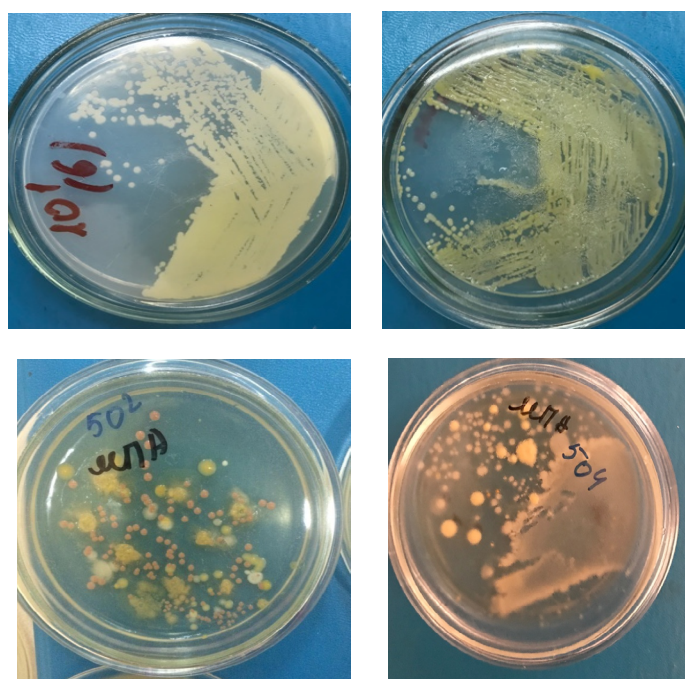
Үлгілер	Штамм	Колониялардың макроморфологиялық сипаттамасы	микроморфологиясы
Құрамында фосфоры бар шлактар (0-10 см)	<i>AIO</i>	Колониялары домалақ, ақшыл-сары крем түсті, беті тегіс, шеттері тегіс, жылтыр, консистенциясы жұмсақ	Клетка пішіндері таяқша тәрізді ірі, жекелей, дара орналасқан грам оң бациллулар
	<i>AIP</i>	Колониялары домалақ, ақшыл сары түсті, консистенциясы жұмсақ	Клеткалары таяқша тәрізді, жекелей орналасқан, грам оң бациллулар
	<i>IA10</i>	Колониялары домалақ, сарғыш-ақшыл түсті, беті тегіс, шеттері тегіс, жылтыр, консистенциясы жұмсақ	Клеткалары жекелей және бір-біріне жабысқан ірі таяқшалар, қозғалғыш
Құрамында фосфоры бар шлактар (20-30 см)	<i>ABF</i>	Колонияларының түсі сары түсті, жылтыр, консистенциясы жұмсақ, шеттері тегіс	Клеткалары диплококкалар, тетракоккалар
	<i>FAI</i>	Колонияларының түсі қоңыр, консистенциясы паста тәрізді	клеткалары жекелей, майда таяқшалар, грам оң бациллулар
	<i>BIOM 1</i>	Колониялары дөңгелек, ақшыл сары сүт тәріздес, анық айқындалған ортасымен. диаметрі 2мм және одан кіші, шеттері тегіс емес	Грамм оң, клетка пішіндері коккалар, қысқа тізбектер түрінде әртүрлі болып орналасқан
Құрамында фосфоры бар шлактар (40-50 см)	<i>IOFB50</i>	Колониялары дөңгелек пішінді, крем тәрізді сарғыш түсті, жұмсақ, шеттері иректелген	Клеткалары бір-біріне жабысқан, кокка пішінді, диплококк түрінде де кездеседі, қозғалыссыз
	<i>IOF 50</i>	Колониялардың түсі крем тәрізді сарғыш	Клеткалары бір-біріне жабысқан коккалар, диплоктар
	<i>IIOFB50</i>	Колониялары ақшыл-сары түсті, дөңгелек, шеттері тегіс, беті көтеріңкі, профиль тамшы тәрізді, жұмсақ консистенция	Грамм оң таяқшалар, тізбек тәрізді және жекелей, жұптасып та орналасқан
	<i>FIA50</i>	Сүт түсті колониялар, колониялар пішіні дөңгелек фетонды шеті бар, тегіс, консистенциясы жұмсақ, колониялар көлемі 0,5-1 мкм	Граммтеріс таяқшалары, 0,4-0,5 мкм, жұптармен біріктірілген жинақтар түрінде орналасқан

Үлгілер	Штамм	Колониялардың макроморфологиялық сипаттамасы	микроморфологиясы
	<i>FIAO50 Microccus</i>	Колониялары апельсин түстес қызғыш-сары түсті, домалақ, майда, профілі тегіс, беті тегіс, шеттері тегіс, консистенциясы жұмсақ, диаметрі 1-4 мкм, біртекті құрылымды	24 сағаттағы клеткалар кокка тәрізді, , козғалыссыз, грам оң клеткалар.

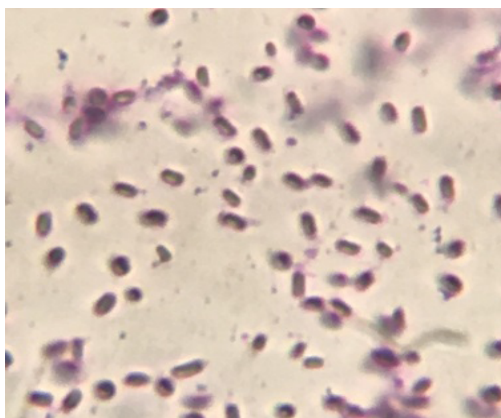
Әрі қарай микроорганизм культураларының микроскопиялық зерттеулерінің нәтижелері көрсетілді. Зерттеу нәтижесінде 0-10 см тереңдіктен бөлініп алынған бактериялардың кейбірінің 3-суретте колонияларын келтірдік, колонияларға таксономиялық белгілеріне қарай толық морфологиялық сипаттамалар жасалынды (3-сурет), бактериялардың таза культураларының 10-20 см тереңдіктен бөлініп алынған гетеротрофты микроорганизмдер таза штаммдары келтірілді, оларды: *AIO* грам оң бациллустар, штамм *AIP* грам оң бациллустар *IA 10* бациллустар деп штрихтармен таңбаланды (4-сурет), әрі қарай 5, 6-суреттерде 20-30 см тереңдіктен алынған фосфор қалдықтарының шлактарынан бөлініп алынған гетеротрофты

микроорганизмдердің таңбаланған штаммдары *ABF* грам оң тетракоккалар, *FAI* грам оң бациллус таяқшалары, *BIOM 1 Microccus sp.* бөлініп алынды (5-сурет), сондай-ақ 40-50 см тереңдіктен бөлініп алынған гетеротрофты микроорганизмдер *IO 50* коккалар, *IOF 50* кокка штаммдары, *FIAO50 Microccus sp.*, анықталды (6-сурет). Ал 7-суретте құрамында фосфор қалдығы бар шлам құрамынан бөлініп алынған бациллус *AAShF* штаммының грам оң 5 жаңа түрі: *AAShF1*; *AAShF2*; *AAShF3*; *AAShF4*, *AAShF5* анықталды (7-сурет).

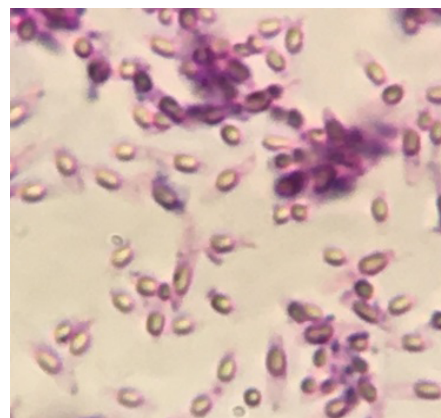
Микроорганизмдер культураларына микроморфологиялық және микроскопиялық зерттеулер, Грам бойынша бояу нәтижелері келесі суреттерде көрсетілді (5-8-сурет).



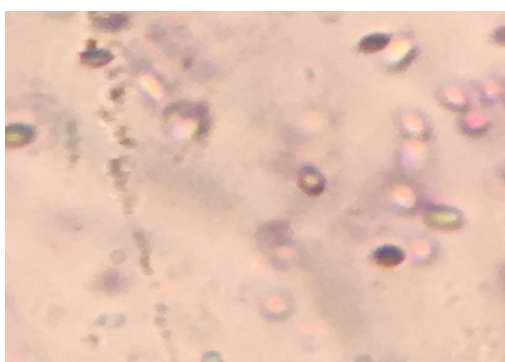
3-сурет – Құрамында фосфор қалдығы бар шлактардан бөлінген гетеротрофты микроорганизмдердің кейбір колониялары (горизонт 0-10 см)



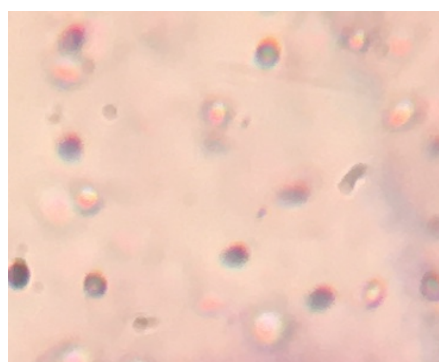
а
AIO грам оң бациллустар



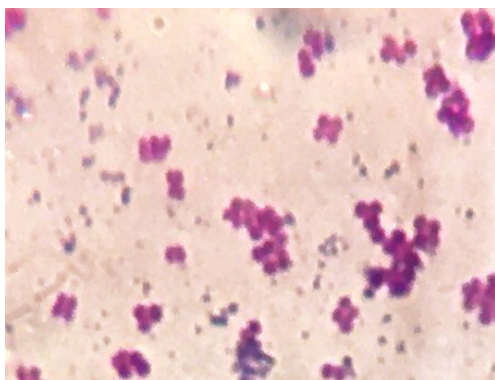
б
AIP грам оң бациллустар



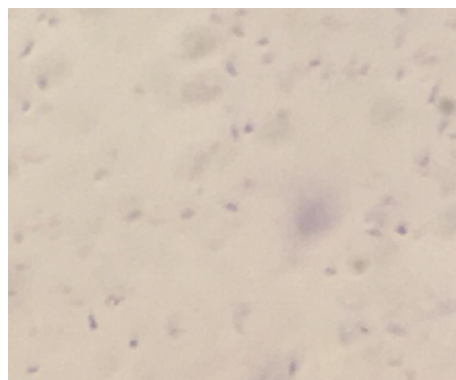
с
IA 10 bacilli



4-сурет – 10-20 см тереңдіктен бөлініп алынған
гетеротрофты микроорганизмдер изоляттары ×100

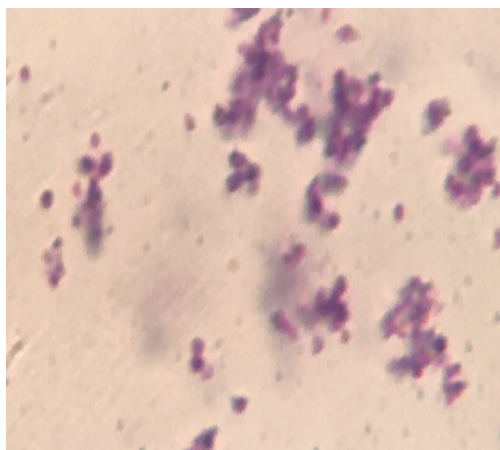


а
ABF грам оң тетракоккалар

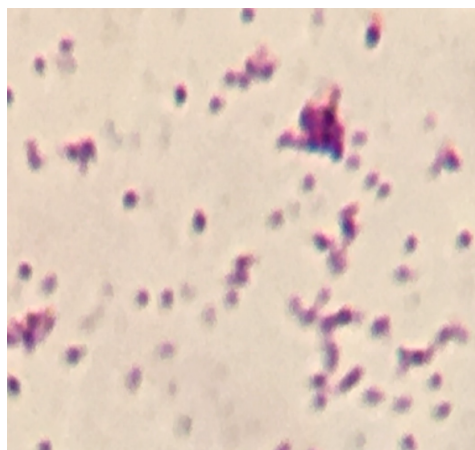


б
FAI грам оң бациллустар

5-сурет – 20-30 см тереңдіктен бөлініп алынған гетертрофты микроорганизмдер ×100

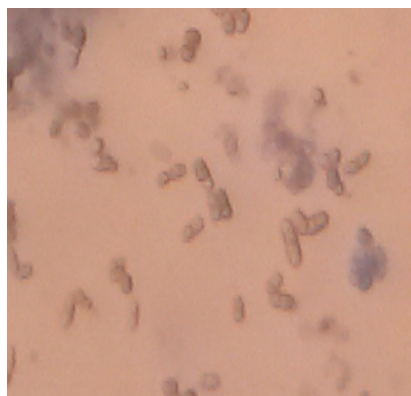


IO 50 коккалар



IOF 50 коккалар

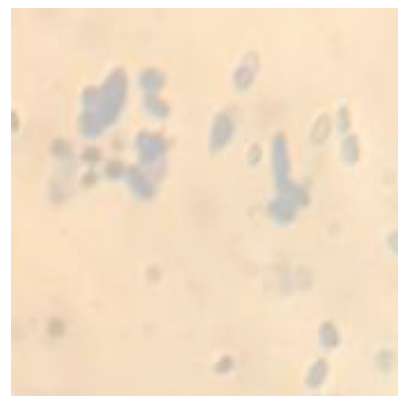
6-сурет – 40-50 см тереңдіктен бөлініп алынған гетеротрофты микроорганизмдер $\times 100$



AAShF1



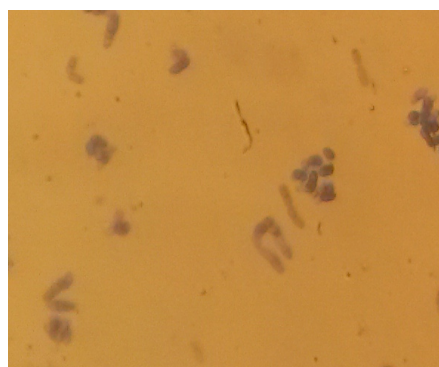
AAShF2



AAShF3



AAShF4



AAShF5

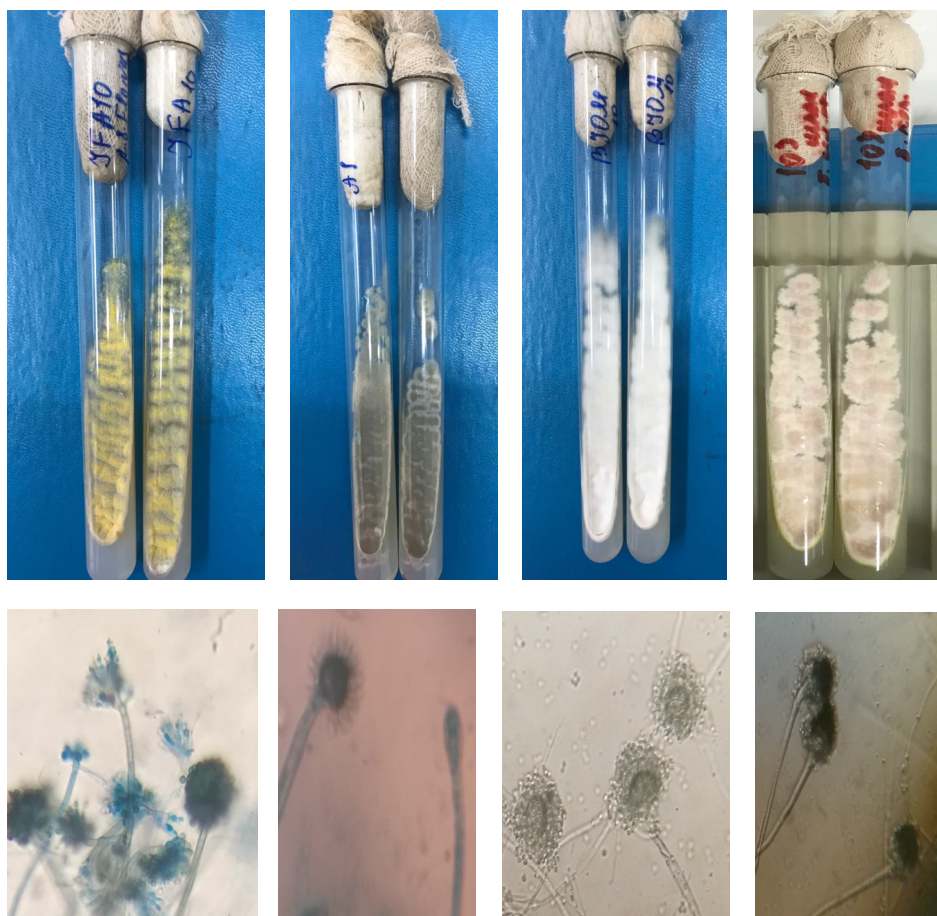
7-сурет – Шлам құрамынан бөлініп алынған AAShF бактериясы штамдары изоляттарын бояу $\times 100$

Негізгі зерттеу нысаны ретінде алынып отырған фосфор қалдықтарының құрамынан микромицетті саңырауқұлақтарының белсенділігі айтарлықтай жоғары екендігі байқалды.

Микромицетті саңырауқұлақтардың туыстарынан *Aspergillus* туысының түрлері доминантты топтардың бірі болды. Олардың ішінен біздің бөліп алған аспергиллус туысының өкілдерінен: *Aspergillus flavus* өкілдерінің 2 жаңа штаммы *AsZ* және *AsF*, *Aspergillus niger* *AsIA* штаммын, *AsPN* штаммын *Aspergillus tubingensis* түріне, ал *Aspergillus terreus* түрінің *JOM* штаммын ПТР талдаулар арқылы анықтадық. Ал таксономиялық белгілеріне қарай 8-суретте көрсетілгендей макро және микроморфологиялық сипаттамалар жасау арқылы аспергиллус туысының басқа да өкілдерін анықтадық, олар: *AiA* штаммы – *Aspergillus restrictus*; *Aspergillus fumigatus* -*AO 50F*; *As.flavipes* [Kulko A. B. 2012., Sutton D., et al. 2001] анықтадық (8-сурет).

Сонымен қатар ашытқылар, актиномицеттер бар екендігі анықталды. *AiAF 50Mucorales*, *AA50-аскомицеттер*, ашытқылар *FM* анықталды.

Гетеротрофты және микромицетті микроорганизмдерден басқа нитрификаторлар, денитрификаторлар, азотфиксациялаушы микроорганизмдер және теміртотықтырушы микроорганизмдер мен күкіртотықтырғыш микроорганизмдер топтары бөлініп алынды және ПТР талдамасы жасалынды. Олар: *NJA* штаммы денитрифицирлеуші бактерияларға *Pseudomonas stutzeri*, термофильды бактерияларға *MSO* штаммы *Methyloversatilis thermotolerans*, штамм *Nit1 Nitrosomonas europaeae*, *uamm ASA* және *TS* – *Ralstonia pickettii* түрінің 2 жаңа штаммы, *NAO* – *Acinetobacter sp.*, *ST* – *Alicyclobacillus tolerans (Sulfobacillus thermosulfidooxidans)*, *NS1* – *Zoogloea resiniphila*, *TS2* – *Gallionella capsiferiformans uamm*, *uamm ThIO-Acidithiobacillus ferrooxidans* түрлеріне жататынын талдаулардан анықталды.

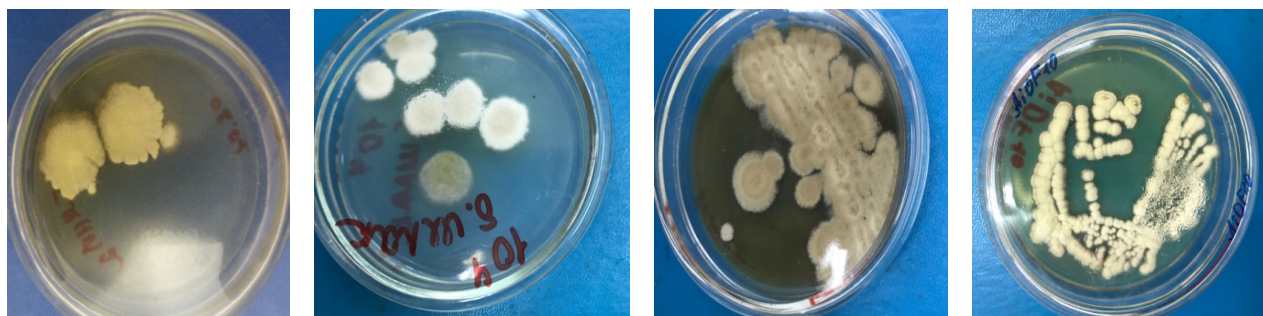


8-сурет – *Aspergillus* туысы өкілдерінің таза дақылдары мен конидиетасушылары $\times 40$

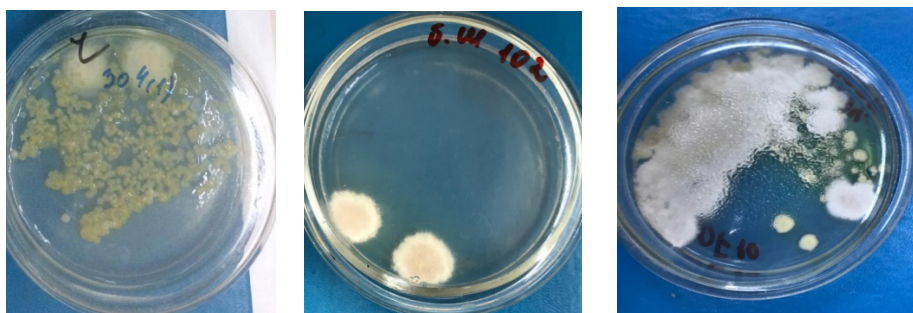
Әртүрлі тереңдіктен алынған құрамында фосфорқалдығы бар шлактар мен шламдардан бөлініп алынған микромицеттердің кейбір топтарының колониялары, 0-10-20 см тереңдікте таралған микромицетті саңырауқұлақтардың колониялары, 9-суретте солардың кейбір колонияларының суреттерін келтірдік, колонияларға морфологиялық сипаттамалар жасалынып, микроскоптау арқылы *Aspergillus* тусының өкілдері екені анықталды, әрі қарай 10, 11-суреттерде қалдықтардың

терең горизонттарынан бөлініп алынған колониялардың суреттері келтірілді, мысалы 50 см тереңдіктегі қабаттардан бөлініп алынған актиномицеттер, аскомицеттер және т.б. колониялар (10, 11-суреттер) көрсетілген.

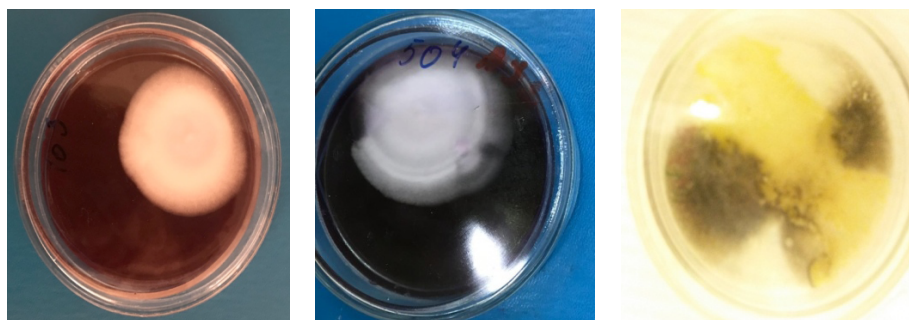
Ал құрамында фосфор қалдығы бар шламдардың микрофлорасында өзгешеліктер біршама байқалды, 12-суретте көрсетілгендей *Aspergillus* бірашама колониясының ерекшелігінен бөлек, ашытқылардың, актиномицеттердің басым екендігі байқалды (12-сурет).



9-сурет – Құрамында фосфоры бар шлактар қалдықтарының бөлініп алынған микроскопиялық саңырауқұлақтардың колониялары (0-10 см, 10-20 см тереңдігінен)



10-сурет – Құрамында фосфор қалдығы бар шлактардан бөлінген микроорганизмдер колониялары (горизонт 20-30 см)



11-сурет – Құрамында фосфор қалдығы бар шлактардан бөлінген микроорганизмдер колониялары (горизонт 40-50 см)



12-сурет – Құрамында фосфор қалдығы бар шламдардан бөлінген микроорганизмдер колониялары

Қорытынды

Фосфор қалдықтарының сынамаларына физика-химиялық, микробиологиялық зерттеулер жүргізу нәтижесінде:

– Құрамында фосфор қалдығы бар шламдар мен шлактардың физикалық сипаттамасы жасалынды, олардың: жеңіл, қара – сұр түсті, жұмсақ, тығыз емес, қара-қоңыр топырақ түстес, жұмсақ, борпылдақ, үгітілгіш кесек түрінде, қатты тас күйінде кездесетіні анықталды, сутектік көрсеткіштері: рН -6-7,5 аралығында екендігі анықталды.

– Шламдар мен шлактар әртүрлі тұздылыққа, минералдық құрамға және сілтілік жағдайға ие екендігі және олардың геологиялық жасы, пайдаланылған горизонттың стратиграфиясына және т.б. жағдайларға байланысты құрамы, минералдық құрамында SiO_2 кварц, CaCO_3 – кальцит, Fe_2O_3 – гематит болатыны анықталды.

– Микробиологиялық зерттеулер жүргізуде микроорганизмдер әртүрлі физиологиялық топтарға жатқызылды: гетеротрофты микроорганизмдер тобынан: 0-10 см тереңдіктен штамм *AIO* грам оң бациллустар, штамм *AIP* грам оң бациллустар *IA* 10 бациллустар, 20-30 см тереңдіктен бөлініп алынған гетертрофты микроорганизмдер *ABF* грам оң тетракоккалар, *FAI* грам оң бациллустар, *BIOM 1 Microccus sp.*, ал 40-50 см тереңдіктен бөлініп алынған гетертрофты

микроорганизмдер *IO 50* коккалар, *IOF 50* кокка штаммдары, *FlAO50Microccus sp.*, штаммдары бөлініп алынды. Ал шлам құрамынан бациллус *AAShF* штамының грам оң 5 түрі *AAShF1*; *AAShF2*; *AAShF3*; *AAShF4*, *AAShF5* анықталды.

– Микромицетті саңырауқұлақтардың *AsIA utammy- Aspergillus Niger*, *AsPN- Aspergillus tubingensis*, *JOM- Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus* өкілдерінің 2 жаңа штаммы *AsZ* және *AsF* штамдары идентификацияланды, ал келесі саңырауқұлақтар штамдарының таксономиялық белгілеріне қарай морфологиялық сипаттама жасалып түрлік құрамы анықталды: *Aspergillus restrictus- AiA*; *Aspergillus fumigatus -AO50F*; *As.flavipes* түрлерінің жаңа штаммдары. Сонымен қатар ашытқылар, актиномицеттер бар екендігі анықталды, олар *AiAF50 Mucorales*, *AA50-аскомицеттер*, ашытқылар *FM* штамдары анықталды

– Денитрификациялық, нитрификациялаушы және тион бактериялары мен сульфидті бактериялардың жаға штамдары бөлініп алынды, идентификациясы жасалынды: *Pseudomonas stutzeri- NJA*, *Methyloversatilis thermotolerans-MSO*, *Nitrosomonas europaeae- Nit1*, *Ralstonia pickettii- ASA* и *TS 2* жаңа штаммы, *NAO – Acinetobacter sp.*, *ST – Alicyclobacillus tolerans (Sulfobacillus thermosulfidooxidans)*, *Zoogloea resiniphila-NS1*, *TS2-Gallionella capsiferriiformans*, *ThIO- Acidithiobacillus ferrooxidans*.

References

- 1 Bhappu R.B., Reunolds D.H., Roman R.I. Molybdenium recovery from sulfide and oxide ores // J. Metals. 1965. V.9, №4. P. 487-497.
- 2 Kamalov M. R. The Role of microorganisms in leaching metals from the ores of Kazakhstan. Alma-ata. “Gylym” 1990.
- 3 Gabov Yu. a., Kist V. E. Waste of Kazakhstan and problems of their utilization. 3-part./Almaty: New book. 2018. -164 с.
- 4 Chunsheng Qiu, Yue Bi, Jinxin Zheng, Dong Wang, Chenchen Wang, Nannan Liu, Shaopo Wang, Liping Sun. Effect of ozonation treatment on the chemical speciation distributions of heavy metals in sewage sludge and subsequent bioleaching process. Environmental Science and Pollution Research (2020) © 2020 Springer Nature Switzerland AG. Part of Springer Nature.

- 5 Wasim S., Guodong Zh., Ghufanud D., Xiangxian M., Muhammad R., Wang X., Metals Extraction from Sulfide Ores with Microorganisms: The Bioleaching Technology and Recent Developments. The Indian Institute of Metals- IIM 72(3):559–579.2019.
- 6 Chetverikova D. V. Biological leaching of zinc and copper from the waste of flotation enrichment of sulfide ores of the Burib-aevsky mining and processing plant in a percolation plant / D. V. Chetverikova, M. D. Bakaeva, S. P. Chetverikov et al. // Izvestiya Samara scientific center of the Russian Academy of Sciences. – 2013. – Vol. 15. – № 3 (5). – Pp. 1690-1693.
- 7 MÄKINEN J., WENDLING L., LAVONEN T., KINNUNEN P., Sequential Bioleaching of Phosphorus and Uranium. J. Minerals 9.,331.2019
- 8 Bulaev A.G., Melamud V.S. Biox Of Color Metals From Washery Refuses. /International research journal. № 12 (78). 2018 Part 1,Декабрь.
- 9 NING Zh., LI W., KE Zh., TERRY W., PETER T., BRYAN J., YI Zh., Pretreatment of lignocellulosic biomass using bioleaching to reduce inorganic elements. J.Fuel 246. 386–393. 2019.
- 10 Payam Rasoulnia, Seyyed Mohammad Mousavi. Bioleaching of Precious Metals from an Oil-Fired Ash Using Organic Acids Produced by Aspergillus Nigerin Shake Flasks and Bioreactor. International Journal of Chemical Engineering and Applications, Vol. 7, No. 6, December 2016.
- 11 Ning Zhanga, Li Wangb,Ke Zhangc,Terry Walkera,Peter Thyd,Bryan Jenkinsb,Yi Zhenga. Pretreatment of lignocellulosic biomass using bioleaching to reduce inorganic elements. Fuel 246 (2019) 386-393 <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.02.138>.
- 12 Muthusamy Govarthanam, Gun-Woong Lee, Jung-Hee Park, Jae Su Kim, Sung-Sik Lim, Sang-Ki Seo, Min Cho, Hyun Myung, Seralathan Kamala-Kannan, Byung-Taek Oh “Bioleaching characteristics, influencing factors of Cu solubilization and survival of *Herbaspirillum* sp. GW103 in Cu contaminated mine soil,” *Chemosphere*, vol. 109, pp. 42-48, 2014.
- 13 Tong-Jiang Xu, Yen-Peng Ting “Fungal bioleaching of incineration fly ash: Metal extraction and modeling growth kinetics,” *Enzyme. Microb. Technol*, vol. 44, no. 5, pp. 323-328, 2009.
- 14 Issayeva A. U., S. K. Naekova, L. V. Rubtsova The Role of Microorganisms in Bioleaching of Lanthanum, Cerium and Neodymium from Phosphorus-Containing Wastes in the South of Kazakhstan. *Ijsrm.Human*. Vol. 7 (4): 194-200. 2017.
- 15 A. U. Issayeva Bishimbayev V. K., Mukhamedzhanov B. G., et al. Method for processing phosphorus-containing waste with the extraction of La, Te and CE. Innovation patent of the Republic of Kazakhstan No. 29154 dated 02.09.2013.
- 16 Rogatykh S.V., Levenets O.O., Muradov S.V., Dokshukina A.A., Kofiadi I.A. Assessment of qualitative and quantitative composition of communities of cultivated acidophilic microorganisms by pcr-rv methods and analysis of clones library. *Microbiology*. 2013, Volume 82, No. 2, p. 212-217.
- 17 Rogatykh S.V. Primer systems used to identify representatives of the community of chemolithotrophic microorganisms of the Shanuch deposit (Kamchatka). July 4, 2018. DOI: 10.24411/1728-323X-2018-12060. №
- 18 STS R ISO 7523-2016. STS 33208-2014. STS 28353.3-2017. STS R 57655-2017. FER F 16.1: 2.2: 2.3: 3.36-02. FER F 14.1: 2: 4.140-98. Atomic absorption spectroscopy: objects of analysis, fulfilled standards. January, 2019.
- 19 Reznikov A. A. Methods of analysis of natural waters / A. A. Reznikov, E. p. Mulikovskaya, I. Yu. Sokolov. – Moscow: Nedra, 1970. – 140 p.
- 20 Barbara L. D., Christine M.C. X- ray Powder Diffraction (XRD). Integrating Research and Education. Geochemical Instrumentation and Analysis. <https://serc.carleton.edu/18400>. April 05, 2019.
- 21 Schabenberger O., Pierce F.J. Contemporary statistical models for the plant and soil sciences. CRC Press, Boca Raton, 256 p. 2002.
- 22 Issayeva A. U., Naekova S., Rubtsova L.V.The Role of Microorganisms in Bioleaching of Lanthanum, Cerium and Neodymium from Phosphorus -Containing Wastes in the South of Kazakhstan. *International journal of science and research methodology(IJSRM)*, 2017, vol.7, Issue 4, 194-200
- 23 Kakareka E. V. Industrial ecology: a Textbook / M. G. Yasoveyev, E. V. Kakareka; Ed. Jasaveev. – M.: research center INFRA-M, New. knowledge, 2017. – 292 p.
- 24 Don J. Brenner, Noel R. Krieg, James T. Staley and George M. Garrity, *Bergey’s manual of systematic bacteriology*. 2004.
- 25 John G. Holt, Noel R. Krieg, Peter H.A. Sneath, James T. Staley, Stanley T. Williams. *Bergey’s Manual of determinative bacteriology*. Moscow Publishing House “Mir” 1997.
- 26 Kulko A. B. Atlas of conditionally pathogenic fungi of the genus *Aspergillus*-pathogens of bronchopulmonary infections [Text] / A. B. Kulko ; Department of health of Moscow, Moskovsky Gor. scientific and practical center for fighting tuberculosis. Moscow: Novosti printing House, 2012, 155 p.
- 27 Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. Determinant of pathogenic and conditionally pathogenic fungi. – Moscow: Mir, 2001-P. 470s.

Е.В. Кухар^{1*}, В.С.Киян², А.М. Смагулова²

¹Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина, Казахстан, г. Нур-Султан

²Научно-исследовательская платформа сельскохозяйственной биотехнологии

АО «Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина», Казахстан, г. Нур-Султан,

*e-mail: kucharev@mail.ru

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕДКОГО ВОЗБУДИТЕЛЯ ОНИХОМИКОЗА *PHOMA MACROSTOMA* (син. *Didymella macrostoma*)

В статье представлены результаты изучения биологических свойств штамма *Phoma macrostoma*, впервые описанного в Казахстане как возбудитель онихомикоза. Авторами получена чистая культура целомицета *Phoma macrostoma*, выделенная из пораженной ногтевой пластинки пациента наркологического диспансера, и изучены её биологические свойства: культуральные, морфологические, биохимические. Проведено поверхностное культивирование на дифференциальных средах, микроскопия в агаровых блоках и скотч-препаратах, молекулярно-генетическая идентификация. Описаны особенности формирования колонии гриба, выявлены характерные морфологические структуры целомицета, умеренная ферментация углеводов и отсутствие уреазной активности. На декстрозном агаре Сабуро к 10-18 суткам формировались плоские колонии нежно-розового цвета, с розовато-оранжевым оттенком в центре, желтоватые по краю, с приподнятым центром и рельефными радиальными полосами, реверзум – желто-коричневый. Появление единичных ростовых трубок отмечалось в течение первых 12 часов, массовое деление одиночных клеток и рост мицелиальных нитей – через 18 часов после посева спор. К концу вторых суток наблюдается мощный рост и активное ветвление мицелия, появление зачатков пикнид в виде уплотнений по ходу зрелых мицелиальных нитей, к концу третьих суток – формирование пикнид и хламидоспор коричневого цвета различных оттенков. Созревшие прозрачные, одноклеточные, эллипсоидные пикноспоры выходят из пикнид и располагаются в виде слизистой капли. Штамм отличается умеренной сахаролитической активностью в отношении глюкозы, сахарозы, маннозы, маннита, лактозы, практически полным отсутствием уреазной активности. Молекулярно-генетическая идентификация методом Сэнгера позволила идентифицировать штамм *Phoma macrostoma* со 100% достоверностью и депонировать нуклеотидную последовательность в GenBank как изолят №MN701978.1 *Didymella macrostoma* 104-Kz.

Ключевые слова: биология возбудителя, генетическая идентификация, онихомикозы, пикниды, целомицеты.

E.V. Kukhar^{1*}, V.S. Kiyan², A.M. Smagulova²

¹S.Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Kazakhstan, Nur-Sultan

²Research Platform of Agricultural Biotechnology S.Seifullin

Kazakh Agrotechnical University, Kazakhstan, Nur-Sultan,

*e-mail: kucharev@mail.ru

Characteristic of the rare pathogen of onychomycosis *Phoma macrostoma* (sin. *Didymella macrostoma*)

The article presents the results of studying the biological properties of the *Phoma macrostoma* strain, first described in Kazakhstan as the causative agent of onychomycosis. The authors obtained a pure culture of *Phoma macrostoma* coelomic, isolated from the affected nail plate of a patient in a narcological dispensary, and studied its biological properties: cultural, morphological, biochemical. Surface cultivation on differential media, microscopy in agar blocks and adhesive tape preparations, molecular genetic identification was carried out. The features of the formation of fungus colony are described, the characteristic morphological structures of the coelomycete, moderate fermentation of carbohydrates and the absence of urease activity are revealed. On the dextrose agar of Sabouraud nutrient medium, by 10-18 days, flat colonies of pale pink colour, with a pinkish-orange tint in the centre, yellowish along the edge, with a raised centre and relief radial stripes, were formed, the reverser was yellow-brown. The

appearance of single growth tubes was noted within the first 12 hours, the massive division of single cells and the growth of filamentous filaments – 18 hours after sowing the spores. By the end of the second day, there is a powerful growth and active branching of the mycelium, the appearance of rudiments of pycnidia in the form of seals along the course of mature mycelial filaments, by the end of the third day, the formation of pycnidia and chlamydospores of the brown colour of various shades. Ripe transparent, unicellular, elliptical pycnosporos emerge from pycnidia and located in the form of a mucous drop. The strain is characterized by moderate saccharolytic activity in relation to glucose, sucrose, mannose, mannitol, lactose, the almost complete absence of urease activity. Molecular genetic identification by the Sanger method made it possible to identify the *Phoma macrostoma* strain with 100% certainty and to deposit the nucleotide sequence in GenBank as isolate No. MN701978.1 *Didymella macrostoma* 104-Kz.

Key words: biology of the pathogen, genetic identification, onychomycosis, pycnidia, coelomycetes.

Е.В. Кухар^{1*}, В.С. Киян², А.М. Смагулова²

1С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Қазақстан, Нұр-сұлтан қ.

2С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті

Ауылшаруашылық биотехнология ғылыми зерттеу платформасы, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.,

*e-mail: kucharev@mail.ru

***Phoma macrostoma* сирек кездесетін онихомикоз қоздырғышының сипаттамасы (син. *Didymella macrostoma*)**

Мақалада Қазақстанда алғаш рет онихомикоз қоздырғышы ретінде сипатталған *Phoma macrostoma* штаммының биологиялық қасиеттерін зерттеу нәтижелері келтірілген. Авторлар наркологиялық диспансер пациентінің зақымдалған тырнақ пластинасынан оқшауланған *Phoma macrostoma* целомицетінің таза мәдениетін алды және оның биологиялық қасиеттерін зерттеді: культуралды, морфологиялық, биохимиялық. Дифференциалды ортада беткейлі өсіру, агар блоктары мен скотч-препараттарда микроскопия, молекулалық-генетикалық сәйкестендіру жүргізілді. Саңырауқұлақ колониясының қалыптасу ерекшеліктері сипатталған, целомицетаға тән морфологиялық құрылымдары, көмірсулардың қалыпты ашытуы және уреаз белсенділігінің болмауы анықталған. Сабуроның декстрозды агарында 10–18 күнге дейін бозғылт қызғылт түсті жалпақ колониялар пайда болды, ортасында қызғылт реңктері бар, жиегі сарғыш, көтерілген орталығы және бедерлі радиалды жолақтары бар, реверзум – сары- қоңыр. Жеке өсу түтіктерінің пайда болуы алғашқы 12 сағат ішінде, жалғыз жасушалардың жаппай бөлінуі және мицелиалды жіптердің өсуі – спораларды себуден 18 сағат өткен соң байқалды. Екінші күннің соңында мицелийдің күшті өсуі мен белсенді тармақталуы, жетілген мицелиалды жіптердің бойымен тығыздағыштар түрінде пикнидтердің пайда болуы, үшінші күннің соңында әртүрлі реңктердегі пикнидтер мен хламидоспоралардың пайда болуы байқалады. Піскен мөлдір, бір клеткалы, эллипсоидты пикноспоралар пикнидтерден шығып, шырышты тамшы түрінде орналасады. Штамм глюкозаға, сахарозаға, маннозға, маннитке, лактозаға қатысты орташа сахаролитикалық белсенділікпен, уреаздық белсенділіктің толық болмауымен сипатталады. Сэнгер әдісімен молекулалық-генетикалық сәйкестендіру *Phoma macrostoma* штаммын 100% сенімділікпен анықтауға және нуклеотидтер тізбегін GenBank-қа №MN701978.1 *Didymella macrostoma* 104-Kz изолят ретінде сақтауға мүмкіндік берді.

Түйін сөздер: патогеннің биологиясы, генетикалық сәйкестендіру, онихомикоздар, пикнидтер, целомицеттер.

Введение

Онихомикозы представляют собой наиболее часто встречающиеся заболевания ногтей. Большинство случаев вызваны дерматомицетами, в частности, *Trichophyton rubrum*, реже *T. mentagrophytes* и *Epidermophyton floccosum*. Нередки выделения дрожжей, особенно *Candida albicans*. Могут вызывать поражения ногтей мицелиальные плесневые грибы: *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Acremonium spp.*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Scytalidium spp.* Часто встречаются смешанные инфекции, вызванные одновремен-

но дерматофитами, плесенью и / или дрожжами [1, 2, 3, 4, 5].

Плесневые грибы могут также вторично инфицировать уже пораженные ногти, хотя, вероятно, способны к первичному проникновению в ткани ногтя. Ряд авторов считают, что плесневые грибы обладают более слабой кератинозой и протеиназой активностью по сравнению с дерматомицетами, что определяет их второстепенное значение в этиологии онихомикозов [6].

Однако, в ряде публикаций, связанных с упоминанием в качестве этиологического фактора при системных и поверхностных микозах цело-

мицетных грибов, появились сообщения о патологиях, вызванных грибами рода *Phoma*, особенно у пациентов с иммунодепрессией.

Фома – полифилетический род грибковых организмов, принадлежащих к типу *Ascomycota*. *Phoma spp.* был открыт в 19 веке итальянским микологом Пиером Андреа Саккардо (1880), а спустя почти 100 лет Герхард Боерема и Геррит Боллен (1975) обновили определение и классификацию рода [7].

Основными параметрами идентификации, определяемой по морфологическим признакам, указываются образование конидий (бесполох спор), пикнидий (бесполох плодоносящих тел) и хламидоспор (увеличенных, толстостенных вегетативных клеток в гифах или на верхушках гифов). Род *Phoma* характеризуется шаровидными, эллипсоидальными, погруженными в субстрат, реже выступающими пикнидами и одноклеточными, бесцветными конидиями [8].

Phoma spp. представляет собой разнообразную группу организмов, которые вездесущи; обычно встречается в почве, органических веществах, растениях и водных источниках; являются фитопатогенами, для которых характерны паразитические взаимоотношения с растениями [9, 10, 11]. *Phoma spp.* вызывает фомозы у различных растений: лимон, граната, соя, свекла и других растений [12, 13]. Кроме непосредственного повреждения растений, *Phoma spp.* синтезирует различные цитотоксичные метаболиты, например – теназуоновую кислоту. Этот микотоксин, продуцируемый *Ph. sorghina*, при кормлении в течение 10 месяцев вызывает у мышей острые токсические эффекты в виде предраковых изменений слизистой оболочки пищевода [14].

Phoma spp. может меняться от условно-патогенных до патогенных организмов при контакте с соответствующим хозяином [15]. Сообщалось, что этот вид является оппортунистическим инвазивным патогеном у животных и человека. Первый случай, вызванный *Phoma spp.*, зарегистрирован и подтвержден микологическими и гистологическими методами у человека в 1973 году. Инфицирование человека целыми грибами становится все более частым и варьируется от поверхностного до системного распространения. Число инфекций, вызванных *Phoma spp.*, возрастает с развитием медицины, в первую очередь из-за увеличения числа пациентов, подвергающихся риску из-за иммунодефицитных состояний [16].

Частота встречаемости заболеваний, вызванных *Phoma spp.*, непрерывно возрастает. Доказа-

тельством этому являются данные культурально-морфологических и молекулярно-генетических исследований, предоставленные различными авторами [17, 18, 19]. Результаты определения распределения целыми грибами в клинических образцах с помощью фенотипического и молекулярного исследования позволили идентифицировать представителей *Phoma herbarum*, которые встречались в числе пяти самых распространенных видов (*Neoscytalidium dimidiatum*, *Paraconiothyrium spp.*, *Phoma herbarum*, *Didymella heteroderae* и *Epicoccum sorghinum* [20].

Tullio V. с соавторами (2010) описан случай дерматомикозов стопы у иммунокомпетентных субъектов, вызванный оппортунистическими мицелиальными грибами, обычно повсеместно распространенных в окружающей среде: *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* и *Microascus cinereus* [21]. Oh C.K. с соавторами (1999) описали подкожный феофифомикоз, вызванный видами *Phoma* [22].

Нами впервые в Республике Казахстан установлен случай онихомикоза, вызванный оппортунистическим инвазивным патогеном *Phoma spp.*, который выделен из патологического материала. Цель исследования – изучение биологических свойств редкого возбудителя онихомикоза *Phoma macrostoma* штамма Н11.

Материалы и методика исследований

Статья подготовлена по результатам исследований, проводимых в рамках гранта МОН РК по теме №0112РК01358 «Фенотипическая и молекулярно-генетическая характеристика возбудителей дерматофитий и создание тест-систем для диагностики микроспории, руброфитии и гипсовой трихофитии» и инициативной НИР №0118РКИ0321 «Биология микроскопических грибов – возбудителей микозов кожи сельскохозяйственных животных».

Объектом исследования является редкий возбудитель онихомикоза – микроскопический мицелиальный грибок семейства *Didymellaceae* рода *Phoma* вида *macrostoma* штамма Н11, выделенный из дистального края пораженной ногтевой пластинки пациента наркологического диспансера.

При первичном выделении возбудителя и получении чистой культуры проводили поверхностное культивирование при температуре 28°C до завершения формирования характерных колоний. Для изучения культурально-морфологических свойств культуры гриба использовали

агаровые среды: Сабуро, Чапека, медовую, кукурузную и картофельную. Сахаролитическую активность выявляли на средах Гисса с различными углеводами, уреазную – на среде Кристенсена в присутствии 40%-ой мочевины.

Микроскопию культуры гриба проводили в нативных мазках, скотч-препаратах и агаровых блоках через 24-48-72 часа роста в световом микроскопе при увеличении $\times 40$. Морфологические структуры характеризовали под иммерсионной системой при увеличении $\times 400$.

Фенотипическую идентификацию проводили с использованием определителя Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. (2001) [23].

Определение нуклеотидной последовательности целевых генов культуры гриба проводили методом ПЦР по паре праймеров ITS4-ITS5. Пробы ДНК очищали и проводили секвенирование с применением BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) согласно инструкции производителя, с последующим разделением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе 3730x1 DNA Analyzer (Applied Biosystems). После расшифровки ДНК результаты вносили в базу данных на сайте www.ncbi.com. Полученные последовательности идентифицировали в GeneBank по алгоритму BLAST относительно инвентарных номеров GeneBank по первым трем нуклеотидным последовательностям, имеющих максимальное совпадение [24].

Результаты исследований и их обсуждение

В лаборатории биотехнологии грибов была получена чистая культура целомицета и изуче-

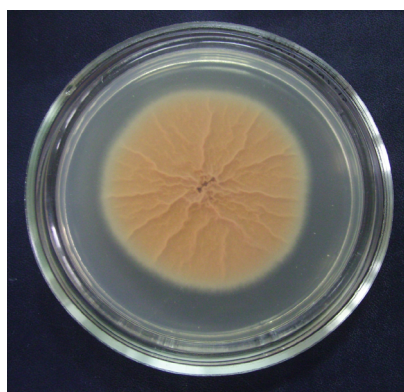
ны его биологические свойства: культуральные, морфологические, биохимические. Молекулярно-генетическая характеристика штамма и его идентификация по нуклеотидной последовательности целевых генов дерматомицетов проведена в лаборатории коллективного пользования РГП «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК. Были выявлены характерные морфологические структуры гриба, позволившие идентифицировать его как типичного представителя рода *Phoma*. Штамм отличался наличием характерных для представителей данного рода культурально-морфологических признаков, умеренно ферментировал сахара.

Проведенная генетическая идентификация штамма методом Сэнгера позволила идентифицировать штамм как *Ph. macrostoma* со 100% достоверностью. Нуклеотидная последовательность возбудителя онихомикоза *Ph. macrostoma* депонирована в GenBank: под номером MN701978.1, как изолят *Didymella macrostoma* 104-Kz.

При первичном выделении штамма появление колоний на поверхности агара в виде легкого помутнения в точке посева отмечали на вторые сутки. Колонии быстрорастущие, рост белой колонии отмечали с третьих суток, формирование колоний завершалось к 10-18 суткам. По мере созревания плоские колонии окрашивались в нежно-розовый цвет, с возрастом приобретала розовато-оранжевый оттенок в центре с желтоватым краем колонии. Центр зрелой колонии приподнимался, образуя пустоты, реверзум окрашивался в желто-коричневый цвет. Формировались рельефные радиальные полосы (рисунок 1).



лицевая сторона



обратная сторона

Рисунок 1 – Зрелая колонии *Phoma macrostoma* H11

Проведено наблюдение за прорастанием конидий, началом формирования ростовой трубки и ростом мицелия, образованием созреванием и разрывом пикнид с выходом во внешнюю среду пикнидоспор штамма *Phoma macrostoma* H11 в динамике. Микроскопия агаровых блоков каждые шесть часов культивирования позволила увидеть процесс прорастания конидий, начало формирования ростовой трубки и начальные фазы роста *Phoma spp.* В первые шесть часов роста пикноспоры, готовые к размножению, увели-

чиваются в размерах, набухают, клеточная стенка конидий утолщается (2а). Хорошо заметны стадии деления клетки. Отмечается появление единичных ростовых трубок в течение первых 12 часов после посева спор на агар Сабуро (2б). На рисунке отчетливо видно наличие коротких и более длинных ростовых трубок, массовое деление одиночных клеток и рост мицелиальных нитей, которое наблюдается через 18 часов после посева спорового материала на питательные среды (2в) (рисунок 2).

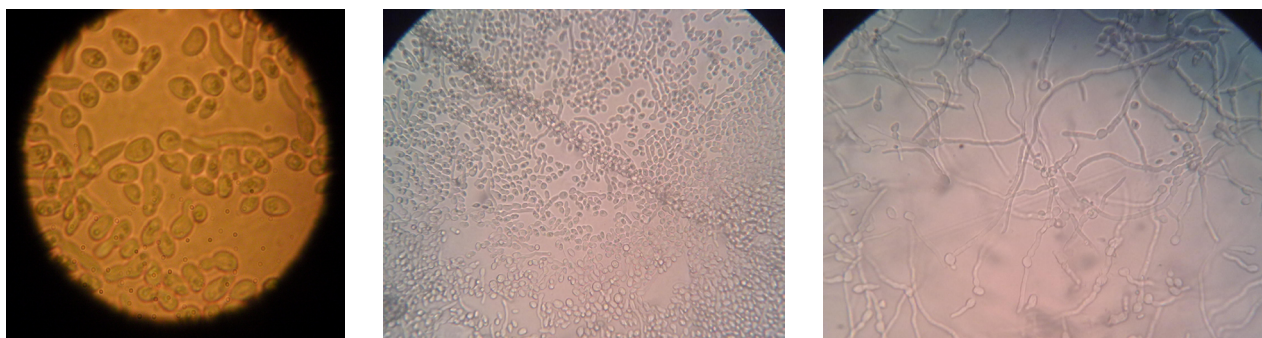
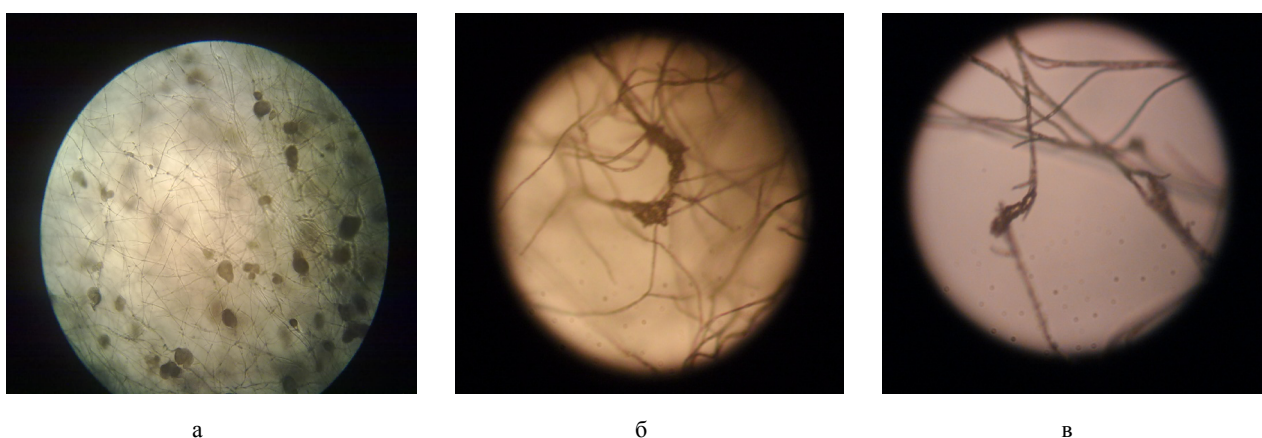


Рисунок 2 – Процесс прорастания конидий *Phoma macrostoma* H11, агаровые блоки, агар Сабуро, ×400

На вторые сутки роста наблюдается массовый рост гифов из проросших пикноспор, первые этапы ветвления гиалиновых септированных гифов многоклеточного мицелия *Phoma spp.* Не начавшиеся делиться в течение первых суток конидии активно формируют ростовые трубки на вторые сутки. К концу вторых суток наблюдается мощный рост и активное ветвление мицелия, появление зачатков пикнид в виде уплотнений

по ходу зрелых мицелиальных нитей. На третьи сутки культивирования *Phoma macrostoma* H11 наблюдали формирование пикнид и хламидоспор. При этом отмечали наличие погруженных в субстрат крупных шаровидных и грушевидных пикнид коричневого цвета (3а), а также одноклеточных или многоклеточных альтернариоидных хламидоспор (3б), расположенных в виде цепочек темно-коричневого цвета (рисунок 3).



а

б

в

Рисунок 3 – Морфологические структуры Ph. macrostoma H11:

а – грушевидные пикниды, б – многоклеточные и в) одноклеточные альтернариоидные хламидоспоры, ×400

Располагаются пикниды целомицетов *Phoma spp.* на коротких или едва заметных особых выростах многоклеточного мицелия, не отличающегося по цвету, толщине или плотности от остальных

гифов. Оболочка пикнид хорошо выражена, тонкая, плотная, кожистая с хорошо заметными выходными отверстиями. Стенки пикнид заметно темнее остального мицелия (рисунок 4).

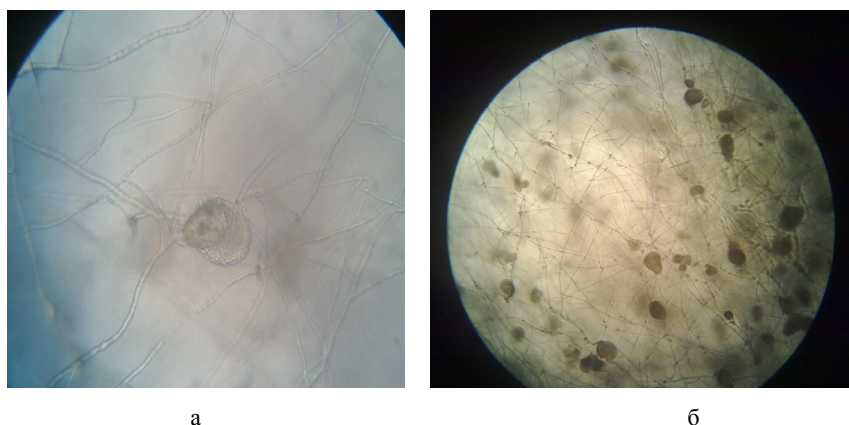


Рисунок 4 – Короткие (а) и длинные (б) выросты многоклеточного мицелия, с пикнидками *Phoma macrostoma* H11, агаровые блоки, агар Сабуро, 28 °С, ×400

По мере созревания из пикнид выходят хорошо заметные прозрачные, одноклеточные, имеющие эллипсоидную форму пикноспоры или

конидии. Конидии в пикнидах обычно погружены в слизь, выходят наружу при её набухании и располагаются каплей на пикниде (рисунок 5).

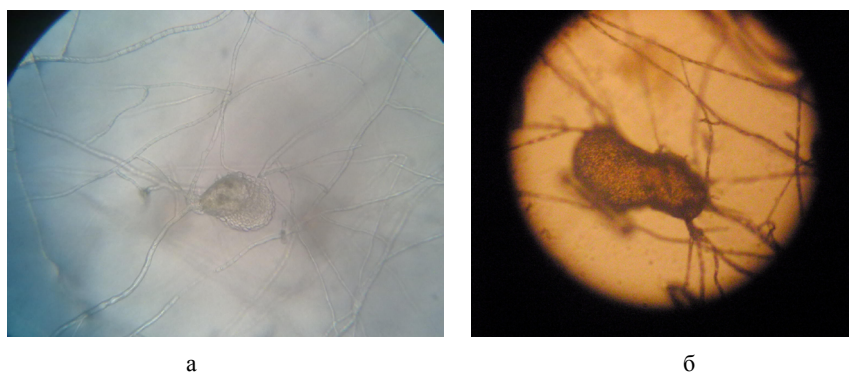


Рисунок 5 – Пикниды *Phoma macrostoma* H11 в процессе высвобождения мелких бесцветных конидий (показано стрелкой), агар Сабуро, 28 °С, ×400

По мере полного выхода пикноспор за пределы оболочки пикниды, они свободно располагаются в пространстве между гифами мицелия в виде слизистой клейкой массы (рисунок 6).

Как видно из рисунка 6, у штамма *Ph. macrostoma* H11 конидии прозрачные, одноклеточные, яйцевидной формы. Конидиеносцы не выражены.

Таким образом, нами выявлены характерные морфологические структуры, присущие грибам

рода *Phoma*, семейства *Didymellaceae*, отряда *Pleosporales*, класса *Dothideomycetes*, типа *Ascomycota*.

Выявление биохимических свойств позволило выявить наличие умеренной сахаролитической активности в отношении глюкозы, сахарозы, маннозы, маннита, лактозы. Уреазная активность практически отсутствует, так как на среде Кристенсена отсутствовали изменения цвета среды, выявлено слабый розоватый оттенок в месте посева (рисунок 7).

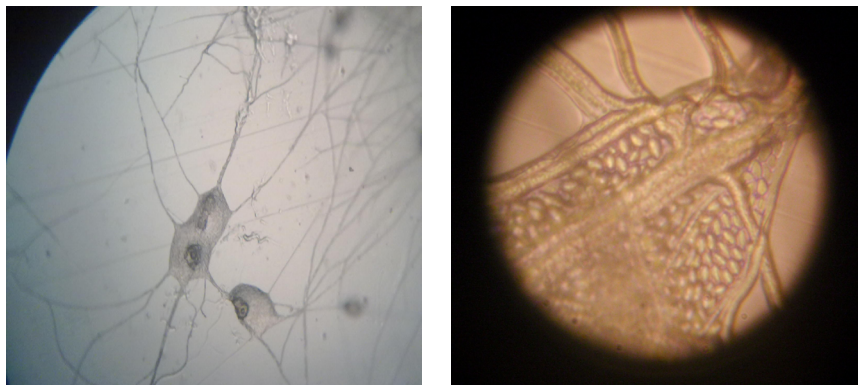


Рисунок 6 – Завершение выхода слизистой массы и пикноспор из пикнид *Phoma macrostoma* H11 (показано стрелкой), агар Сабуро, 28 °С, ×400

Среды Гисса с сахарами Среда Кристенсена
сахароза лактоза глюкоза мальтоза маннит контроль мочевины

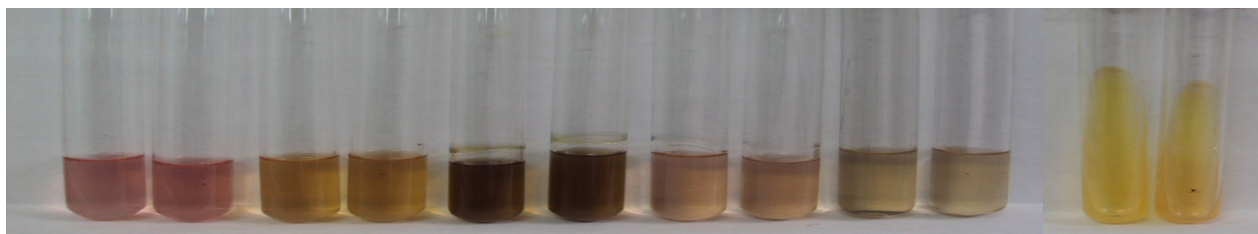


Рисунок 7 – Ферментативная активность *Phoma macrostoma* H11

Молекулярно-генетическая идентификация впервые выделенного в Казахстане штамма нехарактерного возбудителя онихомикоза позволила установить его принадлежность к роду *Phoma* со 100% совпадением со штаммом FJ176472.1.

Видовая принадлежность *Phoma macrostoma* установлена с 98% совпадением со штаммами DQ474097.1 и DQ474072.1 базы данных GeneBank методом анализа ITS региона по алгоритму BLAST на сайте www.ncbi.com (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты идентификации нуклеотидных последовательностей *Phoma macrostoma* H11 штамма

№ культуры	Последовательность фрагмента 16S r RNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инв. номер GeneBank (Accession number) или коллекционный номер штамма	Наименование штамма	% совпадения
H11	ACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACC TAGAGTTGTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTT TTAAGTACcTTTCGTTTCCTCGGCGGGTTCGCCGCCGATTG GACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAA AACTTAATAGTTACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTT CTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAAGTAGT GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACG CACATTGCGCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCG AGCGTCATTTGTACCTCAAGCTCTGCTTGGTGTGGGTGT TTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTG GCAGCCGGCGTATTGATTTCCGAGCGCAGTACATCTCGCG CTTGCATCATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTAC ACTCTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTT	FJ176472.1	<i>Phoma sp.</i>	100
		DQ474097.1	<i>Phoma macrostoma</i>	98
		DQ474072.1	<i>Phoma macrostoma</i>	98

Как показали результаты исследований, выделенная нами культура *Phoma macrostoma*, вызвавшая поражение ногтевой пластинки пациента, отличалась характерными видовыми особенностями [25].

Заключение

Таким образом, на основании вышеизложенного, можно сделать следующие выводы:

1 Выделенный из биологического материала штамм гриба, является представителем редких оппортунистических возбудителей онихомикозов *Phoma macrostoma*;

2 Штамм *Phoma macrostoma* Н11 отличается наличием типичных культуральных признаков, морфологических структур, низ-

кой сахаролитической и уреазной активностью;

3 Анализ нуклеотидной последовательности посредством анализа ITS региона в BLAST позволил подтвердить результаты культурально-морфологической характеристики, полностью идентифицировать штамм как представителя рода *Phoma*, вида *macrostoma*.

4 Нуклеотидная последовательность возбудителя онихомикоза *Ph. macrostoma* депонирована в GenBank под номером MN701978.1, как изолят *Didymella macrostoma* 104-Kz.

Конфликт интересов

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

Литература

- 1 Veer P., Patwardhan N.S., Damle A.S. Study of onychomycosis: Prevailing fungi and pattern of infection // Indian J Med Microbiol. – 2007. – V.25. – P. 53-6.
- 2 Ge G., Yang Z., Li D., Sybren G. de Hoog, Shi D. Onychomycosis with greenish-black discolorations and recurrent onycholysis caused by *Candida parapsilosis* // Med Mycol Case Rep. – 2019. – V.24. – P. 48-50.
- 3 Haneke E. Fungal infections of the nail // Semin Dermatol. – 1991. – V.10(1). – P. 41-53.
- 4 Сергеев А.Ю. Грибковые заболевания ногтей. – М.: Национальная академия микологии, 2007. – 164 с.
- 5 Цыкин А.А., Ломоносов К.М. Онихомикоз: этиология, диагностика, клиника и лечение // РМЖ «Медицинское обозрение». – №11(1). – [Электрон. ресурс]. – 2019. – URL: https://www.rmj.ru/articles/dermatologiya/Onihomikoz_etiologiya_diagnostika_klinika_i_lechenie/. (Дата обращения: 10.11.2019).
- 6 Медведева Т.В., Леина Л.М. Онихомикозы: современные представления об этиологии, эпидемиологии, методах терапии – [Электрон. ресурс]. – 2019. – URL: <http://www.rusmedserv.com/mycology/html/onihomic.htm> (Дата обращения: 9.11.2019).
- 7 Ashely Bennett, Michelle M. Ponder, Julia Garcia-Diaz. *Phoma* Infections: Classification, Potential Food Sources, and Their Clinical Impact // Microorganisms. – 2018. – V. 6(3). – P. 58.
- 8 Гарибова Л.В., Лекомцева С.Н. Основы микологии: морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. Учебное пособие. – М., 2005. – 220 с.
- 9 Bennett A., Ponder M.M., Garcia-Diaz J. *Phoma* Infections: Classification, Potential Food Sources, and Its Clinical Impact // Microorganisms. – 2018. – V.6 (3). – P. 58.
- 10 Сокирко В.П. Фитопатогенные грибы (морфология и систематика): учеб. пособие / В. П. Сокирко, В. С. Горьковенко, М. И. Зазимко. – Краснодар: КубГАУ, 2014. – 178 с.
- 11 Фитопатология – Отдел Анаморфные (несовершенные) грибы. – [Электрон. ресурс]. – 2019. – URL: <http://selo-delo.ru/zachita-rastenii/fitopatologiya-otdel-anamorfnye-nesovershennye-griby.html>. (Дата обращения: 10.11.2019).
- 12 Migheli Q., Cacciola S.O., Balmas V., Pane A., Ezra D., Magnano G., Lio di San. Mal secco disease caused by *Phoma tracheiphila*: A potential threat to lemon production worldwide // Plant Dis. – 2009. – V.93. – P. 852-867.
- 13 Palavouzis S., Tzamos S., Paplomatas E., Thomidis T. First report of *Phoma Aliena* causing fruit rots of pomegranates in northern Greece // J. Plant Pathol. – 2015. – V.97. – P. 215.
- 14 Visconti A., Logrieco A., Vurro M., Bottalico A. Tenuazonic acid in blackmold tomatoes: Occurrence, production by associated *Alternaria* species, and phytotoxic properties // Phytopathol. Mediterran. – 1987. – V. 26. – P. 125-128.
- 15 Aveskamp, M.M., De Gruyter, J. and Crous, P.W. Biology and recent developments in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance // Fungal Diversity. – 2008. – V. 31. – P. 1-18.
- 16 Young N.A., Kwon-chung K.J., Freeman J. Subcutaneous abscess caused by *Phoma* sp. resembling *Pyrenochaeta romeroi*: Unique fungal infection occurring in immunosuppressed recipient of renal allograft // Am. J. Clin. Pathol. – 1973. – V.59. – P. 810-816.
- 17 Bakerspigel A, Lowe D, Rostas A. The isolation of *Phoma eupyrena* from a human lesion // Arch Dermatol. – 1981. – V. 117(6). – P. 362-363.
- 18 Rai M.K., Tiwari V.V., Irinyi L., Kövics G.J. Advances in taxonomy of genus *phoma*: polyphyletic nature and role of phenotypic traits and molecular systematics // Indian J Microbiol. – 2014. – V.54(2). – P. 123-128. doi:10.1007/s12088-013-0442-8

- 19 Pitt, Wayne & Bailey, Karen & Fu (符永碧), Yong-Bi & Peterson, Gregory. Biological and genetic characterisation of *Phoma macrostoma* isolates with bioherbicidal activity // *Biocontrol Science and Technology*. – 2012. – V.22. – P. 813-835. doi:10.1080/09583157.2012.691159.
- 20 Valenzuela-Lopez N., Sutton D.A., José F. Cano-Lira, Katihuska Paredes, Nathan Wiederhold, Josep Guarro, Alberto M. Stchigel. Coelomycetous Fungi in the Clinical Setting: Morphological Convergence and Cryptic Diversity // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2017. – Vol. 55(2). – P. 552-567.
- 21 Tullio V., Banche G., Allizond V., Roana J., Mandras N., Scalas D., Panzone M., Cervetti O., Valle S., Carlone N., Cuffini A.M. Non-dermatophyte moulds as skin and nail foot mycosis agents: *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* and *Microascus cinereus* // *Fungal Biol.* – 2010. – V. 114(4). – P. 345-9.
- 22 Oh C.K., Kwon K.S., Lee J.B., Jang H.S., Chung T.A., Suh S.B. Subcutaneous pheohyphomycosis caused by *Phoma* species // *Int J Dermatol.* – 1999. – V. 38(11). – P. 874-876.
- 23 Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. The Determinant of Pathogenic and Conditionally Pathogenic Fungi. – M: The World; 2001. – pp. 486.
- 24 Kukhar Ye., Kiyani V., Smagulova A., Nikulina A. Identification of Dermatofungi Isolated from People and Animals with Dermatophytoses on the Territory of Kazakhstan // *Adv. Anim. Vet. Sci.* – 2019. – V. 7(s1). – P. 21-27.
- 25 Persoonia. Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) – IX. Section Macrospora. – 2002. – V. 18, Part 1. – P. 85-102.

References

- 1 Veer P., Patwardhan N.S., Damle A.S. Study of onychomycosis: Prevailing fungi and pattern of infection // *Indian J Med Microbiol.* – 2007. – V.25. – R. 53-6.
- 2 Ge G., Yang Z., Li D., Sybren G. de Hoog, Shi D. Onychomycosis with greenish-black discolorations and recurrent onycholysis caused by *Candida parapsilosis* // *Med Mycol Case Rep.* – 2019. – V.24. – R. 48-50.
- 3 Haneke E. Fungal infections of the nail // *Semin Dermatol.* – 1991. – V.10 (1). – R. 41-53.
- 4 Sergeev A.Yu. Fungal nail diseases. – M.: National Academy of Mycology, 2007. – 164 p.
- 5 Tsykin A.A., Lomonosov K.M. Onychomycosis: etiology, diagnostics, clinical picture and treatment // *RMJ “Medical Review”*. – No. 11 (I). – [Electron. resource]. – 2019. – URL: https://www.rmj.ru/articles/dermatologiya/Onihomikoz_etiologiya_diagnostics_klinika_i_lechenie. (Date of access: 10.11.2019).
- 6 Medvedeva T.V., Leina L.M. Onychomycosis: modern ideas about etiology, epidemiology, methods of therapy – [Electron. resource]. – 2019. – URL: <http://www.rusmedserv.com/mycology/html/onihomic.htm> (Date of access: 9.11.2019).
- 7 Ashely Bennett, Michelle M. Ponder, Julia Garcia-Diaz. *Phoma* Infections: Classification, Potential Food Sources, and Their Clinical Impact // *Microorganisms*. – 2018. – V. 6 (3). – P. 58.
- 8 Garibova L.V., Lekomtseva S.N. Fundamentals of mycology: morphology and taxonomy of fungi and fungi-like organisms. Tutorial. – M., 2005. – 220 p.
- 9 Bennett A., Ponder M. M., Garcia-Diaz J. *Phoma* Infections: Classification, Potential Food Sources, and Its Clinical Impact // *Microorganisms*. – 2018. – V.6 (3). – P. 58.
- 10 Sokirko V.P. Phytopathogenic fungi (morphology and taxonomy): textbook. allowance / V.P.Sokirko, V.S.Gorkovenko, M.I.Zazimko. – Krasnodar: KubGAU, 2014. – 178 p.
- 11 Phytopathology – Department Anamorphic (imperfect) fungi. – [Electron. resource]. – 2019. – URL: <http://selo-delo.ru/zachita-rastenii/fitopatologiya-otdel-anamorfnye-nesovershennye-griby.html>. (Date of access: 10.11.2019).
- 12 Migheli Q., Cacciola S.O., Balmas V., Pane A., Ezra D., Magnano G., Lio di San. Mal secco disease caused by *Phoma tracheiphila*: A potential threat to lemon production worldwide // *Plant Dis.* – 2009. – V.93. – R. 852-867.
- 13 Palavouzis S., Tzamos S., Paplomatas E., Thomidis T. First report of *Phoma Aliena* causing fruit rots of pomegranates in northern Greece // *J. Plant Pathol.* – 2015. – V.97. – P. 215.
- 14 Visconti A., Logrieco A., Vurro M., Botalico A. Tenuazonic acid in blackmold tomatoes: Occurrence, production by associated *Alternaria* species, and phytotoxic properties // *Phytopathol. Mediterran.* – 1987. – V. 26. – P. 125-128.
- 15 Aveskamp, M.M., De Gruyter, J. and Crous, P.W. Biology and recent developments in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance // *Fungal Diversity*. – 2008. – V. 31. – P. 1-18.
- 16 Young N.A., Kwon-chung K.J., Freeman J. Subcutaneous abscess caused by *Phoma* sp. resembling *Pyrenochaeta romeroi*: Unique fungal infection occurring in immunosuppressed recipient of renal allograft // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1973. – V.59. – R. 810-816.
- 17 Bakerspiegel A, Lowe D, Rostas A. The isolation of *Phoma eupyrena* from a human lesion // *Arch Dermatol.* – 1981. – V. 117 (6). – R. 362-363.
- 18 Rai M.K., Tiwari V.V., Irinyi L., Kövics G.J. Advances in taxonomy of genus *phoma*: polyphyletic nature and role of phenotypic traits and molecular systematics // *Indian J Microbiol.* – 2014. – V.54 (2). – R. 123-128. doi: 10.1007/s12088-013-0442-8
- 19 Pitt, Wayne & Bailey, Karen & Fu (符永碧), Yong-Bi & Peterson, Gregory. Biological and genetic characterization of *Phoma macrostoma* isolates with bioherbicidal activity // *Biocontrol Science and Technology*. – 2012. – V.22. – R. 813-835. doi: 10.1080/09583157.2012.691159.

20 Valenzuela-Lopez N., Sutton D.A., José F. Cano-Lira, Katihuska Paredes, Nathan Wiederhold, Josep Guarro, Alberto M. Stchigel. Coelomycetous Fungi in the Clinical Setting: Morphological Convergence and Cryptic Diversity // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2017. – Vol. 55 (2). – R. 552-567.


21 Tullio V., Banche G., Allizond V., Roana J., Mandras N., Scalas D., Panzone M., Cervetti O., Valle S., Carlone N., Cuffini A.M. Non-dermatophyte molds as skin and nail foot mycosis agents: *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* and *Microascus cinereus* // *Fungal Biol.* – 2010. – V. 114 (4). – R. 345-9.

22 Oh C.K., Kwon K.S., Lee J.B., Jang H.S., Chung T.A., Suh S.B. Subcutaneous pheohyphomycosis caused by *Phoma* species // *Int J Dermatol.* – 1999. – V. 38 (11). – R. 874-876.

23 Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. The Determinant of Pathogenic and Conditionally Pathogenic Fungi. – M: The World; 2001. -- pp. 486.

24 Kukhar Ye., Kiyan V., Smagulova A., Nikulina A. Identification of Dermatomycetes Isolated from People and Animals with Dermatophytoses on the Territory of Kazakhstan // *Adv. Anim. Vet. Sci.* – 2019. – V. 7 (s1). – R. 21-27.

25 Persoonia. Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) – IX. Section Macrospora. – 2002. – V. 18, Part

**А. Рыскалиева^{1,2}, З. Крупова³, С. Хенри⁴,
Б. Файе⁵, Г.С. Конуспаева^{6*} , П. Мартан¹**

¹ИНРА, группа GABI, АгроПариТек, Университет Париж-Саклай, Франция, г. Жой-эн-Жосас

²ТОО Научно-производственное предприятие Антиген, Казахстан, Алматинская область

³Эксилон, Франция, г. Эланкур

⁴ИНРА, MICALIS Институт, PAPPSO, Университет Париж-Саклай, Франция, г. Жой-эн-Жосас

⁵СИРАД, группа SELMET, Франция, г. Монпелье

⁶Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы,

*e-mail: konuspayevags@hotmail.fr

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКЗОСОМ МОЛОКА *CAMELUS DROMEDARIUS*, *CAMELUS BACTRIANUS* И ГИБРИДОВ КАЗАХСТАНА

Молоко содержит внеклеточные везикулы, которые высвобождаются клетками молочной железы и распознаются как новый механизм передачи информации от матери к новорожденному. В данном исследовании из молока *C. dromedarius*, *C. bactrianus* и гибридов Казахстана выделены внеклеточные везикулы с помощью оптимизированного ультрацентрифугирования в градиенте плотности. Везикулы визуализированы с помощью просвечивающей электронной микроскопии и охарактеризованы с использованием анализа отслеживания наночастиц. Очищенные внеклеточные везикулы имели гетерогенное распределение размером в диапазоне от 25 до 170 нм в диаметре со средним выходом $9,5 \times 10^8$ – $4,2 \times 10^{10}$ частиц на миллилитр молока. Сочетая классический и продвинутый протеомный подходы, проведен комплексный протеомный анализ везикул верблюжьего молока. Идентифицировано 1010 уникальных белков, участвующих в различных биологических процессах, включая большое количество маркеров, связанных с маленькими везикулами. В результате внеклеточные везикулы верблюжьего молока обогащены экзосомными белками. Наиболее распространенные биологические процессы были связаны с процессами синтеза и секреции экзосом и в основном вовлечены в молекулярные функции, такие как поли РНК и АТФ-связывание, белковое связывание и структурная составляющая рибосомы.

Ключевые слова: верблюжье молоко, экзосомы, внеклеточные везикулы, протеом.

A. Ryskalieva^{1,2}, Z. Krupova³, C. Henry⁴, B. Faye⁵, G.S. Konuspayeva^{6*}, P. Martin¹

¹INRA, UMR GABI, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, France, Jouy-en-Josas

²Scientific-production enterprise Antigen Ltd, Kazakhstan, Almaty region

³Excilone, France, Elancourt,

⁴INRA, MICALIS Institute, PAPPSO, Université Paris-Saclay, France, Jouy-en-Josas

⁵CIRAD, UMR SELMET, France, Montpellier

⁶Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty,

*e-mail: konuspayevags@hotmail.fr

Fundamental studies of milk exosomes *Camelus dromedarius*, *Camelus bactrianus* and hybrids from Kazakhstan

Milk contains extracellular vesicles that are released by udder cells and are recognized as a new mechanism for transmitting information from mother to newborn. In this study, extracellular vesicles were isolated from milk of *C. dromedarius*, *C. bactrianus* and hybrids from Kazakhstan using optimized density gradient ultracentrifugation. Vesicles were visualized using transmission electron microscopy and characterized using nanoparticle tracking analysis. The purified extracellular vesicles had a heterogeneous size distribution ranging from 25 to 170 nm in diameter with an average yield of 9.5×10^8 – 4.2×10^{10} particles per milliliter of milk. Combining classical and advanced proteomic approaches, a comprehensive proteomic analysis of camel milk vesicles was carried out. One thousand ten (1010) unique proteins have been identified that are involved in various biological processes, including most markers associated with small vesicles. As a result, the extracellular vesicles of camel milk are enriched with exosomal proteins. The most common biological processes have been associated with the synthesis

and secretion of exosomes. They are mainly involved in molecular functions such as poly RNA and ATP binding, protein binding and structural constituent of the ribosomes.

Key words: camel milk, exosomes, extracellular vesicles, proteome.

А. Рыскалиева^{1,2}, З. Крупова³, С. Хенри⁴, Б. Файе⁵, Г.С. Конуспаева^{6*}, П. Мартан¹

¹ИНРА, GABI зерттеу ұяшығы, АгроПариТек, Париж-Саклай Университеті, Франция, Жой-эн-Жосас қ.

²Антиген ЖШС Ғылыми-өндірістік кәсіпорны, Қазақстан, Алматы облысы

³Эксилон, Франция, Эланкур қ.

⁴ИНРА, MICALIS Институты, RAPPPO, Париж-Саклай Университеті, Франция, Жой-эн-Жосас қ.

⁵СИРАД, SELMET зерттеу тобы, Франция, Монпелье қ.

⁶Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.,

*e-mail: konuspayevags@hotmail.fr

Қазақстанның *Camelus dromedarius*, *Camelus bactrianus* және гибридтер сүтінің экзосомаларын фундаменталды зерттеулері

Сүттің құрамында жасушадан тыс везикулалар болады, олар сүт бездерімен шығарады және анадан жаңа туылған нәрестеге ақпаратты берудің жаңа жолы механизмі ретінде танылуда. Бұл зерттеуде жасушадан тыс везикулалар тығыздық градиентті ультрацентрифуцияны қолдана отырып, Қазақстанның *C. dromedarius*, *C. bactrianus* және гибридтердің сүтінен бөлініп алынды. Везикулалар трансмиссиялық электронды микроскопия көмегімен бейнеленді және нанобөлшектерді бақылаудың көмегімен сипатталды. Тазартылған жасушадан тыс везикулалардың диаметрі 25-тен 170 нм-ге дейін аралықта табылды, олардың мөлшері $9,5 \cdot 10^8$ - $4,2 \cdot 10^{10}$ бөлшектер бір мл сүтінде кездеседі. Классикалық және протеомикалық тәсілдерді біріктіре отырып, түйе сүтінің везикулаларына кешенді протеомикалық анализ жасалды. Анализ барысында әр түрлі биологиялық процестерге қатысты 1010 түрлі белоктар анықталды, оның ішінде кішкентай везикулаларға байланысты әсіресе маркерлер көп. Нәтижесінде түйе сүтінің жасушадан тыс везикулалары экзосомалық белоктармен ерекше байытылған. Осындай белоктардың ішінде биологиялық процестер бойынша ең көп таралған белоктар экзосомалардың синтезі мен секрециясымен байланысты болды. Оның ішінде ерекше көп кездесетін поли РНК және АТФ байланыстыру, белок байланыстыру және рибосоманың құрылымдық құрамы сияқты молекулалық функцияларға қатысады.

Түйін сөздер: түйе сүті, экзосомалар, жасушадан тыс везикулалар, протеом.

Сокращения и обозначения

ЖХ-МС/МС – жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрии, РНК – рибонуклеиновая кислота, ГТФазы – на английском GTPases – большое семейство ферментов гидролаз, которые связывают и гидролизуют гуанозинтрифосфат.

Введение

Молоко является единственным источником питательных веществ для новорожденного и грудного ребенка, а также важным средством передачи иммунных компонентов от матери к новорожденному, иммунная система которого только начинает свое становление. Молоко является сложной биологической жидкостью, в которой обнаружены надмолекулярные структуры (мицеллы казеина и глобулы молочного жира) после минералов, витаминов и растворимых белков (белков молочной сыворотки). Молоко также является источником доставки молекул через экзосомы и/или микровезикулы,

которые действуют на иммунную модуляцию новорожденных благодаря их специфическим белкам и генетическому материалу, несущие широкий спектр соединений с биологической активностью. РНК содержащаяся в этих везикулах может передаваться из одной клетки в другую посредством межклеточной коммуникации (Colombo, Raposo, and Théry 2014). По этой причине экзосомы считаются потенциальными носителями межклеточной коммуникации, способными передавать сообщения сигнальных молекул, нуклеиновых кислот и патогенных факторов (Kabani and Melki 2016). Если учесть, что внеклеточные везикулы, выделенные из молока, содержат микроРНК, то эти везикулы должны быть признаны в качестве другого важного биологически активного компонента молока, который может участвовать в передаче иммунных компонентов от матери к новорожденному. Также такой переход микроРНК представляет собой источник факторов, потенциально ответственные за свойства, приписываемые молоку за его лечебные и терапевтические свойства для здоровья потребителей.

Везикулы классифицируются в зависимости от субклеточных источников на три основных суб-типа: микровезикулы, экзосомы и апоптические тела. Экзосомы представляют наименьшую популяцию среди экзосом диаметром от 30 до 150 нм (Hgomada et al. 2017). Они образуются в виде прозрачных пузырьков внутри мультивезикулярных тел в эндосомальном компартменте во время созревания ранних, поздних эндосом и высвобождаются во внеклеточную среду при сливании этих компартментов с плазматической мембраной (van der Pol et al. 2012). Связанные с мембраной трансмембранные белки и РНК избирательно включаются во внутрисветлый пузырек эндовезикулярной экзосомы или в микровезикулы, отщепляющиеся от плазматической мембраны. Найденные во всех биологических жидкостях экзосомы несут различное содержимое в зависимости от способа биогенеза, типа клеток и физиологического состояния (Abels and Breakefield 2016).

Таким образом, цель данного исследования была разработка методов выделения экзосом, получение фундаментальных представлений и характеристик экзосом верблюжьего молока *C. dromedarius*, *C. bactrianus* и гибридов Алматин-

ской, Туркестанской, Кызылординской и Атырауской областей Казахстана.

Материалы и методы исследования

Забор проб верблюжьего молока по Казахстану

В общей сложности анализы включали 179 образцов (Таблица 1), представляющие разнообразие существующего в Казахстане верблюжьего молока. Основная цель данного забора проб – снизить факторы, отличающиеся между собой, чтобы максимально увидеть различия между видами животных: одногорбые (*Camelus dromedarius*), двугорбые (*Camelus bactrianus*) или их гибриды. По гибридам в основном приоритете были животные, полученные в ходе скрещивания в первом поколении – F1. Однако, в связи с нерегулярным учетом животных, в некоторых случаях сложно было определить, являются ли животные результатом скрещивания в первом поколении.

Все дойные верблюдицы находились между 30 и 90 днем лактации. Образцы были собраны в 4 контрастных регионах страны: Алматинская, Туркестанская, Кызылординская и Атырауская области.

Таблица 1 – Забор проб верблюжьего молока по Казахстану

Область	<i>C. dromedarius</i>	<i>C. bactrianus</i>	Гибрид	Всего
Алматинская	20	13	1	34
Туркестанская	21	20	20	61
Кызылординская	16	18	20	54
Атырауская	8	21	1	30
Всего	65	72	42	179

Обезжиривание молока

Образцы цельного верблюжьего молока обезжировали путем центрифугирования (Beckman Coulter, Франция) при 3000 g в течение 30 минут при температуре 4°C для отделения жира от обезжиренного молока. Образцы замораживаются при -80 ° C (жир) и -20 ° C (обезжиренное молоко) до последующих анализов.

Экстракция внеклеточных везикул из верблюжьего молока

Образцы обезжиренного верблюжьего молока объемом 40-45 мл инкубировали при 37°C в течение 30 минут на водяной бане для усиления адсорбции свободного казеина на мицеллах ка-

зеина. Затем молоко подкисляли добавлением уксусной кислоты и для осаждения казеинов инкубировали при 37°C в течение 5 минут. Наконец, раствором ацетата натрия была проведена нейтрализация с последующим дополнительным инкубированием при комнатной температуре в течение 5 минут и центрифугированием при 1500 g в течение 15 минут при 20°C (Beckman Coulter, Франция). После супернатант фильтровали с помощью стерилизованной вакуумной системы размером 0,22 мкм, отфильтрованную сыворотку концентрировали центрифугированием при 4000 g при 20°C с использованием ультрацентрифужных пробирок Amicon 1000K до полу-

чения 3 мл конечного концентрата. Полученный ретентат подвергли ультрацентрифугированию для гранулирования внеклеточных везикул при 33 000 g в течение 1 часа 10 минут при 4°C. Затем осадок суспендировали в 500 мкл раствора натрий-фосфатного буфера и добавляли к 11 мл градиенту сахарозы 5-40%. Далее полученную смесь ультрацентрифугировали при 34 000 g в течение 18 часов при 4°C. Всего было собрано 12 фракций по 1 мл. Фракции, ранее продемонстрированные как обогащенные экзосомами, суспендировали в 50 мкл натрий-фосфатного буфера и хранили при -80 °С до дальнейших анализов.

Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ)

Внеклеточные везикулы анализировали на электронном микроскопе в виде целых пузырьков нанесенных на медные/углеродные сетки в течение 5 минут, затем концентрировали в течение 10 секунд в среде с 1% уранилацетатом. Сетки исследовали с помощью электронного микроскопа Hitachi HT7700 (Elexience, Франция) и изображения получали с помощью камеры с дополнительным прибором зарядовой связи.

Анализ отслеживания наночастиц

Распределение размеров и концентрации внеклеточных везикул измеряли с помощью NanoSight (NS300) (Malvern Instruments Ltd., Малверн, Вустершир, Великобритания) в соответствии с инструкциями производителя. Монохроматический лазерный луч при длине волны 405 нм пропускали через разбавленную суспензию везикул. Температура образца полностью программируется с помощью программного обеспечения NTA (версия 3.2 Dev Build 3.2.16). Было снято 30-секундное видео с частотой 30 кадров в секунду и анализом движения частиц с помощью программного обеспечения NTA.

Электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (SDS-PAGE)

Фракции, потенциально содержащие внеклеточные везикулы, разгоняли на электрофореze белков в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (SDS-PAGE) с использованием 4-15% предварительно подготовленных гелей Mini-PROTEAN® TGXTM (Bio-Rad, Франция). Образцы готовили с использованием лизирующего буфера Лэммли с β-меркаптоэтанолом и денатурировали при 100°C в течение 15 минут (Laemli, 1970). Разделение проводили в вертикальном электрофорезном аппарате (Bio-Rad, Франция). После электрофореза гели окрашивали реагентом кра-

сителем QuickStart™ Брэдфорд (Biorad) 1X и сканировали с помощью ImageScanner III (Epson Expression™ 10 000 XL, Швеция).

Протеомный анализ

Для оценки концентрации общих внеклеточных везикул был использован анализ белка Coomassie Brilliant Blue. Поглощение при 595 нм измеряли с использованием спектрофотометра (Shimadzu, Япония). Стандартная эталонная кривая была сделана с коммерческим бычьим сывороточным альбумином 1 мг / мл (Thermo Fischer Scientific, США).

Восстановление дисульфидных мостиков белков инкубировали при 37°C в течение одного часа с дитиотреитолом (Sigma, США), в то время как алкилирование свободных остатков цистеинила йодацетамидом (Sigma, США) при комнатной температуре в течение 45 минут в полной темноте. После того как кусочки геля были дважды промыты, сначала 100 мкл 50% ацетонитрила/50 мМ гидрокарбоната аммония, а затем 50 мкМ ацетонитрила, они были тщательно высушены. Гидратацию проводили при 37°C в течение 12 часов с использованием расщепляющего буфера 400 нг лизин-С протеазы + трипсина. При этом пептиды экстрагировали 50% ацетонитрил/0,5% трифторуксусной кислотой, а затем 100% ацетонитрилом. Пептидные растворы сушили в концентраторе и растворяли в 70 мкл 2% ацетонитрила в 0,08% трифторуксусной кислоте.

Идентификацию пептидов проводили с использованием наносистемы RSLC UltiMate™ 3000 (Thermo Fisher Scientific, США), соединенной с масс-спектрометром QExactive (Thermo Scientific Fisher, США).

Каждый образец вводили со скоростью потока 20 мкл/мин и картридж с предварительной колонкой (C18 PepMap 100, 5 мкм, колонка: 300 мкм x 5 мм). Колонка PepMap C18 (стационарная фаза: RSLC PepMap 100, 2 мкм, колонка: 75 мкм x 150 мм). Один прогон занимал 42 минуты, включая стадии регенерации и уравнивания при 98% В.

Пептид-ионы анализировали с использованием Xcalibur 2.1, настроенной в режиме CID: 1) полное сканирование MS в QExactive с разрешением 15000 (диапазон сканирования [m / z] = 300-1,600) и 2) 8 лучших в MS/MS использует CID (35% энергии столкновения) в ионной ловушке. Анализируемые состояния нагрузки были установлены на 2-3, динамическое исключение – на 30 с, а порог интенсивности был установлен на 5,0 × 10².

Необработанные данные были преобразованы в mzXML с помощью MS convert (ProteoWizard версия 3.0.4601). Использовалась база данных UniProtKB Cetartiodactyla (157 113 записей белков, версия 2015), в сочетании с базами данных о загрязнителях проводился поиск по алгоритму X! TandemPiledriver (версия 2015.04.01.1) с помощью программного обеспечения X! TandemPipeline (версия 3.4), разработанного платформой PAPPISO (<http://rapprso.inra.fr/bioinfo/>). Белки были протестированы с допуском по массе 10 ppm и допуском по массовому фрагменту 0,5 Да. Правила ферментативного расщепления были установлены для расщепления трипсином («после R и K, если P не следует непосредственно после»), и не допускались правила полуферментативного расщепления. Окисление метиламина и метионина рассматривалось как потенциальная модификация с E-значением 0,05, E-значением белка -2,6 и минимум двумя пептидами.

Биоинформатика и анализ функционального обогащения

Анализ функционального обогащения на экзосомы, полученных из верблюжьего молока, был выполнен с использованием онлайн-программного обеспечения для аннотации генов «База данных для аннотаций, визуализации и комплексного обнаружения (DAVID)», версия 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp/>).

Результаты исследований

Экстракция внеклеточных везикул из верблюжьего молока

Внеклеточные везикулы или экзосомы можно выделить различными методами: ультрацентрифугирование, фильтрацию, иммуноаффинное выделение и техническую микрофлюидику (Witwer et al. 2013). При выборе метода ультрацентрифугирования основное руководство основывалось на степени чистоты и концентрации экзосом. Общие протоколы выделения экзосом из супернатантов клеточных культур и жидкостей организма включают стадии дифференциального ультрацентрифугирования и дальнейшей очистки в градиенте плотности сахарозы (Zonneveld et al. 2014). В настоящее время доступны коммерчески производственные наборы для выделения экзосом; однако они не адаптированы для образцов молока, тем более такого экзотического вида молока как верблю-

жье. Выделение экзосом из молока осложняется составными компонентами молока, которые значительно различаются у разных видов в зависимости от стадии лактации, физиологического состояния и состояния здоровья.

В нашем исследовании для выделения экзосом из молока верблюдиц был выполнен «золотой стандарт», включающий дифференциальное ультрацентрифугирование с градиентом по плотности сахарозы. Сначала дифференциальным ультрацентрифугированием смесь была очищена от молочного жира, клеток и «клеточного мусора». Добавленный в градиент сахарозы ресуспендированный осадок ультрацентрифугировали для его разделения и концентрации внеклеточных везикул. После полученные фракции, обогащенные экзосомами, были объединены от 10 до 12.

Морфология экзосом выделенных из верблюжьего молока

Метод, включающий дифференциальное ультрацентрифугирование с ультрацентрифугированием в градиенте плотности, известен, как подходящий для эффективного выделения и очистки экзосом более высокого качества с интактной нативной морфологией (Yamada et al. 2012). Чтобы визуализировать и охарактеризовать морфологию и распределение по размерам молочных экзосом, нами проведены анализ просвечивающей электронной микроскопии и анализ отслеживания наночастиц.

Во всех проанализированных пробах молока наблюдается высокое содержание гомогенной популяции внеклеточных везикул, обогащенных сферическими экзосомами, со средним выходом с $9,49 \times 10^8 - 4,18 \times 10^{10}$ частиц на миллилитр.

Средние размеры везикул варьировались от 25 до 170 нм в диаметре. Классическая морфология внеклеточных везикул была отмечена без достоверных различий между образцами *C. dromedarius*, *C. bactrianus* и гибридами (Рисунок 1).

Такие результаты подтверждают, выделение экзосом с высокой чистотой, более высокого качества с интактными морфологическими структурами. На основании более ранних наблюдений, описанных для молока одногорбых верблюдиц (Yassin et al. 2016) и молока других видов, таких как коровье (Reinhardt et al. 2013), свиное (Chen et al. 2016), кобылье (Sedykh et al. 2017) и грудное (Admyre et al. 2007), полученные характеристики для молока *Camelus* кажутся об-

щими для внеклеточных везикул между видами. Таким образом, можно сделать вывод, что метод дифференциального ультрацентрифугирования

с ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы привел к эффективной и надежной экстракции экзосом из верблюжьего молока.

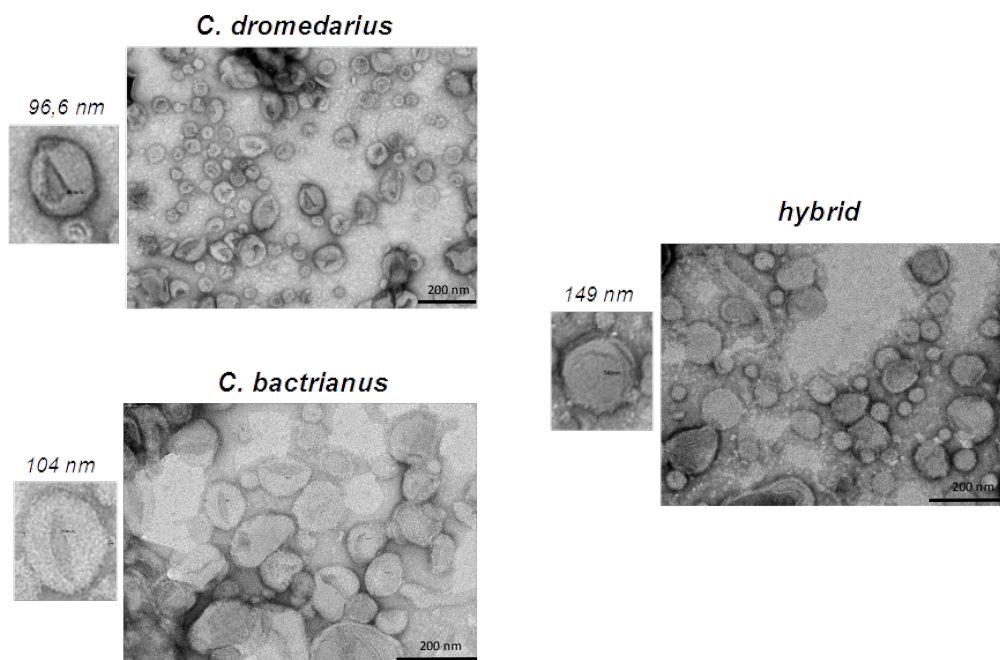


Рисунок 1 – Репрезентативные электронные микрофотографии экзосом *C. dromedarius*, *C. bactrianus* и гибридов, полученных из верблюжьего молока. Шкала увеличения состояла из а) 1 мкм, б) 500 нм, в) 200 нм.

Углубленный протеомный анализ экзосом верблюжьего молока

Специфический белковый состав позволяет охарактеризовать внеклеточные везикулы. Для идентификации белков экзосом верблюжьего молока были проведены обширные анализы, включающие разделение в одномерном геле электрофорезе, расщепление трипсином, ЖХ-МС/МС (Exactive Q, Thermo Fisher Scientific, США) и работа с поиском в международных базах данных как было описано Ryskalieva et al, 2018.

В настоящее время в экзосомах грудного молока было идентифицировано в общей сложности 1 963 белка, а в экзосомах коровьего молока было описано 2 107 отдельных белков (Reinhardt et al. 2012). В ходе наших исследований в экзосомах 15 проб верблюжьего молока (*C. bactrianus*, n = 5, *C. dromedarius*, n = 5, и гибридов, n = 5) было обнаружено в общей сложности 1 010 функциональных групп белков. Среди них доля пептидов, общих для трех видов составляет 890 белков, при том, что существуют определенное количество белков, различающих три вида, ко-

торые являются характерными для *C. bactrianus* – 31 белков, для *C. dromedarius* – 5 белков, а для гибридов – 12 белков. Используя базу данных UniprotKB по таксономии Cetartiodactyla (SwissProt + Tremor), белки были идентифицированы как достоверно совпадающие с белками в базах данных белков *Camelus* (*C. dromedarius*, *C. bactrianus* и *C. ferus*), а также с другими видами млекопитающих, такими как *Lama glama*, *Lama guanicoe*, *Bos taurus*, *Bos mutus*, *Sus scrofa* и *Ovis aries* и другие (Ryskalieva et al, 2019).

Протеомные исследования экзосом верблюжьего молока в данной работе существенно шире по сравнению с трудами ранних работ по верблюжьему молоку. Ранее 391 функциональные группы белков были идентифицированы из 8 образцов верблюжьего молока с использованием менее чувствительного ЖХ-МС/МС (LTQ Orbitrap XLTM Discovery, Thermo Fisher Scientific) анализа, из которых 235 функциональных групп выявлены общими для всех трех видов образцов: бактрианов, дромедаров и гибридов. Пока на данной стадии развития исследований в данной области сложно утверж-

дать какие из двух данных наиболее достоверны. Прежде всего, хотелось бы дополнить, что большинство таких приборов, как анализатор Q Exactive (Q Exactive vs LTQ Orbitrap), с точки зрения чувствительности, значительно улучшил масс-спектрометры Orbitrap.

Экзосомы – богатый источник потенциальных биомаркеров молока

Выделение экзосом из молока осложняется высоким содержанием липидов в молоке (Witwer et al. 2013). Липиды высвобождаются в молоке в виде жировых шариков эпителиальными клетками молочной железы. Эти жировые шарики представляют собой капли липидов, окруженные сложным трехслойным фосфолипидным белком, содержащим белки и гликопротеины, и, таким образом, представляют собой тип внеклеточных везикул. Мембраны жировых шариков в значительной степени неоднородны по размеру, а их плавучая плотность отличается от плотности экзосом. Однако из-за их происхождения в плазматической мембране, везикулярной природы и высокого содержания в молоке, мембраны жировых глобул могут быть выделены вместе с другими популяциями внеклеточных везикул, присутствующими в молоке. Как и ожидалось, экзосомы верблюжьего молока в основном обогащены белками мембран жировых глобул, связанными с молоком, такими как синтаза жирных кислот, лактадгерин или белок мембраны жировых шариков молока, бутирофилин и ксантиндегидрогеназа. Указанные белки: синтаза жирных кислот, лактадгерин или белок мембраны жировых шариков молока, бутирофилин являются отрицательными ко-стимулирующими молекулами, ингибирующими противоопухолевые иммунные ответы, которые стали новыми целями в развитии исследований влияния рака и иммунотерапии (Kuhajda 2000).

Экзосомы верблюжьего молока высоко обогащены повсеместными, клеточно-специфическими и цитозольными белками, включая белки, связанные с эндосомным путем, который был вовлечен в экзогенный биогенез. Все популяции экзосом экспрессируются в избытке Rab ГТФазой, а именно таких как RAB1A, RAB11B, RAB5C, RAB18, RAB2A, RAB7A и RAB21. Rab ГТФаза являются ключевыми регуляторами внутриклеточного транспорта мембран, от образования транспортных пузырьков до их слитых мембран. Кроме того, экзосомы, полученные из верблюжьего молока, значительно обогащены определенными многофункциональными белками, такими как Alix -программируемая

гибель клеток, взаимодействующий с 6 белками PDCD6IP и TSG101 – чувствительный 101 ген к опухоли. Считается, что эти эндосомные сортировочные комплексы, необходимые для белковых компонентов транспорта (ESCRT) в процессе везикулярного транспорта, являются специфическим экзосомно-сегрегированным биомаркером во время его биогенеза (Samuel et al. 2017). Недавно стало известно, что синдекансинтенин-ALIX является важным регулятором мембранного транспорта и передачи сигналов с помощью гепарансульфата, который влияет на патологические процессы, включая рак, распространение прионов, воспаление, отложение амилоидов и нейродегенеративные заболевания (Baletti et al. 2012). Более того, белки HSP70 и HSP90, участвующие во врожденных иммунных реакциях и презентации антигенов, участвуют в протеинкиназах сигнальной трансдукции и 14-3-3 белках, а также метаболические ферменты, такие как пероксидазы, пируваткиназы и α-енолаза тоже были обнаружены среди белков экзосом верблюжьего молока. Белки клеточной мембраны, такие как МНС I и МНС II, демонстрирующие природу анализируемых материалов, а также тубулин, актин и актин-связывающие белки были также высоко выражены в экзосомах верблюжьего молока.

Белки в протеоме многих препаратов экзосомных мембран могут просто отражать содержание белка в клетках, другие специфически обогащены экзосомами и поэтому могут быть определены как специфичные для экзосом маркерные белки. Помимо обеспечения питания для потомства, эти белки играют роль в межклеточной коммуникации посредством передачи биомолекул между клетками. Однако в настоящее время неизвестно, происходят ли экзосомы, обнаруженные в молоке, из иммунных клеток поступающих и присутствующих в молоке, из эпителиальных клеток молочной железы, из циркулирующих клеток, поступающих из других частей тела, или из видов бактерий, присутствующих в молочной железе при легкой хронической инфекции (например субклинический мастит).

Доступные протеомные исследования определяют специфические маркеры экзосом (мембранные и цитозольные белки) и специфическую подгруппу клеточных белков, которые специфически нацелены на экзосомы, функции которых до сих пор остаются неизвестными. Это особенно интересно в связи с их возможным участием в заболеваниях человека. Знание экзо-

сомной протеомики может помочь не только в их биологической роли, но также и в предоставлении новых биомаркеров (Raimondo et al. 2011). Среди наиболее важных белков в экзосомах – тетраспанины, которые играют главную роль в формировании экзосом и участвуют в процессах морфогенеза, деления и слияния. Недавно тетраспанины CD9, CD63 и CD81 были определены как новые маркеры, характеризующие гетерогенные популяции субтипированных внеклеточных везикул, присутствие которых, включая белки CD82 и TSPAN14, было подтверждено в экзосомах верблюжьего молока. Однако некоторые образцы экзосом были проанализированы на CD63. Ранее было известно об отсутствии этого тетраспанина в секретируемых экзосомах некоторыми клетками, а также сообщалось о наличии CD81- или CD9-несущих экзосом (Kowal et al. 2016).

Биоинформатика и анализ функционального обогащения

Для более обширного представления о субклеточном происхождении идентифицированных белков был проведен анализ «ген-ГО» с

использованием ресурсов биоинформатики DAVID 6.8. Выделенные нами экзосомы верблюжьего молока и образцы молока существенно обогащены внеклеточными экзосомными белками – 31,09% против 35,41% соответственно (Рисунок 2). Цитоплазматические белки – 19,58% экзосомных против 14,58% молочных белков, составляют доминирующую группу белков экзосом и верблюжьего молока (13,24% против 15,62% молока). Около 13,24% и 12,50% являются мембранными белками, идентифицированными в молочных верблюжьих молочных железах и пробах молока, соответственно. Мембранные белки-переносчики представляют собой белки Rab, которые принадлежат к подсемейству Ras малых ГТФаз. Функцией этих белков является центральная регуляция почкования везикул, их подвижности и слияния. Они играют роль в процессах эндоцитоза, транзитоза и экзоцитоза. Кроме того, некоторые мембранные белки внутриклеточных органелл, такие как цитозоль, митохондрия и аппарат Гольджи, высоко экспрессируемы во внеклеточные везикулы, полученных из проб верблюжьего молока.

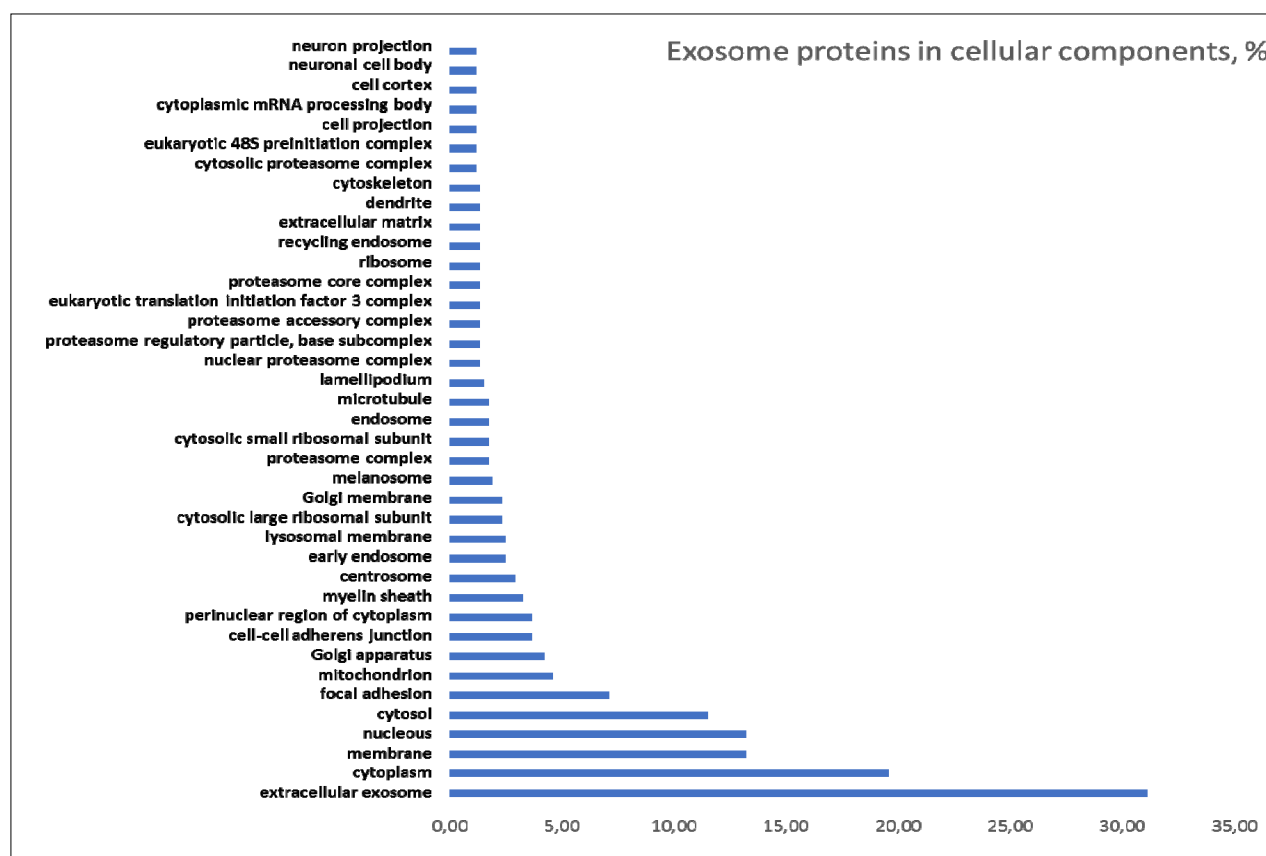


Рисунок 2 – Функциональные аннотации верблюжьего молока и молочных внеклеточных везикул, классифицированных по клеточным компонентам с использованием ресурсов биоинформатики DAVID 6.8.

Затем мы классифицировали белки, экспрессируемые в экзосомах верблюжьего молока, в соответствии с их биологическими процессами, молекулярными функциями и путями KEGG. Белки экзосом, полученные из верблюжьего молока, в основном связаны:

- с эндоцитозом (5,57%),
- инфекцией вируса Эпштейна-Барра (4,03%),
- рибосомами (3,84%),
- протеасомами (3,45%),
- транспортом РНК
- вирусным канцерогенезом (2,50%) среди путей KEGG.

Известно, что экзосомы обладают широким разнообразием иммуномодулирующих свойств. В-клетки, трансформированные вирусом Эпштейна-Барра (EBV), способны стимулировать CD4 + Т-клетки антигенно-специфическим образом (Keller et al. 2006).

Наблюдаемые белки внеклеточных везикул задействованы в 26 терминах биологического процесса (Рисунок 3). Распространенные био-

логические процессы белков экзосом связаны с синтезом экзосом и процессами их секреции:

- внутриклеточный транспорт белков (5,57%),
- трансляция (3,45%),
- клеточная адгезия и транспорт белков (3,26%),
- поступательная инициация.

Экзосомы все чаще признаются в качестве посредников межклеточной коммуникации благодаря их способности сливаться и передавать репертуар биоактивного молекулярного содержимого (груза) клеткам-реципиентам. Кроме того, белки экзосом в основном участвуют в клеточных функциях, таких как связывание поли(А)РНК и АТФ (9,60%), связывание белков и структурные компоненты рибосом (3,65%). Около 3,84% белков связаны с функцией связывания ГТФ, регулирующей процесс мембранно-везикулярного транспорта. Белки, экспрессируемые в экзосомах, полученных из верблюжьего молока, были разделены на 34 различных пути KEGG.

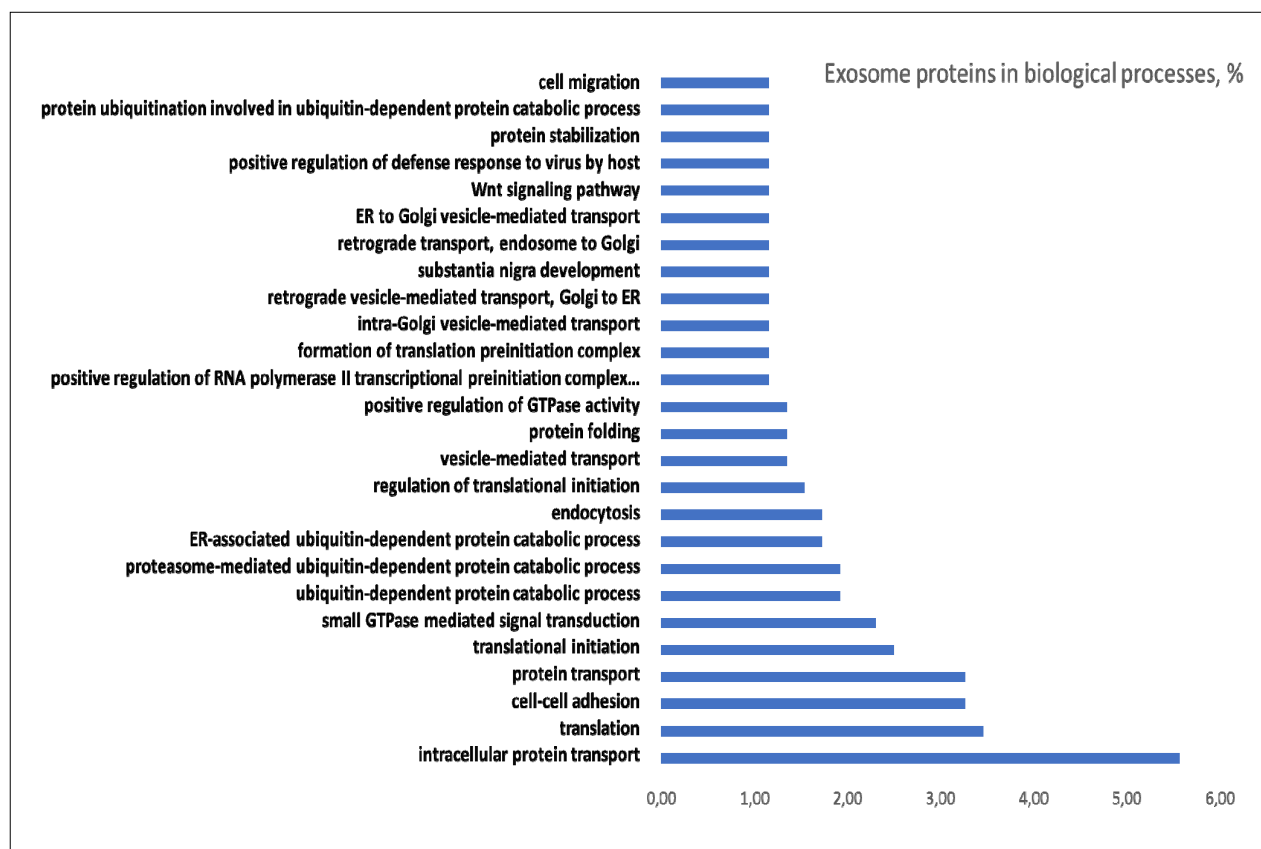


Рисунок 3 – Анализ обогащения белков неклеточных везикул верблюжьего молока, классифицированных по биологическим процессам с использованием ресурсов биоинформатики DAVID 6.8.

За последнее десятилетие экзосомы широко используются в качестве биологических нановезикул для разработки новых диагностических и терапевтических биомаркеров при различных заболеваниях (Kanada et al. 2015). МНС-пептидные комплексы экзосом, секретируемые дендритными клетками, обеспечивают эффективную активацию Т-лимфоцитов, демонстрируя тем самым иммунотерапевтический потенциал в качестве промоторов адаптивных иммунных реакций (Keller et al. 2006). Недавние исследования показали, что полученные из коровьего молока экзосомы выступают в качестве носителя для химиотерапевтических/химиопрофилактических средств против ксенотрансплантатов опухоли легких *in vivo* (Munagala et al. 2016). Тем не менее, трудно оценить их физиологическую значимость, поскольку их происхождение, механизмы биогенеза и секреции остаются до сих пор малоизученными, от этого загадочными.

Заключение

Новизна результатов состоит в исследованиях на таких биологических объектах как двугорбые верблюды и гибриды. Впервые проведены исследования по выделению и характеристике внеклеточных везикул молока трех видов верблюдов. Также впервые проведен протеомный анализ белков внеклеточных везикул верблюжьего молока. Проведена первичная классификация на определение происхождения экзосомных белков в экзосомах.

Используя оптимизированный метод выделения, мы получили внеклеточные везикулы молока верблюдиц (*C. dromedarius*, *C. bactrianus* и гибриды) Алматинской, Туркестанской, Кызылординской и Атырауской областей Казахстана. Анализ ЖХ-МС/МС позволил идентифицировать 1010 различных белков, представляющие собой первый комплексный протеом внеклеточных везикул верблюжьего молока, который значительно шире протеома самого молока. Как упомянуто ранее, у других видов внеклеточных везикул верблюжьего молока содержатся белки, также присутствующие в других компонентах молока. Это особенно относится к лактадгерину (основной компонент мембран жировых шариков – MFG-E8), Ras-связанным белкам или CD9. Наши результаты убедительно свидетельствуют о том, что полученные из молока экзосомы имеют различное клеточное происхождение.

Действительно, помимо экзосом, происходящих из эпителиальных клеток молочной

железы, существуют экзосомы из иммунных клеток, полученных из молока. Если учесть, что полученные из молока экзосомы также несут микроРНК, эти везикулы должны быть признаны в качестве еще одного важного биологически активного компонента молока, который может участвовать в передаче сигналов от матери новорожденному, а также является источником факторов, потенциально ответственных за свойства, относящихся к верблюжьему молоку и его легендарным лечебным свойствам для потребителей.

Ранее установлены специфические маркеры внеклеточных везикул (мембранные и цитозольные белки) и специфические подгруппы клеточных белков, нацеленных специфически на экзосомы, функция которых до сих пор остается неизвестной. Это особенно интересно в связи с их возможным участием в заболеваниях человека. Следовательно, знание экзосомной протеомики может помочь не только в понимании их биологических ролей, но и в предоставлении новых биомаркеров.

Большая часть потребителей верят в легендарные лечебные свойства верблюжьего молока. При том, что объективных данных об их терапевтических свойствах нет люди верят и готовы покупать продукцию из верблюжьего молока по более высокой цене, чем из коровьего молока. Поэтому важно продолжать исследования в области верблюжьего молока на фундаментальном уровне. Рано или поздно фундаментальные знания о верблюьем молоке смогут объяснить многие технологические, терапевтические и органолептические его свойства (Konuspayeva 2019).

Благодарности

Группа авторов благодарит за поддержку руководство ТОО НПП Антиген, в лице проф. Ахметсадыкова Н.Н.

Источник финансирования

Данное исследование финансируется Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан – грант № AP05134760 «Протеомные исследования экзосом молока *Camelus bactrianus* и *Camelus dromedarius*».

Конфликт интересов

Отсутствует.

Литература

- 1 Colombo, Marina, Graça Raposo, and Clotilde Théry. 2014. "Biogenesis, Secretion, and Intercellular Interactions of Exosomes and Other Extracellular Vesicles." *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 30 (1): 255–89. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122326>.
- 2 Kabani, Mehdi, and Ronald Melki. 2016. "More than Just Trash Bins? Potential Roles for Extracellular Vesicles in the Vertical and Horizontal Transmission of Yeast Prions." *Current Genetics*. <https://doi.org/10.1007/s00294-015-0534-6>.
- 3 Hromada, Carina, Severin Mühleder, Johannes Grillari, Heinz Redl, and Wolfgang Holnthoner. 2017. "Endothelial Extracellular Vesicles—Promises and Challenges." *Frontiers in Physiology*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00275>.
- 4 Pol, E. van der, A. N. Boing, P. Harrison, A. Sturk, and R. Nieuwland. 2012. "Classification, Functions, and Clinical Relevance of Extracellular Vesicles." *Pharmacological Reviews* 64 (3): 676–705. <https://doi.org/10.1124/pr.112.005983>.
- 5 Abels, E. R., & Breakefield, O. (2016). Introduction to Extracellular Vesicles: Biogenesis, RNA Cargo Selection, Content, Release, and Uptake. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 36(3), 301–312. <https://doi.org/10.1007/s10571-016-0366-z>
- 6 Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–685. doi:10.1038/227680a0
- 7 Witwer, Kenneth W., Edit I. Buzás, Lynne T. Bemis, Adriana Bora, Cecilia Lässer, Jan Lötvall, Esther N. Nolte-’t Hoen, et al. 2013. "Standardization of Sample Collection, Isolation and Analysis Methods in Extracellular Vesicle Research." *Journal of Extracellular Vesicles*. <https://doi.org/10.3402/jev.v2i0.20360>.
- 8 Zonneveld, Marijke I., Alain R. Brisson, Martijn J.C. van Herwijnen, Sisareuth Tan, Chris H.A. van de Lest, Frank A. Re-degeld, Johan Garssen, Marca H.M. Wauben, and Esther Nolte t.N.M. Hoen. 2014. "Recovery of Extracellular Vesicles from Human Breast Milk Is Influenced by Sample Collection and Vesicle Isolation Procedures." *Journal of Extracellular Vesicles*. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.24215>.
- 9 Yamada, Tetsuya, Yasuo Inoshima, Tsukasa Matsuda, and Naotaka Ishiguro. 2012. "Comparison of Methods for Isolating Exosomes from Bovine Milk." *Journal of Veterinary Medical Science* 74 (11): 1523–25. <https://doi.org/10.1292/jvms.12-0032>.
- 10 Yassin, Aya M., Marwa I. Abdel Hamid, Omar A. Farid, Hassan Amer, and Mohamad Warda. 2016. "Dromedary Milk Exosomes as Mammary Transcriptome Nano-Vehicle: Their Isolation, Vesicular and Phospholipidomic Characterizations." *Journal of Advanced Research* 7 (5): 749–56. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.10.003>.
- 11 Reinhardt, Timothy A., Randy E. Sacco, Brian J. Nonnecke, and John D. Lippolis. 2013. "Bovine Milk Proteome: Quantitative Changes in Normal Milk Exosomes, Milk Fat Globule Membranes and Whey Proteomes Resulting from Staphylococcus Aureus Mastitis." *Journal of Proteomics* 82: 141–54. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.02.013>.
- 12 Chen, Ting, Mei Ying Xie, Jia Jie Sun, Rui Song Ye, Xiao Cheng, Rui Ping Sun, Li Min Wei, et al. 2016. "Porcine Milk-Derived Exosomes Promote Proliferation of Intestinal Epithelial Cells." *Scientific Reports* 6. <https://doi.org/10.1038/srep33862>.
- 13 Sedykh, Sergey E., Lada V. Purvinish, Artem S. Monogarov, Evgeniya E. Burkova, Alina E. Grigor’eva, Dmitrii V. Bulgakov, Pavel S. Dmitrenok, Valentin V. Vlassov, Elena I. Ryabchikova, and Georgy A. Nevinsky. 2017. "Purified Horse Milk Exosomes Contain an Unpredictable Small Number of Major Proteins." *Biochimie Open* 4: 61–72. <https://doi.org/10.1016/j.bio-pen.2017.02.004>.
- 14 Admyre, C., S. M. Johansson, K. R. Qazi, J.-J.r Filen, R. Lahesmaa, M. Norman, E. P. A. Neve, A. Scheynius, and S. Gabrielsson. 2007. "Exosomes with Immune Modulatory Features Are Present in Human Breast Milk." *The Journal of Immunology* 179 (3): 1969–78. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.3.1969>.
- 15 Ryskaliyeva A., Henry C., Miranda G., Faye B., Konuspayeva G., Martin P. 2018. Combining different proteomic approaches to resolve complexity of the milk protein fraction of dromedary, Bactrian camels and hybrids, from different regions of Kazakhstan. *PLoS ONE* 13(5): e0197026. 1-26. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0197026>. May 10, 2018.
- 16 Reinhardt, Timothy A., John D. Lippolis, Brian J. Nonnecke, and Randy E. Sacco. 2012. "Bovine Milk Exosome Proteome." *Journal of Proteomics* 75 (5): 1486–92. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.11.017>.
- 17 Ryskaliyeva A., Henry C., Miranda G., Faye B., Konuspayeva G., Martin P. 2019. Alternative splicing events expand molecular diversity of camel CSN1S2 increasing its ability to generate potentially bioactive peptides. *Scientific reports*, 9:5243, 1-13, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41649-5>
- 18 Kuhajda, F P. 2000. "Fatty-Acid Synthase and Human Cancer: New Perspectives on Its Role in Tumor Biology." *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif.) 16 (3): 202–8. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(99\)00266-X](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(99)00266-X).
- 19 Samuel, Monisha, David Chisanga, Michael Liem, Shivakumar Keerthikumar, Sushma Anand, Ching Seng Ang, Christopher G. Adda, Ellen Versteegen, Markandeya Jois, and Suresh Mathivanan. 2017. "Bovine Milk-Derived Exosomes from Colostrum Are Enriched with Proteins Implicated in Immune Response and Growth." *Scientific Reports* 7 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06288-8>.
- 20 Baietti, Maria Francesca, Zhe Zhang, Eva Mortier, Aurélie Melchior, Gisèle Degeest, Annelies Geeraerts, Ylva Ivarsson, et al. 2012. "Syndecan-Syntenin-ALIX Regulates the Biogenesis of Exosomes." *Nature Cell Biology* 14 (7): 677–85. <https://doi.org/10.1038/ncb2502>.
- 21 Raimondo, Francesca, Lavinia Morosi, Clizia Chinello, Fulvio Magni, and Marina Pitto. 2011. "Advances in Membranous Vesicle and Exosome Proteomics Improving Biological Understanding and Biomarker Discovery." *Proteomics*. <https://doi.org/10.1002/pmic.201000422>.

22 Kowal, Joanna, Guillaume Arras, Marina Colombo, Mabel Jouve, Jakob Paul Morath, Bjarke Primdal-Bengtson, Florent Dingli, Damarys Loew, Mercedes Tkach, and Clotilde Théry. 2016. "Proteomic Comparison Defines Novel Markers to Characterize Heterogeneous Populations of Extracellular Vesicle Subtypes." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (8): E968–77. <https://doi.org/10.1073/pnas.1521230113>.

23 Keller, Sascha, Michael P. Sanderson, Alexander Stoeck, and Peter Altevogt. 2006. "Exosomes: From Biogenesis and Secretion to Biological Function." *Immunology Letters*. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2006.09.005>.





24 Kanada, Masamitsu, Michael H. Bachmann, Jonathan W. Hardy, Daniel Omar Frimannson, Laura Bronsart, Andrew Wang, Matthew D. Sylvester, et al. 2015. "Differential Fates of Biomolecules Delivered to Target Cells via Extracellular Vesicles." *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201418401. <https://doi.org/10.1073/pnas.1418401112>.

25 Munagala, Radha, Farrukh Aqil, Jeyaprakash Jeyabalan, and Ramesh C. Gupta. 2016. "Bovine Milk-Derived Exosomes for Drug Delivery." *Cancer Letters* 371 (1): 48–61. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.10.020>.

3-бөлім
**МОЛЕКУЛАЛЫҚ
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА**

Section 3
**MOLECULAR
BIOLOGY AND GENETICS**

Раздел 3
**МОЛЕКУЛЯРНАЯ
БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА**

Z.M. Biyasheva^{1,2} , M.Zh. Tleubergenova^{1,2*} ,
Y.A. Zaripova^{1,2} , D.Zh. Nurhan^{1,2} , A.M. Shaizadinova^{1,2}

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Scientific Research Institute of Problems of Biology and Biotechnology, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: tleu.madina96@gmail.com

INDUCTION OF REPORTER GENES EXPRESSION BY IONIZING RADIATION AND TOXINS INFLUENCE ON THE *DROSOPHILA MELANOGASTER* GENOME

In the human environment, there are many factors that can cause genotoxic and mutagenic effects and one of them is ionizing radiation. Radioactive substances like radon, thorium, radium and their decay products during decomposition are able to emit not only highly penetrating gamma radiation, but also form large heavy alpha-particles. Alpha-particles have a low penetrating power, but high ionization energy, about 10 times greater than gamma-rays. Consequently, we researched genotoxic effects of alpha-radiation using a test-system with reporter genes on the *Drosophila melanogaster*. In nature, the main source of alpha-particles is colorless radioactive gas radon, its isotopes and daughter decay products. It is technically difficult to create sufficiently intense and directed beams of α -radiation on the long-lived radon isotope – ²²²Rn. Therefore, for experiments was chosen the ²³⁸Pu (Plutonium) isotope, which has the necessary α -line at decay equal to 5.5 MeV. The genotoxic activity of alpha-particles was tested on *Drosophila melanogaster* with genotype containing genes of luminous proteins. Working of the genetic construction based on the GAL4-UAS system, often used in research to determine gene expression. Genotype also included GADD45 protein gene and GFP gene (green fluorescent protein). This genes combination allows to observe glow of *Drosophila* organs and tissues after stress factor impact. The sensitivity of construction was checked by chemical mutagen cisplatin, which led to the larvae death at high concentrations, and caused glow of organs at low concentrations. The larvae were exposed to alpha-radiation for 20 hours. Preparations were analyzed on a light microscope with a blue filter and glow of the larval organs was observed. The glow intensity was depending from radiation source. In other words, higher radiation dose caused brighter glow, which correlates with synthesis of luminous protein level. This proves that alpha-radiation from radon and its decay daughter products has a genetic effect.

Key words: alpha radiation, radon, *Drosophila*, GFP, genotoxicity.

З.М. Бияшева^{1,2}, М.Ж. Тлеубергенова^{1,2*},
Ю.А. Зарипова^{1,2}, Д.Ж. Нурхан^{1,2}, А.М. Шайзадинова^{1,2}

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

²Биология және биотехнология проблемалары ғылыми-зерттеу институты, Қазақстан, Алматы қ.,

*e-mail: tleu.madina96@gmail.com

Drosophila melanogaster геномына иондаушы сәулелену мен токсиндерге ұшыраған кездегі репортерлік гендерінің экспрессиясын индукциялау

Адамның қоршаған ортасында иондаушы сәулелену сияқты генотоксикалық және мутагендік әсерлерді тудыруы мүмкін көптеген факторлар бар. Радон, торий, радий және олардың ыдырау өнімдері сияқты радиоактивті заттар ыдырау процесінде тек жоғары өтетін гамма-сәулеленуді бөліп қана қоймай, ірі ауыр альфа-бөлшектер түзе алады. Альфа-бөлшектер, кіші өткізгіш қабілеті бар болса да, гамма-сәуледен 10 есе үлкен иондаудың жоғары энергиясына ие. Осыған байланысты біз *Drosophila melanogaster* жеміс мушкасында репортер гендері бар тест-жүйені пайдалана отырып, α -сәулеленудің генотоксикалық әсерлеріне зерттеулер жүргіздік. Табиғатта альфа-бөлшектердің негізгі көзі түссіз радиоактивті газ радон, оның изотоптары және ыдыраудың еншілес өнімдері болып табылады. Радон – ²²²Rn ұзақ өмір сүретін изотопында жеткілікті қарқынды және бағытталған альфа-сәулелену шоғырын жасау техникалық қиын болғандықтан, модельдеуші эксперименттер үшін 5,5МэВ тең ыдырау кезінде қажетті альфа-желісі бар ²³⁸Pu (Плутоний) изотоп таңдалды. Альфа-бөлшектердің генотоксикалық белсенділігін

тестілеу *Drosophila melanogaster*-де, құрамында жарқырайтын ақуыз гендері бар генотипті алдын ала анықтаумен жүргізілді. Генетикалық конструкцияның жұмысы гендердің экспрессиясын анықтау үшін зерттеулерде жиі қолданылатын GAL4-UAS жүйесіне негізделген. Генотипте ДНК реттілігі бұзылғанда синтезделген GADD45 ақуыз гені және GFP (жасыл флуоресцентті ақуыз) гені болды. Гендердің бұл комбинациясы стрестік фактордың әсерінен кейін дрозофиланың органдары мен тіндерінің жылтырауын байқауға мүмкіндік береді. Алынған конструкцияның сезімталдығын алдын ала цисплатиннің химиялық мутагенінің көмегімен тексерілді, ол жоғары концентрациясы кезінде дрозофиланың дернәсілдерінің өлуіне алып келді, ал төмен концентрациясы кезінде органдардың сәулеленуін тудырды. Дернәсілдер 20 сағат ішінде альфа-сәулелену әсеріне ұшыраған. Препараттарды талдау көк сүзгішпен жарық микроскопта жүргізілді және дернәсілдер органдарының жарқырауын бақыланды. Сәулеленудің қарқындылығы сәулеленудің көзіне байланысты, яғни сәулеленудің дозасы көп болған сайын жарқыраған ақуыз синтезінің деңгейімен корреляцияланатын шам соғұрлым жарық болады. Бұл радон және оның еншілес ыдырау өнімдері дрозофила дернәсілдеріне әсер еткенде генетикалық әсері бар екенін дәлелдейді.

Түйін сөздер: альфа-сәулелену, радон, дрозофила, GFP, геноуыттылық.

З.М. Бияшева^{1,2}, М.Ж. Тлеубергенова^{1,2*},
Ю.А.Зарипова^{1,2}, Д.Ж. Нурхан^{1,2}, А.М. Шайзадинова^{1,2}

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

²Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии, Казахстан, г. Алматы

*e-mail: tleu.madina96@gmail.com

Индукция экспрессии репортерных генов при воздействии ионизирующей радиации и токсинов на геном *Drosophila melanogaster*

В окружающей среде человека существует множество факторов, способных вызывать генотоксические и мутагенные эффекты, такие как ионизирующее излучение. Так радиоактивные вещества, как радон, торий, радий и их продукты распада, в процессе разложения способны выделять не только высоко проникающее гамма-излучение, но и образовывать крупные тяжелые альфа-частицы. Альфа-частицы, обладая малой проникающей способностью, несут высокую энергию ионизации, примерно в 10 раз большую, чем гамма-лучи. В связи с этим нами были проведены исследования генотоксических эффектов α -излучения с использованием тест-системы с репортерными генами на плодовой мушке *Drosophila melanogaster*. В природе основным источником альфа-частиц являются бесцветные радиоактивный газ радон, его изотопы и дочерние продукты распада. Поскольку создавать достаточно интенсивные и направленные пучки α -излучения на долгоживущем изотопе радона – ²²²Rn технически затруднительно, то для моделирующих экспериментов был выбран изотоп ²³⁸Pu (Плутоний), имеющий необходимую α -линию при распаде равную 5,5 МэВ. Тестирование генотоксической активности альфа-частиц проводили на *Drosophila melanogaster* с предварительным конструированием генотипа, содержащего гены светящихся белков. Работа генетической конструкции основана на системе GAL4-UAS, часто используемой в исследованиях для определения экспрессии генов. В генотипе также присутствовали ген белка GADD45, синтезируемый при нарушении последовательности ДНК, и ген GFP (зеленый флуоресцентный белок). Эта комбинация генов позволяет наблюдать свечение органов и тканей дрозофилы после воздействия стрессового фактора. Чувствительность полученной конструкции заранее проверили с помощью химического мутагена цисплатина, который при высокой концентрации приводил к гибели личинок дрозофилы, а при низкой концентрации вызывали свечение органов. Личинок подвергали воздействию альфа-излучения в течение 20 часов. Анализ препаратов проводили на световом микроскопе с синим фильтром и наблюдали свечение органов личинок. Интенсивность свечения зависела от источника облучения, то есть, чем больше доза излучения, тем ярче было свечение, что коррелирует с уровнем синтеза светящегося белка. Это доказывает, что при воздействии на личинок дрозофил α -излучения от радона и его дочерних продуктов распада наблюдается генетический эффект.

Ключевые слова: альфа-излучение, радон, дрозофила, GFP, генотоксичность.

Introduction

Environmental protection takes one of the major places in the sustainable development of human so-

ciety. Genetic testing is aimed at detecting and evaluating the genetic hazard of environmental factors present in the human environment. Radioactive contamination engages a central place in the processes

of atmospheric air, water, soil pollution. Radioactive contamination is characterized by the presence of radioactive substances on the surface, in the air, in the human body or elsewhere in quantities exceeding specified levels and can cause mutagenic and carcinogenic effects. [1]. Thus, isotopes of uranium, radon and its daughter products of decay (DDP) are involved in the creation of natural radiation, repeatedly and for a long time affect a person. They determine the complexity of the environment and are participants in the synergistic effects of pollutants. In this regard, to determine the possible genetic effects of physical or chemical agents, not individual tests are used, but a battery (set) of tests that meet the requirements of sensitivity and specificity [2]. Currently, systems with linked sex chromosomes have been used to account for visible mutations and recombinations, test systems with reporter genes of a luminous protein on *Drosophila melanogaster*, the “comet” method on small rodents, etc. [3].

Radon and its decay daughter products are the radioactive substances creating radioactive contamination. Radon and its DDP are sources of alpha-particles or positively charged helium nuclei that are easily retained by the human skin without penetrating the body, and have a short run, so it seems that they do not pose a danger. In nature, there are different sources of these pollutant-radioactive isotopes of uranium and radon. Radon is a gas, and therefore easily enters the human lungs along with the inhaled air and inside the body when it decomposes, it releases α -particles. Under the influence of this ionizing radiation, malignancies and various mutations may appear in the body [4]. Given this, it is undoubtedly necessary to assess the genotoxicity of the most common sources of α -radiation — radon and its daughter decay products. According to the USA Department of health, radon is the second most common (after smoking) factor that causes lung cancer of the predominantly bronchogenic type. Lung cancer caused by radon radiation is the sixth most common cause of cancer death [5, 6]. Radon radionuclides account for more than half of the total radiation dose that the human body receives on average from natural and man-made radionuclides in the environment [7].

Radon is a radioactive gas and its decay products can enter the body together with the inhaled air and this leads a significant danger to human health. Radon, also, can accumulate in residential and industrial buildings from gas and running water. Radon is released from the earth's crust everywhere; its concentration varies significantly for different points of the globe. For instance, Almaty region can

be classified as radon-dangerous territories, because of the large number of tectonic faults presence, which increase emanation of radon. For solving this problem, it is necessary to monitor state of environment, to create a system, which can determine the sources and factors of man-made impact, to identify biosphere elements which are most sensitive to impact and to evaluate the degree of this impact [8].

In this regard, environmental monitoring is a key system for ensuring the quality of the natural environment. A budding solution for environmental monitoring could be to find GFP markers which are induced in response to environmental pollution. For this reason, in this study was used the design of the two *Drosophila* lines Gadd45-Gal4 x UAS-GFP. If the Gadd45 is promoter, which strongly induced by irradiation with radioactive sources, while the Gal4 yeast protein inducing GFP expression. Accordingly, we conducted studies of the genotoxic effects of alpha radiation using a test system with reporter genes of a luminous protein on the fruit fly *Drosophila melanogaster*. Green fluorescent protein (GFP) has a number of desirable features for its use as a reporter in living cells and organisms [9] and is used to visualize gene expression in individual cells, tissues, and organs. Using the GFP reporter marker gene, it is possible to visualize the gene in body tissues without cell lysis, subsequent biochemical analysis, and distortions during tissue fixation and staining. Currently, the fluorescent protein is used as a marker in the study of genetic development programs and for solving applied problems, such as creating biosensors.

Nowadays, global environmental pollution caused by technogenic products, which increased mutagenic activity, carry the danger of exposure to genetic apparatus of living organisms. Living beings in industrial and natural conditions expose number of damaging environmental factors. Radiation and chemicals are the most dangerous and often occurring among them. Testing of chemical compounds is carried out in accordance with a number of international documents. This is the Good Laboratory Practice (GLP), a guide to preclinical (non-clinical) research by the world health organization. At the first stage of checking the genetic effects of environmental factors, relatively inexpensive short-term tests are used, which allow taking into account the frequency of occurrence of various types of genetic damage in plants, animals, and microorganisms. This is the Meller-5 *D. melanogaster* system for accounting for recessive sex-linked lethal mutations and a system for accounting for somatic recombination (mosaicism). However, new testing methods

are constantly being developed and implemented to determine the potential hazard of environmental factors. In this regard, we used *Drosophila melanogaster* genetic lines synthesized at the Institute of Molecular and Cellular Biology of SB RAS (Novosibirsk), which contained linked sex chromosomes. When using such genetic chromosomal structures, there is an effect of the position or change in the activity of the gene when changing its position in the genotype [10]. The system with linked sex chromosomes makes it possible to take into account visible newly emerging mutations in the X chromosome [11], and additional Y chromosomes in the genotype are the strongest modifiers of the position effect.

In addition to test systems using chromosomal rearrangements, reporter genes are now widely used, which can be used to register the activity of genes under the influence of a number of environmental pollutants [12]. This makes it possible to create a collection of lines that respond to a specific contaminant using a fluorescent tissue signal, which can be registered using a low-resolution fluorescent microscope. In this article, the environmental factor was taken as α -radiation, which is the basis of the radiation activity of radon gas, its isotopes, and DDP.

Materials and methods

Testing of the genotoxic activity of alpha particles was performed on *Drosophila melanogaster* with preliminary constitution of the genotype containing genes of luminous proteins. This method allows you to visually analyze the expression of the GFP gene in salivary glands, various tissues, and in the imaginal disks of drosophila under α -irradiation and determine the minimum dose of radiation.

The GAL4 / UAS system is a biochemical method based on the study of gene expression and their functions in various model organisms. This system was developed by Andre Brand and Norbert Perimon in 1993 and also is claimed to be a powerful tool for studying gene expression. There are many lines of model organisms that express GAL4 in certain tissues. Basically there are fruit fly lines, which are called the GAL4 line. Tissues of such *Drosophila* lines can be very specific. Besides, GAL4 has no significantly influence on the phenotype. The second part of the system is called reporter. These are lines of flies completely modified by reporter genes under the control of the UAS enhancer [13].

To create the genetic structure of the reporter genes of luminous proteins, the following lines were used: UAS-GFP (registration number in the

Bloomington collection-4776), GADD45-GAL4 (112149). Accordingly, males and females UAS-GFP lines contain in the autosomes the gene of green fluorescent protein (GFP) and the yeast promoter UAS; the GADD45-GAL4 genetic line has the transcription factor Gad45-Gal4 in the autosomes, where GADD45 is the driver, and the yeast protein GAL4 gene acts as a transcription activator [14].

The UAS-GFP line used contains the green fluorescent protein gene isolated from the *Aequorea victoria* jellyfish by Osama Shimomura, as well as the UAS (upstream activation sequence) obtained from the *Saccharomyces cerevisiae* yeast, which activates and enhances the transcription of the attached gene [13]. The Gadd45-Gal4 line contains a gene encoding a protein of the GADD45 family (growth arrest and DNA damage inducible 45) that participates in DNA repair processes, cell cycle arrest, apoptosis, and gene expression regulation [15, 16]. GADD45 family proteins are involved in transmitting stress signals in response to various physiological or environmental stress conditions [17], such as ultraviolet radiation, methyl methane sulfonate (MMS), or hydrogen peroxide, and various family members are involved in various reactions to cell and DNA damage [18, 19]. The GAL4 gene encodes a transcription activator protein that binds to the UAS sequence, which increases the promoter's affinity for polymerase and triggers the transcription process [13, 20].

The long-lived radon isotope ^{222}Rn was used as a source of alpha particles, which generates the main α -line with an energy of 5.5 MeV, but it is technically difficult to create sufficiently intense and directed beams of α -radon radiation on it, so for modeling experiments, three samples of the experimental spectrometric source of α -radiation were selected, containing: 1) the plutonium isotope 238 (^{238}Pu) with a radionuclide activity of $4.01 \cdot 10^4$ Bq; 2) the plutonium isotope 239 (^{239}Pu) with radionuclide activity of $3.80 \cdot 10^3$ Bq; 3) triplet (^{238}Pu , ^{239}Pu , ^{233}U) with radionuclide activity of $3.86 \cdot 10^4$ Bq. All work with flies was performed under anesthesia using sulfur ether (pro narcosi).

The experiments were held at temperature about 20-25°C. Before intercrossing, virgin females were selected beforehand from one of the crossed lines. For this reason, all the flies were removed from the test tube before obtaining virgin females. So, every 6-8 hours' drosophila virgin females were collected. In this time (6-8 hours) fruit droplets, which hatched from eggs do not acquire sexual maturity, and males of this age are unable in female fertilization. The *Drosophila* fruit fly has elongated

light body and undirected wings about first 2-3 hours after the hatching from the pupa. These signs were also taken into attention in the process of virgin females selection. The female differ from the male by body sizes (female is larger than male) and the abdomen pointed tip. Males have pigmented end of the abdomen. The males were kept separate from the females before crossing. Females and males were from different lines. The 3-5 flies of virgin females were placed in the same tube with males. These flies were parent generation. Parental specimens remained in test tubes for 4-5 days. Then after this period flies were removed from the containers and left larvae which were developed from the laid eggs. The larval phase of development begins from the larva hatching moment and continues until pupation stage (120 hours). The larval phases are divided into three periods – the first – larva I age, second – larvae II age and third – larvae III age. The adult fly's organism is mainly formed from certain groups of cells called imaginal cells. Imaginal disks are not externally differentiated and located in the larva body separately. Imaginal disc is a larva's part of body, which further develop into organs of adult *Drosophila* during pupal transformation [21].

When constructing a genotype with a reporter gene of a fluorescent protein, virgin females of the UAS-GFP line were crossed with males of the Gad45-Gal4 line. We used III age larvae, which was received after crossing the *Drosophila melanogaster* lines UAS-GFP and Gadd45-Gal4. Then this construction was exposed by radioactive decay products of radon – ^{238}Pu and ^{239}Pu , and triplet (on 20 hours), which are the source of alpha radiation. Irradiation of the larvae was carried out in special wells in which the nutrient medium was placed. For this, a nutrient medium prepared according to the generally accepted technique with a thickness of 1 mm [22] was poured onto the bottom of glass cuvettes and put 50 imago of *drosophila* were placed. The source of α -particles was above the flies at a distance of no more than 20 mm. The analyzing method of the larvae include making preparation of imaginal disks on a slide. Imaginal disks were isolated from the larvae which were obtained from the crossing of two lines of fruit fly. Then, imaginal disks were placed on a slide in a physiological solution drop and covered by a cover slip. Two preparations were prepared on a slide in the same time. The first one is a larvae after exposure to alpha radiation and second is larvae, which were not mutagenized. Therefore, larvae were prepared, salivary glands and imaginal discs were isolated for fluorescence spectroscopy.

This combination of genes allows you to observe the glow of *drosophila* organs and tissues after exposure to radiation. At 25°C, stage III larvae can be obtained as early as the fourth day after the egg is laid. In our experiment, the larvae developed at 20°C, which significantly slowed their development, so the larvae of the end of stage II and the beginning of stage III were selected for 5-6 days after crossing the parents.

Results and discussions

The major problem of genetic toxicology is the risk assessment of mutations in somatic and germ cells under the influence of environmental pollutants. Identification of potential mutagens and carcinogens for humans is the main task of testing environmental pollution, including radiation. The purpose of this assessment is the scientific justification of measures aimed at reducing population genetic risk under exposure by genotoxic compounds. Experimental methods for studying the genotoxicity of chemical compounds are called test systems. Well-known genetics and widely used methods for studying the genetic effects of radiation and alkylating super-mutagen agents are used as test systems. These include methods for accounting for chromosomal aberrations and gene mutations in vitro and in vivo systems in mammalian cells, accounting for recessive mutations in *Drosophila* and dominant lethal mutations in rodents. Modern genotoxicity testing systems mainly include methods that have proven themselves in the study of hundreds and thousands of compounds with different structures. For them, such characteristics as sensitivity and specificity are defined. They have a well-developed testing protocol and optimal characteristics for the speed of the experiment and cost-effectiveness. Recently, new methods based on new principles for detecting mutagenic and DNA-damaging effects have been finding wider application. Nowadays, there are about 200 test systems and about 20 methods that are well developed and widely used. The following living organisms have been proposed as test organisms for recording mutagenic effects: cell culture or whole organisms, prokaryotes (*Salmonella typhitrium*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*), yeast (*Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*), fungi (*Aspergillus nidulans* *craispoispoispois*), *Vicia faba*, *Tradescantia*), insects (*Drosophila melanogaster*). Currently, strict requirements are set for testing, which are determined by the regulatory provisions of a number of international documents.

These include: Good Laboratory Practice-GLP, The Organization for Economic Co-operation and Development – OECD. One of the OECD function is the development and publication of officially agreed guidelines for testing genotoxic compounds. According to OECD rule No. 477 of April 4, 1984, one of the most used mutagenicity and genotoxicity test systems is the test system based on the *Drosophila melanogaster* fruit fly [23]. For this reason, testing of the genotoxic activity of alpha particles was performed on *Drosophila melanogaster* test system based on preliminary construction of the genotype containing genes of luminous proteins GFP.

To test the sensitivity to stress of the genetic construct with the GFP reporter gene, the larvae were exposed to the chemical mutagen cisplatin. Cisplatin is a cytotoxic drug, an inorganic substance, a complex chloride-ammonia of divalent platinum,

is a strong mutagen that is also used as an antitumor drug in medicine. It has pronounced cytotoxic, bactericidal and mutagenic properties. The basis of biological properties, according to the generally accepted opinion, lies the ability to form strong specific bonds with DNA. Research methods used in this field to study the development and prevention of mutagenesis.[24] The applied two concentration of cisplatin (125 mg / ml, 500 mg / ml), for this purpose, the larvae were placed in a test tube with nutrient containing cisplatin for 24, 8 and 4 hours. After a day and 8 hours, cisplatin showed 100% lethality, and the exposure for 4 hours was zero for this indicator.

Obtaining a sensitive to stress, in our case, ionizing radiation, more precisely α -particles, genetic construction was made by crossing and using the principle of fluorescence induction, shown in figure 1.

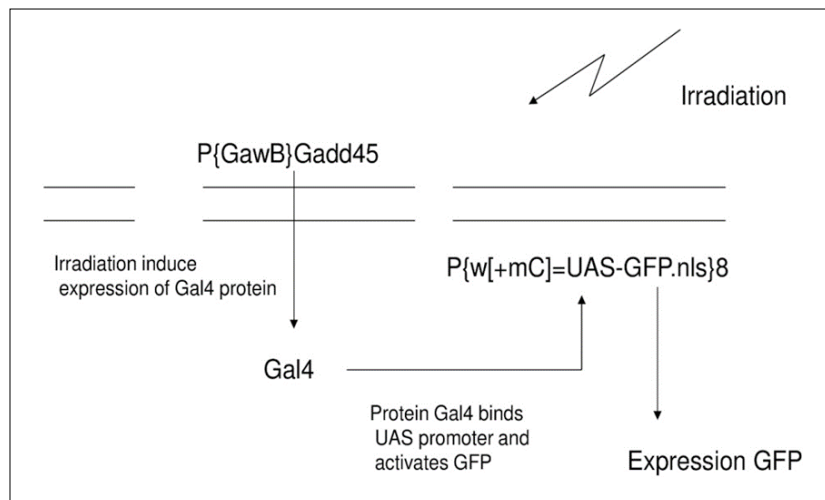


Figure 1 – The principle of operation of the genetic construction Gadd45-Gal4 + UAS-GFP exposed by α -radiation

Metal sources with the isotopes ^{238}Pu , ^{239}Pu and triplet (^{238}Pu , ^{239}Pu and ^{233}U) were used as sources of alpha particles. The absorbed dose, taking into account the weighted coefficient of α -radiation ($W\alpha \equiv 20$), was about 40-50 cGy, the time for the induction of GFP glow, which we found, was 20 hours, i.e. maximum gene expression does not occur immediately after irradiation, but one or more cell cycles are required in order to maximize the induction of repair gene activity.

After irradiation, the larvae were dissected. The analysis of the preparations was performed on a

light microscope with a blue filter ($\sim 375\text{nm}$). As a result, an image of the reporter's GFP induction in response to irradiation by different sources of alpha particles was obtained (Fig. 2).

The presented results show that the GFP reporter gene is more induced when irradiated with a ^{238}Pu source. A small glow was observed in the glands irradiated with the triplet and judging by the intensity of the glow, the ^{239}Pu isotope has a weak mutagenic activity close to that in the control, and the fluorescent protein is practically not synthesized (Fig. 3).

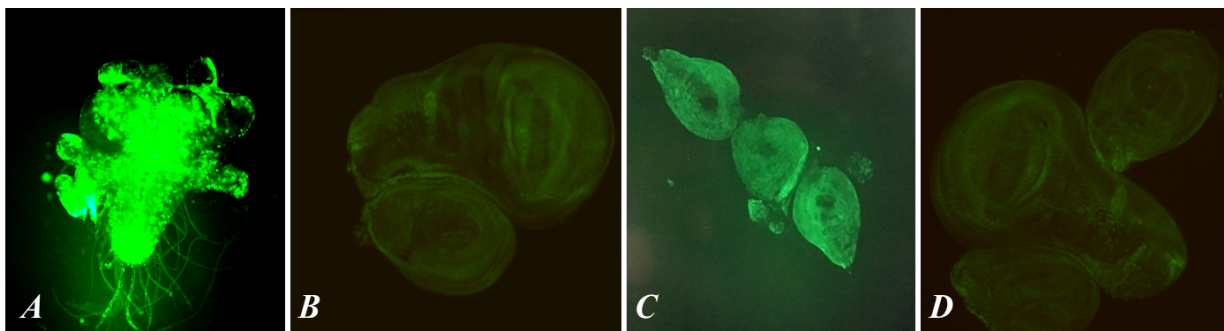


Figure 2 – Effect of α -radiation from different sources on imaginal disks of larvae: A – nervous ganglion (^{238}Pu), B – imaginal disks of a wing and legs (^{239}Pu), C – imaginal disks of legs (triplet), D – imaginal disks of a wing and legs (without irradiation)

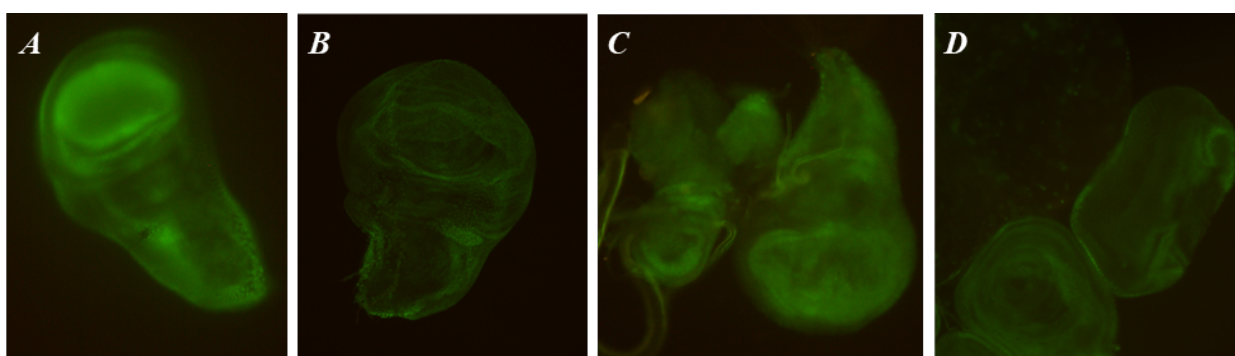


Figure 3 – Intensity of fluorescent induction depending on the source of α -radiation in the wing imaginal disks of *Drosophila melanogaster* larvae: A – ^{238}Pu , B – ^{239}Pu , C – triplet (^{238}Pu , ^{239}Pu and ^{233}U), D – control (without irradiation)

During irradiation, if DNA damage occurs, the expression of the GADD45 gene begins, which induces the synthesis of the GAL4 activator protein. The activator protein, in turn, attaches to the UAS sequence, increasing the promoter's affinity for polymerase, which leads to the beginning of transcription and synthesis of GFP in target tissues of drosophila larvae [25]. Consequently, the more GADD45 protein synthesis occurs, the more GFP is synthesized in cells. Enhanced expression of GADD45 proves that α -particles have an effect on the DNA (directly or indirectly) and cause changes which lead to activation of repair processes. A small amount of luminescence in the control related to the work of repair systems during the cell cycle. Also it connected with influence of other stressful factors, such as the temperature difference during transportation of the wells for exposure and background radiation. A high level of GFP in the organs of *Drosophila* larvae after

exposure proves that α -particles have genotoxic effects.

Therefore, the higher the radiation dose (depending on the source), the brighter the glow was, which correlates with the level of the fluorescent protein synthesis (Fig. 4). This showed that α -radiation affects the expression of the gene, i.e. it has genetic effects.

As a result of comparing the intensity of the salivary gland glow depending on the radiation source, it became clear that the isotope ^{238}Pu has the greatest mutagenic and carcinogenic activity. Also, a small glow was observed in the glands irradiated with the triplet, which also includes the isotope ^{238}Pu , but in a smaller amount. Judging by the intensity of the glow, the isotope ^{239}Pu has a weak mutagenic activity, as well as in the control, the fluorescent protein is almost not synthesized, so there is no glow. Based on this comparison, we can say that the isotope ^{238}Pu , which is the source of ionizing alpha radiation, has genotoxic properties.

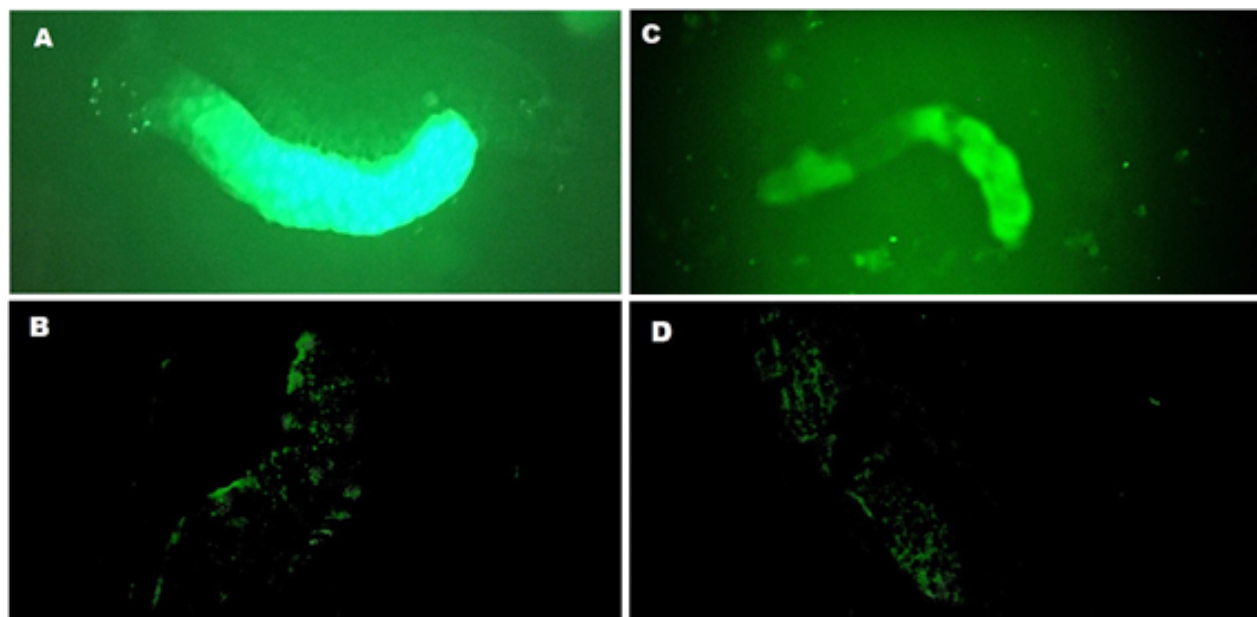


Figure 4 – Effect of α -radiation on the salivary glands of *Drosophila melanogaster*: A – ^{238}Pu , B – ^{239}Pu , C – triplet (^{238}Pu , ^{239}Pu and ^{233}U), D – control (without irradiation)

Although the radon isotope was not used in the experimental work, ^{238}Pu has a similar flux of alpha-particles (the decay energy of ^{222}Rn and ^{238}Pu is 5.5 MeV) and is substantially a pure alpha emitter. Besides, in nature there are isotopes of radon and its DDP with a higher decay energy. For this reason during the decay process of radon isotopes polonium isotopes can form, some of them are short-lived, but there are more long-lived isotopes (from several months to 100 years). DDP of radon, including polonium, can accumulate in the liver, kidneys, spleen and bone marrow. Unstable DDP of radon can ionize cells during alpha-decay, in which they accumulate. As a result of this process free radicals appear, the enzyme systems of cells are disrupted, which, possibly, leads to disruption of epigenetic processes in cells and in the progeny of irradiated cells. For example, it is known that polonium isotopes in a living organism behave like selenium, which, as a part of many enzymes, enters the active center of enzymes of the body's antioxidant-antiradical defense system, the metabolism of nucleic acids, lipids, hormones.

In such a way, radon and its DDP are sources of ionizing radiation in nature and have genotoxic properties. In our work, we used a *Drosophila melanogaster* test based on the GAL4 / UAS biochemical system. This system allowed us to visually observe GADD45 expression with the benefit of GFP reporter gene and even compare expression levels after exposure under different sources of alpha-radiation.

Conflict of interest

All authors have read and are familiar with the contents of the article and have no conflict of interest.

Funding

The work was carried out at support by the state grant financing of the fundamental research of the Republic of Kazakhstan (projects № IRN AP05133577).

References







- 1 James R. DeVoe. Radioactive Contamination of Materials Used in Scientific Research. – Washington D.C.: National Academies, 1961 – 142 p.
- 2 Бондаренко Л. В., Дукельская А. В. Методы тестирования генетической активности факторов среды (практический курс) // Экологическая генетика. – 2007. – Т. 5, №1. – С. 42-44.

- 3 Шварцман П.Ю. Индуцированный соматический мозаицизм у дрозофил как тест-система для оценки генетической активности факторов окружающей среды // Генетика. – 1975. – Т. 11, № 8. – С. 171.
- 4 Karam P. A., Stein B. P. Radioactivity. – New York: Chelsea House, 2009.
- 5 Darby, S. Radon: A likely carcinogen at all exposures // Annals of Oncology. 2001. – Vol. 2, no 10. – P. 1341-1351.
- 6 Torres-Durán M., Ruano-Ravina A., Parente-Lamelas I. et al. Lung cancer in never-smokers: a case-control study in a radon-prone area (Galicia, Spain) // Eur Respir J. – 2014. – Vol. 44, no 4. – P. 850–852. doi: 10.1183/09031936.00017114.
- 7 Effects of Ionizing Radiation. UNSCEAR 2006 Report: Vol. II. Annex E: Sources-to-effects assessment for radon in homes and workplaces. – New York, 2008.
- 8 Грачев Н.Н. Средства и методы защиты от электромагнитных и ионизирующих излучений. – М.: изд-во МИЭМ, 2005 – 215 с.
- 9 Chalfie M. et al. Green fluorescent protein as a marker for gene expression // Science. – 1994. – Vol. 263. – P. 802-805.
- 10 Дубинин Н.П., Сидоров Б.Н. Зависимость действия гена от его положения в системе // Биол. журнал. – 1934. – Т. 3. – № 2. – С. 304–331..
- 11 Жимулев И.Ф., Беляева Е.С. Гетерохроматин и эффект положения гена и генетический сайленсинг // Генетика. – 2003. Т. 39. – № 2. – С. 187-201.
- 12 Moskalev A., Shapovnikov M., Snezhkina A. et al. Mining gene expression data for pollutants (dioxin, toluene, formaldehyde) and low dose of gamma-irradiation // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, no 1. – e86051.doi.org/10.1371/journal.pone.0086051
- 13 Guarente, L. UASs and enhancers: common mechanism of transcriptional activation in yeast and mammals // Cell. – 1988. – Vol. 52. – P. 303-305.
- 14 Webster N., Jin J. R. Green S. Hollis M. Chambon P. The Yeast UASG is a transcriptional enhancer in human HeLa cells in the presence of the GAL4 trans-activator // Cell. – 1988. – Vol. 52, no 2. – P. 169–178. doi:10.1016/0092-8674(88)90505-3.
- 15 Hildesheim J., Bulavin D.V., Anver M.R., et al. Gadd45a protects against UV irradiation-induced skin tumors, and promotes apoptosis and stress signaling via MAPK and p53 // Cancer research. – 2002. – Vol. 62. – P. 7305–7315.
- 16 Liebermann D.A., Tront J.S., Sha X., et al. Gadd45 stress sensors in malignancy and leukemia // Critical reviews in oncogenesis. – 2011. – Vol. 16. – P. 129–140.
- 17 Moskalev A., Plyusnina E., Shaposhnikov M. et al. The role of D-GADD45 in oxidative, thermal and genotoxic stress resistance // Cell Cycle. – 2012. – Vol. 11, no 22. – P. 4222-4241. DOI: 10.4161/cc.22545
- 18 Liebermann D. A., Hoffman B. Gadd45 in stress signaling // J Mol Signal. – 2008. – Vol. 3. – P. 1–8.
- 19 Tamura R.E., de Vasconcellos J.F., Sarkard D., Liebermann T.A., Fisher P.B., Zerbina L.F. GADD45 proteins: central players in tumorigenesis // Curr Mol Med. – 2012. – Vol. 12. – P. 634–651.
- 20 Guarente, L., Hoar E. Upstream activation sites of the CYC1 gene of *Saccharomyces cerevisiae* are active when inverted but not when placed downstream of the “TATA box” // Proc Natl Acad Sci USA. – 1984. – Vol. 81, no 24. – P. 7860-7864.
- 21 Албертс А., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. В 3 томах. – М.: Мир, 1994, – 77 с.
- 22 Kohler R. E. Lords of the fly: *Drosophila* genetics and the experimental life. – Chicago: University of Chicago Press, 1994, – 321 p.
- 23 Абилов С.К., Глазер В.М. Мутагенез с основами генотоксикологии: Учебное пособие. – М.; СПб.: НесторИстория, 2015.– 304с.
- 24 Jamieson E. R. Lippard S. J. Structure, Recognition, and Processing of Cisplatin–DNA Adducts // Chemical Reviews. – 1999. – Vol. 99, no 9. – P. 2467-2498.
- 25 Morin X., Daneman R., Zavortink M., Chia W. A protein trap strategy to detect GFP-tagged proteins expressed from their endogenous loci in *Drosophila* // Proc Natl Acad Sci USA. – 2001. – Vol. 98, no 26. – P. 15050–15055.

References

- 1 James R. DeVoe. Radioactive Contamination of Materials Used in Scientific Research. – Washington D.C.: National Academies, (1961) 142 pp.
- 2 Bondarenko L.V., Dukel'skaya A.V. “Metody testirovaniya geneticheskoy aktivnosti faktorov okruzhayushchey sredy.” [“Testing methods for the genetic activity of environmental factors”] *Ekologicheskaya genetika* 5, no 1 (2007): 42-44. (In Russian).
- 3 Shvartsman P.Y. “Indutsirovanny somaticheskij mozaitizm u drozofily kak test-sistema dlya otsenki geneticheskoy aktivnosti faktorov okruzhayushchey sredy.” [“Induced somatic mosaicism in *Drosophila* as a test system for assessing the genetic activity of environmental factors”] *Genetika* 11, no 8 (1975): 171. (In Russian).
- 4 Karam P. A., Stein B. P. Radioactivity. New York: Chelsea House, 2009.
- 5 Darby, S. “Radon: A likely carcinogen at all exposures.” *Annals of Oncology* 2, no 10 (2001): 1341-1351.
- 6 Torres-Durán M., Ruano-Ravina A., Parente-Lamelas I. et al. “Lung cancer in never-smokers: a case-control study in a radon-prone area (Galicia, Spain).” *Eur Respir J* 44, no 4 (2014): 850–852. doi: 10.1183/09031936.00017114.
- 7 Effects of Ionizing Radiation. UNSCEAR 2006 Report: Vol. II. Annex E: Sources-to-effects assessment for radon in homes and workplaces. New York, 2008.
- 8 Grachev N.N. “Sredstva i metody zashchity ot elektromagnitnykh i ioniziruyushchikh izluchenyi.” [“Means and methods of protection against electromagnetic and ionizing radiation”]. М.: изд-во МИЭМ (2005) 215 p. (In Russian).
- 9 Chalfie M. et al. “Green fluorescent protein as a marker for gene expression.” *Science* 263 (1994): 802-805.
- 10 Dubinin N.P., Sidorov B.N. “Zavisimost' deystviya gena ot yego polozheniya v sisteme.” [“Dependence of the action of a gene on its position in the system”] *Biol zhurnal* 3, no 2 (1934): 304–331. (In Russian).

- 11 Zhimulev I.F., Belyayeva Y.S. "Geterokhromatin i effekt polozheniya gena i geneticheskiy saylensing." ["Heterochromatin and gene position effect and genetic silencing"] *Genetika* 39, no 2 (2003): 187-201. (In Russian).
- 12 Moskalev A., Shapovnikov M., Snezhkina A. et al. "Mining gene expression data for pollutants (dioxin, toluene, formaldehyde) and low dose of gamma-irradiation." *PLoS One* 9, no 1 (2014): e86051.doi.org/10.1371/journal.pone.0086051
- 13 Guarente, L. "UASs and enhancers: common mechanism of transcriptional activation in yeast and mammals." *Cell* 52 (1988): 303-305.
- 14 Webster N., Jin J. R. Green S. Hollis M. Chambon P. "The Yeast UASG is a transcriptional enhancer in human HeLa cells in the presence of the GAL4 trans-activator." *Cell* 52, no 2 (1988): 169-178. [doi:10.1016/0092-8674\(88\)90505-3](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90505-3).
- 15 Hildesheim J., Bulavin D.V., Anver M.R., et al. "Gadd45a protects against UV irradiation-induced skin tumors, and promotes apoptosis and stress signaling via MAPK and p53." *Cancer research* 62 (2002): 7305-7315.
- 16 Liebermann D.A., Tront J.S., Sha X., et al. "Gadd45 stress sensors in malignancy and leukemia." *Critical reviews in oncogenesis* 16 (2011): 129-140.
- 17 Moskalev A., Plyusnina E., Shaposhnikov M. et al. "The role of D-GADD45 in oxidative, thermal and genotoxic stress resistance." *Cell Cycle* 11, no 22 (2012): 4222-4241. DOI: 10.4161/cc.22545
- 18 Liebermann D. A., Hoffman B. "Gadd45 in stress signaling." *J Mol Signal* 3 (2008): 1-8.
- 19 Tamura R.E., de Vasconcellos J.F., Sarkard D., Liebermann T.A., Fisher P.B., Zerbina L.F. "GADD45 proteins: central players in tumorigenesis." *Curr Mol Med* 12 (2012): 634-651.
- 20 Guarente, L., Hoar E. "Upstream activation sites of the *CYC1* gene of *Saccharomyces cerevisiae* are active when inverted but not when placed downstream of the "TATA box." *Proc Natl Acad Sci USA* 81, no 24 (1984): 7860-7864.
- 21 Alberts B.A., Bray D.D., Lewis J.J. "Molecular cell biology: 3rd Edition." Garland Science (March 1994) 1408 p.
- 22 Kohler R. E. "Lords of the fly: *Drosophila* genetics and the experimental life." Chicago: University of Chicago Press (1994) 321 p.
- 23 Abilev S.K., Glazer V.M. "Mutagenез s osnovami genotoksikologii: Uchebnoye posobiye." ["Mutagenesis with the basics of genotoxicology: Textbook."] M.: SPb.: NestorIstoriya (2015) 304 p. (In Russian).
- 24 Jamieson E. R. Lippard S. J. "Structure, Recognition, and Processing of Cisplatin-DNA Adducts." *Chemical Reviews* 99, no 9 (1999): 2467-2498.
- 25 Morin X., Daneman R., Zavortink M., Chia W. "A protein trap strategy to detect GFP-tagged proteins expressed from their endogenous loci in *Drosophila*." *Proc Natl Acad Sci USA* 98, no 26 (2001): 15050-15055.

С.М. Тайпакова* , А.К. Куанбай , Д. Манапкызы ,
И.Т. Сmekенов , С.Д. Алыбаев , А.К. Бисенбаев 

Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии,
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы,
*e-mail: sabira.taipakova@gmail.com

КЛОНИРОВАНИЕ КДНК ГЕНА ПОЛИ(АДФ-РИБОЗА) ПОЛИМЕРАЗЫ 2 *ARABIDOPSIS THALIANA* В *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Поли(АДФ-рибоза) полимеразы (PARP) катализируют синтез полимеров АДФ-рибозы ковалентно прикрепленные к акцепторным белкам. При этом донором остатков АДФ-рибозы выступает НАД⁺. Одной из наиболее известных ролей PARP является их функция в качестве сенсора повреждения ДНК. PARP1, в частности, связывается в поли(АДФ-рибозил)ированной форме с разрывами ДНК и привлекает белковую машину репарации ДНК в места повреждения ДНК. Недавно, впервые показано, что PARP поли-АДФ-рибозилирует не только белки, но и концы разрывов ДНК. Однако, в настоящее время нет прямых доказательств наличия поли-АДФ-рибозилированных ДНК-аддуктов в условиях *in vivo* как в животных, так и в растениях.

В клетках *Saccharomyces cerevisiae* отсутствует PARP активность, несмотря на то, что он обнаружен в организмах от архебактерий до млекопитающих. Из-за простоты манипулирования и генетической трактуемости дрожжи *S. cerevisiae* были использованы для анализа функции многих белков из клеток животных и растений. В связи с этим целью нашей работы является клонирование и гетерологичная экспрессия гена AtPARP2 из модельного растения *Arabidopsis thaliana* в дрожжах.

С применением генно-инженерных методов нами сконструирована рекомбинантная плазмида с кДНК геном AtPARP2 под контролем индуцибельного промотора GAL10 эписомального вектора pESC-LEU2. Методом генетической трансформации получен рекомбинантный штам *S. cerevisiae*, способный экспрессировать кДНК ген AtPARP2. Методом Вестерн-блоттинга с применением полученных нами поликлональных анти-AtPARP2 антител выявлено, что продуктом экспрессии гена в дрожжах является глобулярный белок массой 72 кДа, состоящий из 637 аминокислот (pI 5,92). Показано незначительное ингибирование роста в дрожжевых клетках FF 18733, экспрессирующих AtPARP2. Индукция экспрессии AtPARP2 в дрожжевых клетках, выявило PARилирующую активность белка *in vivo*. Показано авто-поли(АДФ-рибозил)ирующая активность AtPARP2 в дрожжах в ответ на двухцепочечные разрывы ДНК, индуцированные обработкой клеток блеомицином. Ингибитор PARP фермента 3-AB значительно ингибировал количество поли АДФ-рибозилированных белковых продуктов.

Ключевые слова: Поли(АДФ-рибоза) полимеразы, AtPARP2, поли-АДФ-рибозилирование, *Arabidopsis thaliana*, *Saccharomyces cerevisiae*.

S.M. Taipakova*, A.K. Kuanbay, D. Manatkyzy,
I.T. Smekenov, S.D. Alybayev, A.K. Bissenbaev

Scientific Research Institute of Biology and Biotechnology Problems,
Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty,
*e-mail: sabira.taipakova@gmail.com

Cloning of the *Arabidopsis thaliana* Poly(Adp-ribose) polymerase 2 cDNA gene in *Saccharomyces cerevisiae*

Poly(ADP-ribose)polymerase (PARP) catalyzes the synthesis of covalently attached ADP-ribose polymers to acceptor proteins. The donor of the residues of ADP-ribose is NAD⁺. The prominent roles of PARP is a DNA damage sensor. PARP1, in poly(ADP-ribosyl)ated form binds to DNA breaks and engages proteins of DNA repair to this sites. Recently, it has been shown that PARP poly(ADP-ribosyl) ates both proteins and DNA breaks. However, there is no direct evidence of poly(ADP-ribosyl)ated DNA adducts *in vivo* in animals and plants.

PARP activity is absent in *Saccharomyces cerevisiae* cells, despite the fact that it has been identified in organisms ranging from archaeobacteria to mammals. Due to the simplicity of manipulation and genetic interpretation *S. cerevisiae* yeasts have been used to analyze the functions of proteins from animal and plant cells. Therein, the goal of our work is the cloning and heterologous expression of the AtPARP2 gene from the *Arabidopsis thaliana* in yeasts.

By using genetic engineering methods, we have constructed a recombinant plasmid with cDNA of the AtPARP2 gene under the control of the inducible promoter GAL10 from episomal vector pESC-LEU2. A recombinant *S.cerevisiae* strain capable for expressing the cDNA of the AtPARP2 gene was obtained by genetic transformation method. By using Western blotting with the applying of polyclonal anti-AtPARP2 antibodies, it was revealed that the product of gene expression in yeast is a globular protein weighing 72kDa, consisting 637 amino acids (pI 5.92). A slight inhibition of growth was shown in FF 18733 yeast cells which express AtPARP2. Induction of AtPARP2 expression in yeast revealed PARylating activity of protein in vivo. Auto-poly(ADP-ribosylation) activity of AtPARP2 was shown in yeasts in response to double-stranded DNA breaks induced by bleomycin treatment of cells. 3-AB, inhibitor of PARP suppressed the amount of poly(ADP-ribosylated) protein products.

Key words: Poly(ADP-ribose)polymerase, AtPARP2, poly(ADP-ribosylation), *Arabidopsis thaliana*, *Saccharomyces cerevisiae*.

С.М. Тайпакова*, А.К. Қуанбай, Д. Манапқызы,
И.Т. Смекенов, С.Д. Алыбаев, А.Қ. Бисенбаев

Биология және биотехнология мәселелері Ғылыми-зерттеу институты молекулалық генетика
лабораториясы, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.,
*e-mail: sabira.taipakova@gmail.com

***Arabidopsis thaliana* Поли(АДФ-рибоза) полимераза 2 қДНК генін *Saccharomyces cerevisiae* жүйесінде клондау**

Поли(АДФ-рибоза) полимераза (PARP) акцепторлы ақуызға ковалентті-бекітілген АДФ-рибоза полимерлерінің синтезін катализдейді. Бұл ретте, АДФ-рибоза қалдығының доноры НАД⁺ болып табылады. PARP белгілі қызметтерінің ішінде айрықша көзге түсетіні – оның ДНҚ зақымдануының сенсоры ретінде әрекет етуі. Атап айтқанда, PARP1 поли(АДФ-рибозил)денген күйде ДНҚ үзілістерімен байланысып, ДНҚ зақымданған аймаққа ДНҚ репарациясының ақуыздық жүйесін шақырады. Жақында, алғаш рет, PARP тек ақуыздарды ғана емес, сонымен қатар ДНҚ үзілістерінің соңдарын да поли(АДФ-рибозил)дейтіні көрсетілді. Алайда, қазіргі таңда жануарлар мен өсімдіктерде *in vivo* жағдайда поли(АДФ-рибозил)денген ДНҚ аддуктары болуының нақты дәлелі жоқ.

Архебактериядан сүтқоректілерге дейінгі ағзалардың барлығында табылғандығына қарамастан, *Saccharomyces cerevisiae* клеткаларында PARP белсенділігі анықталмаған. Манипуляция жүргізу және генетикалық тұрғыдан түсіндіру жеңілдігіне байланысты *S. cerevisiae* ашытқылары өсімдік және жануар клеткаларының көптеген белоктарының функцияларын талдау мақсатында қолданылған. Осыған байланысты, біздің жұмысымыздың мақсаты *Arabidopsis thaliana* модельді өсімдігінің AtPARP2 генін ашытқыларда клондау және гетерологиялық экспрессиялау болып табылады.

Гендік инженерия әдістерінің көмегімен pESC-LEU2 эписомальды векторының GAL10 индуцельді промоторының бақылауындағы AtPARP2 генінің қДНК-сы бар рекомбинатты плазмида құрастырылды. Генетикалық трансформация әдісі арқылы AtPARP2 генінің қДНК-н экспрессиялауға қабілетті *S. cerevisiae* рекомбинатты штаммы алынды. Анти-AtPARP2 поликлональды антиденелерін қолдану арқылы жүргізілген Вестерн-блоттинг әдісінің нәтижесінде ашытқылардағы ген экспрессиясының өнімі массасы 72 кДа, 637 аминқышқылынан (pI 5.92) тұратын глобулярлы ақуыз екендігі анықталды. AtPARP2 экспрессиялайтын FF 18733 ашытқы клеткаларында өсудің шамалы тежелетіні көрсетілген. Ашытқы клеткаларындағы AtPARP2 экспрессиясының индукциясы ақуыздың PARилдеуші белсендігін *in vivo* айқындады. Клеткалардың блеомицинмен өңделуі нәтижесінде индуцирленген қостізбекті ДНҚ үзілістеріне жауап ретінде ашытқыларда AtPARP2-н авто-поли(АДФ-рибозил)деуші белсенділігі көрсетілген. PARP ферментінің ингибиторы, 3-AB поли(АДФ-рибозил)денген ақуыздық өнімдердің мөлшерін айтарлықтай тежеді.

Түйін сөздер: поли(АДФ-рибоза) полимераза, AtPARP2, поли(АДФ-рибозил)дену, *Arabidopsis thaliana*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Введение

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). Использование биоинформационного подхода, позволило выявить ряд белков человека, имеющих очень высокую степень гомологии с каталитическим доменом PARP-1. Все эти белки были объединены в семейство PARP, которое сейчас у млекопитающих насчитывается 18 представителей (Ame J.C., 2004: 882-893). PARP белки могут оказывать значительное влияние на различные клеточные процессы, такие как транскрипция, деление клеток, репарация ДНК и целостность теломеров (Schreiber V., 2006: 517-528). И только двое из них PARP1 и PARP2 активируются в ответ на повреждения ДНК (Woodhouse B.C., 2008: 1077-1086).

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). 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). Как AtPARP1, так и AtPARP2 локализован в ядре и в присутствии ДНК с разрывами, прикрепляет остатки ADP-рибоз от НАД⁺ к себе (автомодификация) и к акцепторным белкам в условиях *in vitro* и *in vivo* (Briggs A.G., 2011: 360-1385). Подобно животным PARP ферментам, активность PARP растений ингибируется ингибиторами PARP фермента, такими как 3-аминобензамид (ЗАВ) и 3-метоксибензамид (ЗМВ), которые использовались во многих исследованиях (Briggs A.G., 2011: 360-1385). Интересно что, в противоположность к животным, в арабидопсисе AtPARP2 обладает более высокой ферментативной активностью, чем AtPARP1 (Briggs A.G., 2011: 360-1385).

Нокаутные по генам *parp* мутанты *Arabidopsis* жизнеспособны и имеют нормальный рост без каких-либо отклонений или аномальных побочных эффектов, которые затрудняли бы их использование для анализа физиологической роли поли(АДФ-рибозил)ирование (PARилирование) в растениях. Это, в дополнение к химическим ингибиторам PARP, предоставляет возможность для понимания механизмов PARилирования белков и их роли в различных биологических процессах на уровне всего организма.

В отличие от млекопитающих, значительно мало известно о PARилировании в растениях. Практически не известно о акцепторных белках поли-ADP-рибозы и белках, взаимодействующих с ADP-рибозой. В растениях не обнаружены PARилированные белки, кроме гистонов и PARP. Идентификация новых акцепторных белков поможет понять регуляторную функцию PARилирования в развитии растений и стрессовых реакциях.

Одной из наиболее известных ролей PARP является их функция в качестве сенсора повреждения ДНК. PARP1, в частности, связывается в PARилированной форме с SSB и DSB, и привлекает белковую машину репарации ДНК в места повреждения ДНК (Hinz J.M., 2010: 4646-4651, Odell I.D., 2011: 4623-4632). PARP-катализируемое ковалентное присоединение поли-АДФ-рибозы (PAR) к белкам является обратимым процессом, поскольку расщепление PAR до мономеров АДФ-рибозы осуществляется ферментами поли(АДФ-рибоза)-гликогидролазами (PARG) (Bonicalzi M.E., 2005: 739-750), АДФ-рибозиларгинин-гидролазой 3 (ARH3) (Ono T., 2006: 16687-16691) и терминальной АДФ-гликогидролазами (TARG1) (Sharifi R., 2013: 1225-1237). PARG является основной гликогидролазой PAR в клетках млекопитающих, которая удаляет большую часть полимера PAR, но оставляет единственную ADP-рибозу, прикрепленную к белку. Этот остаток затем удаляется TARG1. Нокаутные по гену PARG мыши погибали (Koh D.W., 2004: 17699-17704), а дефицитные по гену PARG клетки проявляют повышенную гибель клеток и значительное нарушение процессов репарации повреждения ДНК и разрывов цепей (Ame J.C., 2009: 1990-2002), что указывает на то, что генерация PARилированных макромолекул является высокотоксичным для клетки.

Из-за простоты манипулирования и генетической трактуемости дрожжи *S. cerevisiae* были использованы для анализа функции многих белков из клеток животных и растений. Дрожжи

являются ценным предиктором функций генов человека, так как 31% белков, кодируемых генами дрожжей, имеют человеческие гомологи и, почти 50% генов человека, связанных с наследственными заболеваниями, имеют дрожжевые гомологи (Suter B., 2006: 625–644, Hartwell L.H., 2004: 523–544). В геноме арабидопсис, содержатся множество генов с высокой гомологией к соответствующим генам из дрожжей (Rissel D., 2017: 20-23). Эти данные свидетельствуют о сильной консервативности функции генов между дрожжами, человеком и растениями.

Целью представленной работы является клонирование и гетерологичная экспрессия гена *AtPARP2* из модельного растения *Arabidopsis thaliana* в дрожжах и оптимизация экспрессии *AtPARP2* в дрожжевой системе.

Материалы и методы

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 φ80dlacZAM15 ΔlacX74 araD139 Δ(ara-leu)7697 galU galK rpsL nupG λ-tonA*) фирмы «Novagen» для наработки плазмидной ДНК и экспрессионный штамм FF 18733 *S. cerevisiae* (MATa, leu2-3-112, trp1-289, his7-2, ura3-52, lys1-1, CAN1), а так же эписомальный вектор pESC-LEU2. Культивирование клеток *S. cerevisiae* проводили при 30°C в богатой среде YPAD, скрининг трансформантов проводили на синтетической минимальной селективной среде, включающей глюкозу и смеси аминокислот (среда SD DO – LEU). 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).

Конструкция рекомбинантной плазмиды pESC-LEU/AtPARP2

кДНК ген *AtPARP2 A. thaliana* амплифицировали методом ПЦР на матрице, получен-

ной нами рекомбинантной плазмиды pET28c/*AtPARP2* (Куанбай А.К., 2018: 99-111) с использованием две пары праймеров: смысловой праймер *AtPARP2 Dir* 5'- ATTAGGATCCT-TATGGGCAGCAGCCATC-3', содержащий сайт узнавания рестриктазой *Bam*HI и антисмысловый праймер *AtPARP2 Pr5*'- AGGCGTCGACT-TAATGTTTGTAGTTG-3', содержащие сайт *Sall* (подчеркнут).

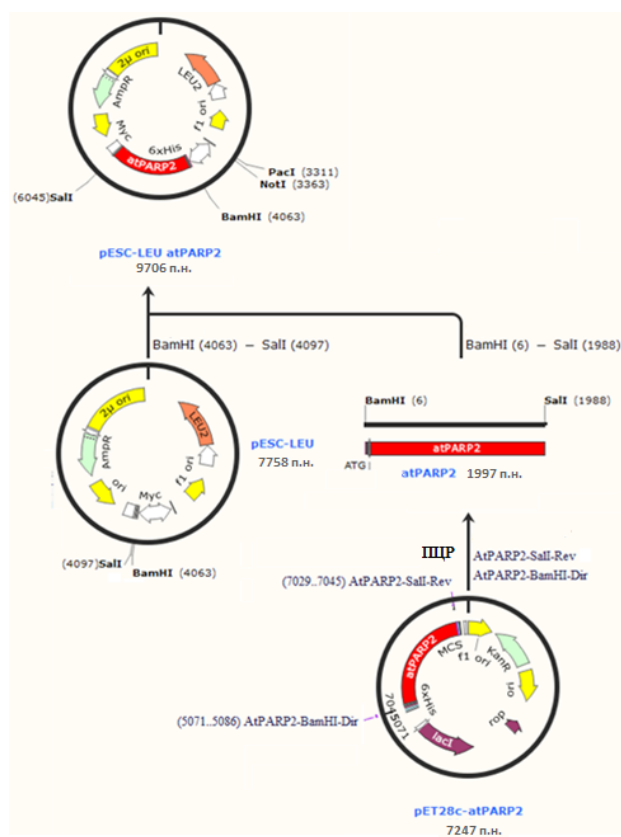


Рисунок 1 – Схема конструкции рекомбинантной плазмиды pESC-LEU/AtPARP2

Продукт ПЦР обработали рестриктазами *Bam*HI и *Sall*. Затем с помощью ДНК-лигазы фага T4 фрагмент встраивали в вектор pESC-LEU, предварительно обработанный рестриктазами *Bam*HI и *Sall* и щелочной фосфотазой FastAP для удаления 5'-концевых фосфатов с целью воспрепятствовать восстановлению вектора при последующем лигировании. Полученным в результате лигирования продуктом трансформировали штамм *E. coli* NovaXG Zappers. Отбор несущих плазмиду клеток осуществляли путем посева продуктов, полученных в результате трансформации, на LB-агар, дополненный 50 мг/л ампи-

цилина. Плазмидную ДНК выделяли из одного трансформанта, проверяли на наличие вставки методом ПЦР и рестрикционного анализа. Клоны секвенировали в обоих направлениях на отсутствие мутаций.

Трансформация дрожжевых клеток

С помощью охлажденного стерильного наконечника 50 мкл компетентных клеток дрожжей перенесли в охлажденную микропробирку и смешали с плазмидной ДНК и одноцепочечной ДНК бычьего тимуса (10 мг/мл ДНК бычьего тимуса кипятили 5 мин при 100 °С и быстро охладили на льду). Добавили 300 мкл свежеприготовленной стерильной трансформационной смеси (40% PEG 4000, 1X TE, 1X LiOAc) и тщательно перемешали встряхиванием на вортосе. Смесь инкубировали при 30 °С в течение 30 мин при перемешивании со скоростью 200 об/мин на круговом шейкере. По истечению времени инкубации добавили 40 мкл DMSO и тщательно перемешали вортосированием. Далее клетки подвергали тепловому шоку на водяной бане при 42 °С в течение 15 мин, после чего инкубировали 3 мин во льду. Трансформированные клетки равномерно распределяли на поверхности селективной агаризованной среды и инкубировали при 30 °С в течение 2-3 суток.

Индукция экспрессии AtPARP2 гена под контролем GAL10 промотора в S. cerevisiae

Для индукции экспрессии рекомбинантного белка под контролем T *GAL10* промотора в клетках *S. cerevisiae* несколько колоний трансформированных клеток выросших на чашках Петри с селективной средой инокулировали в 20 мл синтетической минимальной SD DO – LEU среды и культивировали при 30 °С и интенсивной аэрации (150 об/мин на качалке) в течение ночи. Затем ночную культуру ресуспензировали в 1 л жидкой SD DO – LEU и растили до достижения оптической плотности $OD_{600} \sim 1.0$. При достижении необходимой плотности клетки осаждали центрифугированием при скорости 3000 об/мин 5 мин при 4 °С, культуральную жидкость удалили. Осадок в виде клеток ресуспензировали в 1 л жидкой SG DO – LEU (0,7% дрожжевая азотистая основа без аминокислот 2% галактоза). Индукцию экспрессии проводили инкубированием в присутствии галактозы в течение 16 ч при 30 °С и интенсивном перемешивании на качалке. Клетки собираемые центрифугированием при скорости 3000 об/мин 5 мин при 4 °С ресуспензировали в буфере для хранения (20 мМ HEPES-KOH pH 7,6; 40 мМ NaCl) и хранили при -20 °С до последующего использования.

ДСН-ПААГ электрофорез

Приблизительно 100 мг дрожжевых клеток собирали и замораживали при 80 °С. 500 мл буфера для экстракции белка [25 мМ Трис-HCl (pH 7,4), 10 мМ MgCl₂, 10 мМ β-меркаптоэтанол, 1% коктейль ингибитора протеазы (Sigma-Aldrich)] и 600 мл стеклянных шариков, промытых кислотой (425-600 мм, Sigma-Aldrich) добавляли к замороженным дрожжевым клеткам и клетки лизировали вортосированием в течение 3 минут. Полученный лизат центрифугировали при 14000 g в течение 40 при 4 °С для осаждения клеточных остатков. Супернатант переносили в новую пробирку и концентрацию белка в каждом образце определяли методом Брэдфорда (Bradford M., 1976:248-254) перед нанесением на гель. Для электрофоретического анализа использовали растворимые белки (супернатант). Электрофорез белков, приготовленных кипячением образцов в 2х образцовом буфере (2X: 125 мМ Tris-HCl pH 6,8, 10% β-меркаптоэтанол, 4% SDS, 0,02% бромфенолового синего, 20% глицерина), проводили в полиакриламидном геле по методу Лэммли (Laemmli U.K., 1970:680-5) в денатурирующих условиях.

Иммуноблотинг

Экстракты рекомбинантных дрожжей (12 мкг белка) фракционировали в 10%-ном ДСН-полиакриламидном геле и затем белки переносились из полиакриламидного геля на PVDF мембрану (Pierce, США) с использованием Bio-Rad Mini-transblot Cell (Bio-Rad, США) в соответствии с инструкциями производителя. После переноса белка, мембрану осторожно встряхивали в блокирующем растворе, содержащем 5% молока и 0,1% Tween-20 в 1x TBS (трис-буферный солевой раствор: 50 мМ Трис-HCl (pH 7,5), 20 мМ NaCl) в течение 1 часа при комнатной температуре. После удаления блокирующего раствора мембрану инкубировали в 10 мл аффинно-очищенном анти-AtPARP поликлональном антителе (разведение 1: 10000 в блокирующем растворе 0,1% Твин-20) в течение ночи при 4 °С. Мембрану промывали пять раз в 10 мл буфере для промывки (1x TBS, 0,1% Tween-20) в течение 5 мин, каждый раз. После промывки, мембрану инкубировали в 10 мл растворе вторичных антител (разведение 1:20000 в блокирующем растворе с 0,1% Твин-20) в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем мембрану промывали пять раз в 10 мл растворе для промывки в течение 5 мин каждый раз. Иммунодетекцию проводили люминолом, с помощью анализатора Image Quant Las 4000 (Amersham Biosciences, СК).

Результаты и его обсуждения

Клонирование и экспрессия кДНК гена AtPARP2 A. thaliana в pESC-LEU2 векторе дрожжей под контролем индуцибельного промотора GAL10

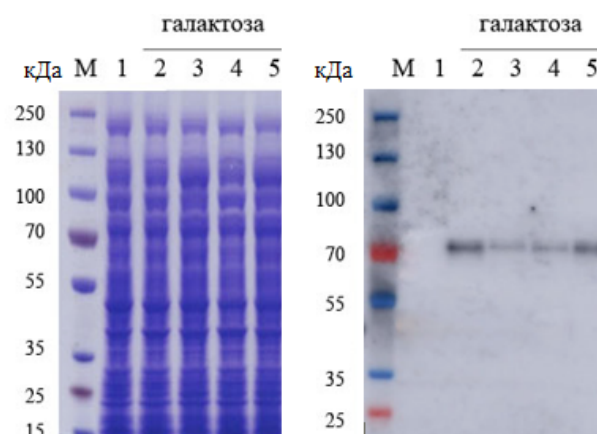
Известно, что дрожжи *S. cerevisiae* не способны продуцировать поли(АДФ-рибоза)-полимеразы, способные синтезировать цепочки полимера АДФ-рибозы используя НАД⁺ в качестве субстрата и присоединять их к гистонам, белкам репарации ДНК, транскрипционным факторам и т.д. Такая особенность дрожжевой системы намного облегчает регистрацию рекомбинантной AtPARP2 в трансформированных клетках. Кроме этого, отсутствие в *S. cerevisiae* антагониста PARP белков поли(АДФ-рибоза)-гликогидролаз делает возможным изучение функциональной активности гетерологичного белка в условиях *in vivo*.

С этой целью кДНК AtPARP2 (*At4g02390*) амплифицировали с помощью ПЦР из рекомбинантной плазмиды pET28c/*AtPARP2*. Праймеры, использованные для амплификации последовательностей кДНК, перечислены в материалах и методах. Полученные кДНК были клонированы в дрожжевой экспрессионный вектор pESC-LEU, сконструированный для экспрессии эукариотических генов в дрожжах *S. cerevisiae*. Вектор экспрессии pESC содержит индуцируемый галактозой (*GAL1* и *GAL10*) промоторы, обеспечивающие контролируруемую экспрессию, поскольку предполагается, что экспрессия PARP ингибирует рост дрожжевых клеток. Кроме этого вектор pESC содержит дрожжевые *HIS3*, *TRP1*, *LEU2* и *URA3* гены для селекции трансформированных клеток, а также множественные сайты рестрикции. В результате проведенных работ нами была сконструирована рекомбинантная плаزمиды pESC-LEU/*AtPARP2*.

Несмотря на то, что последовательности аминокислот, установленные на основе нуклеотидной последовательности гена, полностью соответствовали клонированному нами *AtPARP2* было необходимо продемонстрировать, кодирует ли на самом деле этот ген *AtPARP2 A. thaliana*. Для анализа экспрессии поли(АДФ-рибоза)-полимеразы 2 *A. thaliana* в дрожжевой системе под контролем индуцибельного *GAL10* промотора, рекомбинантную плазмиду pESC-LEU/*AtPARP2* трансформировали в *S. cerevisiae* штамм FF 18733. Скрининг трансформантов проводили на агаризованной синтетической минимальной среде (SD DO-LEU supplement) без

лейцина (LEU), содержащую 2% глюкозы (Glu) в качестве источника углерода. В результате селекции было получено более двадцати колоний, из которых было отобрано три индивидуальных клонов. Трансформированные клетки переносили в жидкую синтетическую минимальную среду SD DO-LEU supplement и инкубировали при 30 °С в течение ночи. 150 мкл жидкой дрожжевой культуры смешивали с 850 мкл стерильного глицерина, аликвотировали и замораживали при 80 °С для получения криостартерных аликвот. Эти заквасочные культуры обеспечивали одинаковые исходные условия во всех экспериментах.

Остальную ночную культуру переносили в большой объем минимальной среды и растили при +30 °С до достижения плотности OD – 1,0. При достижении OD до 1,0 клетки собрали центрифугированием и ресуспендировали в питательной среде SG DO-LEU с 2% галактозой для индукции экспрессии клонированных генов. Синтез рекомбинантных белков тестировали методом электрофореза в присутствии ДСН (рисунок 2).



А- ДСН-ПААГЭ белков *S. cerevisiae*, трансформированных pESC-LEU/*AtPARP2*. Б – Вестерн блоттинг. М – Маркер; 1- клеточный экстракт *S. cerevisiae*, трансформированный pESC-LEU/*AtPARP2* без индукции галактозой; 2-5- клеточный экстракт *S. cerevisiae*, трансформированный pESC-LEU/*AtPARP2* после 24 ч индукции с галактозой.

Рисунок 2 – Экспрессия кДНК гена *AtPARP2 A. thaliana* в *S. Cerevisiae*

Данные ДСН-ПААГ электрофореза показали белковые полосы с молекулярной массой приблизительно 75 кДа в растворимой фракции. Однако с такой же молекулярной массой белковая полоса обнаруживалась в нетрансформированных клетках *S. cerevisiae*. Это указывает на то,

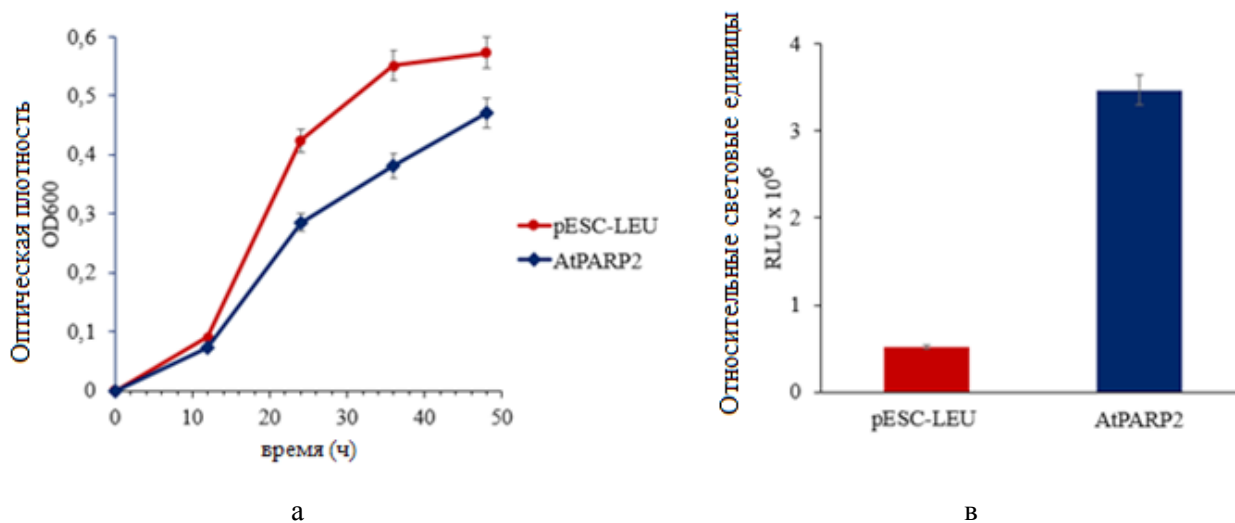
что дрожжевые клетки содержат конститутивные белки с молекулярной массой аналогичной AtPARP2 *A. thaliana*.

В последующих экспериментах для доказательства экспрессии рекомбинантного AtPARP2 *A. thaliana* использовали метод иммуноблоттинга с полученными нами кроличьими поликлональными анти-AtPARP2 антителами (Куанбай А.К., 2018: 99-111). Для этого белки из ДСН-ПААГ перенесли на PVDF мембрану и инкубировали с анти-AtPARP2 антителами. Иммуноблоттинг выявил мажорную белковую полосу с молекулярной массой около 75 kDa, следовательно, эти данные указывают на эффективную экспрессию рекомбинантного AtPARP2 *A. thaliana* в *S. cerevisiae*.

Для анализа роста дрожжей 50 мкл из аликвоты криостартера культивировали в течение ночи в 10 мл жидкой SD DO-LEU supplement. Через 24 ч роста культуру разбавляли свежей SD DO-LEU supplement и растили до достижения 1×10^6 клеток/мл. Суспензию клеток

промывали дистиллированной водой, разбавляли до 1×10^6 клеток/мл в среде SG DO-LEU, содержащей 2% галактозы, для индукции экспрессии гена AtPARP2 при 30°C, и 2 мл суспензии клеток переносили в кюветы. Оптическую плотность клеток при OD600 измеряли в указанные интервалы времени с использованием спектрофотометра PD-303UV (ApeI, Япония).

Как и ожидалось, индукция экспрессии AtPARP2 в дрожжевых клетках FF 18733 привело к незначительному ингибированию роста по сравнению с контрольными клетками, несущими пустой вектор pESC-LEU (рисунок 3А) в течение 48-часового периода роста. Индукция экспрессии полноразмерного PARP1 человека в клетках *S. cerevisiae* приводила к накоплению PAR-модифицированных белков, что, в свою очередь, вызывало подавление репликации и транскрипции ДНК и, впоследствии к ингибированию клеточного деления (Kaiser P., 1992: 231e239).



А) Рост штамма FF 18733, трансформированного пустым вектором pESC-LEU (кружки) или вектором pESC-LEU/AtPARP2 (ромбы). Экспрессия AtPARP2 была вызвана добавлением галактозы в среду. Рост был оценен определением оптической плотности клеток при OD600 в указанные интервалы времени. В) PARилирование белка в дрожжевых клетках FF 18733 определено иммуноблоттингом моноклональными анти-PAR антителами после 16 ч экспрессии гена AtPARP2. Столбики ошибок представляют SE из трех повторностей.

Рисунок 3 – Эффект экспрессии гена AtPARP2 на клеточную пролиферацию дрожжей

Ранние исследования показали, что экспрессия HsPARP1 и HsPARP2 человека в дрожжах приводила к значительному ингибированию клеточного деления (Kaiser P., 1992: 231e239, Perrin D., 2000: 461e469, Perkins E., 2001: 4175e4183,

Tao Z., 2009: 11745e11754, La Ferla M., 2015: 14e24). Авторами высказано предположение, что наличие ДНК-связывающего домена в составе HsPARP1 является причиной ингибирования роста дрожжей (Kaiser P., 1992: 231e239).

При этом, показано, что коэкспрессия антагониста HsPARP поли-(ADP-рибозы) гликогидролазы (PARG), который удаляет фрагменты АДФ-рибозы из целевых белков, а также применение ингибиторов активности PARP может тормозит вызванное HsPARP1 ингибирование роста клеток (Kaiser P., 1992: 231e239, Perkins E., 2001: 4175e4183, Tao Z., 2009: 11745e11754).

Необходимо отметить, что AtPARP2 в отличие от HsPARP1 не содержит домен типа “цинковый палец”, часто встречающиеся у белков, взаимодействующих с ДНК. Показано, что AtPARP2 содержит на N-конце предполагаемый ДНК-связывающий домен SAP (SAF-A / B, Acinus и PIAS) (Rissel D., 2007: 59.25).

Можно предположить, что различия в структуре N-концевой области AtPARP2, вероятно, являются причиной отсутствия полного подавления роста дрожжей. Кроме этого, известно, что ингибиторы PARP представляют собой новый класс противораковой терапии (Gottipati P., 2010: 5389–5398., Weil M.K., 2011: 7–50., De Vos M., 2012: 137–146). В связи с этим, из-за наблюдаемого нами фенотипа, дрожжевая система представляет собой полезную модель для характеристики новых ингибиторов PARP и выявления потенциальных мишеней поли (АДФ-рибозил)илирования (Perkins E., 2001: 4175e4183, Tao G.H., 2009: 2413–2422).

В последующих экспериментах, мы анализировали РАРилирующую активность AtPARP2 в дрожжевой системе. Для этого экспрессию AtPARP2 индуцировали в среде SG DO-LEU, содержащей 2% галактозу, в течение 8 часов. Затем, 8 мкг белкового лизата смешивали с равным объемом 40% метанола и наносили на нитроцеллюлозную мембрану. Для предотвращения неспецифической сорбции мембрану обрабатывали 5% раствором обезжиренного молока. Остатки поли-АДФ-рибозы (PAR) определяли с использованием моноклональных антител специфичного к PAR (10H) (Enzo Life Sciences, Farmingdale, США). Обнаружение остатков PAR на нитроцеллюлозной мембране проводили путем регистрации люминесценции при обработке мембраны хемилюминесцентным реагентом, с помощью анализатора Image Quant Las 4000.

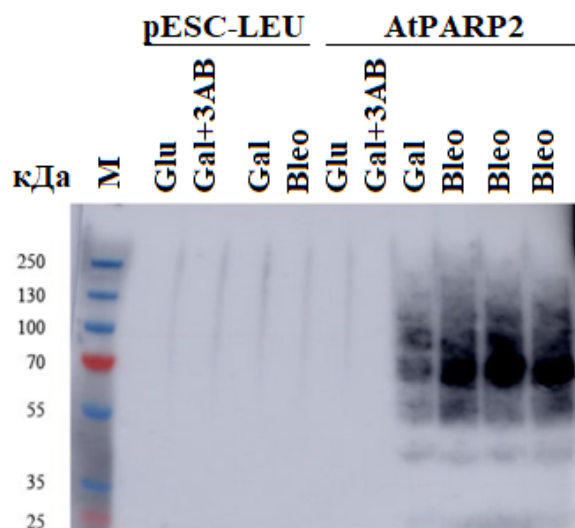
Как видно из рисунка 3В клетки дрожжей, экспрессирующие AtPARP2, проявляли РАРилирующую активность после индукции галактозой, тогда как в экстракте клеток, трансформированных пустым вектором, инкубированных галактозой не обнаружили сигнал РАРилирования.

Одной из наиболее известных ролей PARP является их функция в качестве сенсора повреждения ДНК. PARP1, в частности, связывается в РАРилированной форме с одно- (SSB) и двухцепочечным разрывом ДНК (DSB), и привлекает белковую машину репарации ДНК в места повреждения ДНК (Hinz J.M., 2010: 4646-4651, Odell I.D., 2011: 4623-4632). Предполагается, что PARP растений играют аналогичную роль в реакциях клеток на генотоксический стресс. Показано, что сверхэкспрессия AtPARP2 приводит к снижению разрывов цепей ДНК в присутствии радикалов кислорода, тогда как подавление экспрессии AtPARP1 увеличивало количество разрывов цепей ДНК (De Block M., 2005: 95–106). После воздействия ионизирующего излучения наблюдалась активная экспрессия гена AtPARP1 во всех органах растений. Однако количество белка увеличивалась только в активно пролиферирующих тканях (Amy G., 2011: 360-1385). Такая тканеспецифическая генерация AtPARP1 белка в ответ на повреждение ДНК указывает на важную роль этого фермента в поддержании целостности ДНК во время репликации.

В связи с вышеизложенными, мы решили изучить активность AtPARP2 в дрожжевой системе в присутствии агентов, вызывающих двухцепочечные разрывы в геномной ДНК. В качестве агента мы использовали блеомицин (Bleo), гликопептидный антибиотик, синтезируемый бактериями *Streptomyces verticillus* (Abraham A.T., 2003: 45–52). Необходимо отметить, что блеомицин в отличие от радиомиметических, вызывают накопление двухцепочечные разрывы с 5'-фосфатными и 3'-фосфогликолятными концами либо с тупыми концами ДНК, либо с концами ДНК, смещенными на один из 5'-выступов основания (Povirk L.F., 1989: 5808-14).

Для этого культуру рекомбинантных дрожжей, экспрессирующих AtPARP2 по истечении времени индукции галактозой (см. раздел «Материалы и методы») собрали центрифугированием и ресуспендировали в 5 мл питательной среды SG DO-LEU и инкубировали в присутствии блеомицина в концентрации 50 мкг/мл в течение 30 мин. Клетки собирали центрифугированием, отмывали автоклавирующей охлажденной dH₂O. Клеточный лизат приготовленный лизированием дрожжевой массы вотрексированием в гомогенизационном буфере центрифугировали при 14000 об/мин в течении 40 мин, при температуре +4 °C. В качестве негативного контроля использовали клеточный экстракт клеток дрожжей, трансформированные пустым вектором

pESC-LEU. Белковый экстракт фракционировали с помощью ДСН-ПААГ электрофореза. Далее белки из полиакриламидного геля перенесли на PVDF мембрану и инкубировали ее с моноклональными анти-PAR антителами.



М- Маркеры молекулярной массы белков PageRuler Plus, окрашенные, 10-250 кДа; Glu – 2% глюкозы; Gal – 2% галактозы; Bleo – блеомицин 50 мкг/мл; 3AB – 5 мкМ 3-Аминобензамида.

Рисунок 4 – Анализ авто-поли(АДФ-рибозил)ирующей активности AtPARP2

Как видно из рисунка 4, анти-PAR антитела выявили белковые полосы с молекулярной массой приблизительно в пределах 40-130 кДа в присутствии блеомицина. Можно предположить, что в дрожжей системе присутствие блеомицина вызывает накопление двухцепочечных разрывов в ДНК и активацию AtPARP2. При этом, AtPARP2 активно поли-АДФ-рибозилирует дрожжевые акцепторные белки путем многократного переноса АДФ-рибозных групп из НАД⁺. В присутствии ингибитора PARP фермента – 5 мкМ

3-Аминобензамида АДФ-рибозилирование белков полностью блокируется, что подтверждает, что наблюдаемые АДФ-рибозилирование белков является следствием активации AtPARP2.

Заключение

В результате проведенных работ нами был амплифицирован AtPARP2 кДНК ген методом ПЦР на матрице созданной нами ранее рекомбинантной плазмиды pET28c/AtPARP2 и успешно экспрессирован в *S. cerevisiae* под контролем GAL10 промотора. Анализ экспрессии методом вестерн блоттинга с полученными нами поликлональными антителами к AtPARP2 показал, что AtPARP2 представляет собой основной белок, продуцируемый в *S. cerevisiae* с молекулярной массой 72,2 кДа, что соответствует массе белка предсказанной на основе аминокислотной последовательности. Анализ роста рекомбинантных дрожжей показал, что экспрессия AtPARP2 в дрожжевых клетках FF 18733 не приводит к значительному ингибированию роста по сравнению с контрольными клетками. Вероятно, различия в структуре N-концевой области AtPARP2 с ДНК связывающим доменом PARP1, являются причиной отсутствия полного подавления роста дрожжей. Определение PAR-илированных белков рекомбинантных дрожжевых клеток и автомодифицирующей активности рекомбинантного AtPARP2 с применением коммерчески доступных моноклональных анти-PAR антител показало что AtPARP2 проявляет PARилирующую активность после индукции галактозой. А также в ответ на двухцепочечные разрывы ДНК, индуцированные блеомицином может катализировать реакцию поли-АДФ-рибозилирования акцепторных белков дрожжей. Ингибитор PARP фермента 3-AB значительно ингибировал количество поли АДФ-рибозилированных белковых продуктов.

Литература

- 1 Kim M.Y., Zhang T., Kraus W.L. Poly(ADP-ribosylation) by PARP-1: 'PAR-laying' NAD⁺ into a nuclear signal // *Genes Dev.* – 2005. – Vol. 19. – P. 1951-1967.
- 2 Ame J-C., Spelnhauer C., de Murcia G. The PARP superfamily // *BioEssays.* – 2004. – Vol. 26. – P. 882-893.
- 3 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.
- 4 Woodhouse B.C., Dianov G.L. Poly ADP-ribose polymerase-1: an international molecule of mystery // *DNA Repair.* – 2008. – Vol. 7. – P. 1077-1086.
- 5 Briggs A.G., Bent A.F. Poly(ADP-ribose)ylation in plants // *Trends Plant Sci.* – 2011. – Vol. 16, № 7. – P. 372-80.

- 6 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.
- 7 Briggs A.G., Bent A.F. Poly(ADP-ribosylation) in plants // *Trends in Plant Science.* – 2011. – Vol. 16, № 7. – P. 360-1385.
- 8 Hinz J.M., Rodriguez Y., Smerdon M.J. Rotational dynamics of DNA on the nucleosome surface markedly impact accessibility to a DNA repair enzyme // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2010. – Vol. 107. – P. 4646-4651.
- 9 Odell I.D., Barbour J.E., Murphy D.L., Della-Maria J.A., Sweasy J.B., Tomkinson A.E., Wallace, S.S., Pederson, D.S. Nucleosome disruption by DNA ligase III-XRCC1 promotes efficient base excision repair // *Mol. Cell. Biol.* – 2011. – Vol. 31. – P. 4623-4632.
- 10 Bonicalzi M.E., Haince J.F., Droit A., Poirier G.G. Regulation of poly(ADP-ribose) metabolism by poly(endonuclease of bull seminal plasma induced by ADP-ribosylation-ribose) glycohydrolase: where and when? // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2005. – Vol. 62. – P. 739-750.
- 11 Ono T., Kasamatsu A., Oka S., Moss J. The 39-kDa poly-(ADP-ribose) glycohydrolase ARH3 hydrolyzes O-acetyl-ADP-ribose, a product of the Sir2 family of acetyl-histone deacetylases // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2006. – Vol. 103. – P. 16687-16691.
- 12 Sharifi R., Morra R., Appel C.D., Tallis M. et al. Deficiency of terminal endonuclease of bull seminal plasma induced by ADP-ribosylation-ribose protein glycohydrolase TARG1/C6orf130 in neurodegenerative disease // *EMBO J.* – 2013. – Vol. 32. – P.1225-1237.
- 13 Koh D.W., Lawler A.M., Poitras M.F., Sasaki M., Wattler S., Nehls M.C., Stoger T., Poirier G.G., Dawson V.L., Dawson T.M. Failure to degrade poly(ADP-ribose) causes increased sensitivity to cytotoxicity and early embryonic lethality // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2004. – Vol. 101. – P. 17699-17704.
- 14 Ame J.C., Fouquerel E., Gauthier L.R., Biard, D., Boussin F.D., Dantzer F., de Murcia G., Schreiber V. Radiation-induced mitotic catastrophe in PARG-deficient cells // *J. Cell Sci.* 2009. – Vol. 122. – P. 1990-2002.
- 15 Suter B., Auerbach D., Stagljar I. Yeast-based functional genomics and proteomics technologies: the first 15 years and beyond // *Biotechniques.* – 2006. – Vol. 40. – P. 625–644.
- 16 Hartwell L.H. Yeast and cancer // *Biosci. Rep.* – 2004. – Vol. 24. – P. 523–544.
- 17 Rissel D., Heym P.P., Peiter E.A. yeast growth assay to characterize plant poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) proteins and inhibitors // *Anal. Biochem.* – 2017. – Vol. 15, №527. – P. 20-23.
- 18 Куанбай А.К., Сметенов И.Т., Сапарбаев М.К., Ищенко А.А., Тайпакова С.М., Бисенбаев А.К. Выделение и характеристика кДНК гена поли(АДФ-рибоза) полимеразы 2 *Arabidopsis thaliana* // *Вестник КазНУ. Серия биологическая.* – 2018. -Том 74. -№ 1. -С. 99-111.
- 19 Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* – 1970. – Vol. 227. – № 5259. – P. 680-685.
- 20 Kaiser P., Auer B., Schweiger M. Inhibition of cell proliferation in *Saccharomyces cerevisiae* by expression of human NAD⁺ ADP-ribosyltransferase requires the DNA-binding domain (“zinc fingers”) // *Mol. Gen. Genet.* – 1992. – Vol. 232. – P. 231e239.
- 21 Perrin D., Gras S., van Hille B., Hill B.T. Expression in yeast and purification of functional recombinant human poly(ADP-ribose)polymerase (PARP). Comparative pharmacological profile with that of the rat enzyme // *J. Enzyme Inhib.* – 2000. – Vol. 15. – P. 461e469.
- 22 Perkins E., Sun D., Nguyen A., Tulac S., Francesco M., Tavana H., Nguyen H., Tugendreich S., Barthmaier P., Couto J., Yeh E., Thode S., Jarnagin K., Jain A., Morgans D., Melese T. Novel inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase PARP1 and PARP2 identified using a cell-based screen in yeast // *Cancer Res.* – 2001. – Vol. 61. – P. 4175e4183.
- 23 Tao Z., Gao P., Liu H.W. Studies of the expression of human poly(ADP-ribose) polymerase-1 in *Saccharomyces cerevisiae* and identification of PARP-1 substrates by yeast proteome microarray screening // *Biochemistry.* – 2009. – Vol. 48. – P. 11745e11754.
- 24 La Ferla M., Mercatanti A., Rocchi G., Lodovichi S., Cervelli T., Pignata L., Caligo M.A., Galli A. Expression of human poly(ADP-ribose) polymerase 1 in *Saccharomyces cerevisiae*: effect on survival, homologous recombination and identification of genes involved in intracellular localization // *Mut. Res. – Fundam. Mol. Mechan. Mutagen.* – 2015. – Vol. 774. – P. 14e24.
- 25 Rissel D., Heym P.P., Thor K., Brandt W., Wessjohann L.A., Peiter E. No silver bullet – canonical poly(ADP-ribose) polymerases (PARPs) are no universal factors of abiotic and biotic stress resistance of *Arabidopsis thaliana* // *Front. Plant Sci.* 2007. – Vol. 8. – P. 59.
- 26 Gottipati P., Vischioni B., Schultz N., Solomons J., Bryant H.E., Djureinovic T., Issaeva N., Sleeth K., Sharma R.A., Helleday T. Poly(ADP-ribose) polymerase is hyperactivated in homologous recombination-defective cells // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70. – P. 5389–5398.
- 27 Weil M.K., Chen A.P. PARP inhibitor treatment in ovarian and breast cancer // *Curr. Probl. Cancer.* – 2011. – Vol. 35. – P. 7–50.
- 28 De Vos M., Schreiber V., Dantzer F. The diverse roles and clinical relevance of PARPs in DNA damage repair: current state of the art // *Biochem. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 84. – P. 137–146.
- 29 Tao G.H., Yang L.Q., Gong C.M., Huang H.Y., Liu J.D., Liu J.J., Yuan J.H., Chen W., Zhuang Z.X. Effect of PARP-1 deficiency on DNA damage and repair in human bronchial epithelial cells exposed to benzo(a)pyrene // *Mol. Biol. Rep.* – 2009. – Vol. 36. – P. 2413–2422.
- 30 De Block M., Verduyn C., De Brouwer D., Cornelissen M. Poly(ADP-ribose) polymerase in plants affects energy homeostasis, cell death and stress tolerance // *Plant J.* – 2005. – Vol. 41. – P. 95–106.

- 31 Amy G. Briggs and Andrew F. Bent. Poly(ADP-ribosylation) in plants // Trends in Plant Science. – 2011. – Vol. 16, № 7. – P. 360-1385.
- 32 Abraham A.T., Lin J., Newton D.L., Rybak S., Hecht S. RNA cleavage and inhibition of protein synthesis by bleomycin // Chem. Biol. – 2003. – Vol. 10. – P. 45–52.
- 33 Povirk L.F., Han Y.H., Steighner R.J. Structure of bleomycin-induced DNA double-strand breaks: predominance of blunt ends and single-base 5' extensions // Biochemistry. – 1989. – Vol. 28, № 14. – P. 5808-14.

References

- 1 Kim M.Y., Zhang T., Kraus W.L. Poly(ADP-ribosylation) by PARP-1: 'PAR-laying' NAD⁺ into a nuclear signal // Genes Dev. – 2005. – Vol. 19. – P. 1951-1967.
- 2 Ame J-C., Spenlehauser C., de Murcia G. The PARP superfamily // BioEssays. – 2004. – Vol. 26. – P. 882-893.
- 3 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.
- 4 Woodhouse B.C., Dianov G.L. Poly ADP -ribose polymerase-1: an international molecule of mystery // DNA Repair. – 2008. – Vol. 7. – P. 1077-1086.
- 5 Briggs A.G, Bent A.F. Poly(ADP -ribose)ylation in plants // Trends Plant Sci. – 2011. – Vol. 16, № 7. – P. 372-80.
- 6 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.
- 7 Briggs A.G., Bent A.F. Poly(ADP -ribose)ylation in plants // Trends in Plant Science. – 2011. – Vol. 16, № 7. – P. 360-1385.
- 8 Hinz J.M., Rodriguez Y., Smerdon M.J. Rotational dynamics of DNA on the nucleosome surface markedly impact accessibility to a DNA repair enzyme // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2010. – Vol. 107. – P. 4646-4651.
- 9 Odell I.D., Barbour J.E., Murphy D.L., Della-Maria J.A., Sweasy J.B., Tomkinson A.E., Wallace, S.S., Pederson, D.S. Nucleosome disruption by DNA ligase III-XRCC1 promotes efficient base excision repair // Mol. Cell. Biol. – 2011. – Vol. 31. – P. 4623-4632.
- 10 Bonicalzi M.E., Haince J.F., Droit A., Poirier G.G. Regulation of poly(ADP-ribose) metabolism by poly(endonuclease of bull seminal plasma induced by ADP-ribosylation -ribose) glycohydrolase: where and when? // Cell. Mol. Life Sci. – 2005. – Vol. 62. – P. 739-750.
- 11 Ono T., Kasamatsu A., Oka S., Moss J. The 39-kDa poly-(ADP-ribose) glycohydrolase ARH3 hydrolyzes O-acetyl-ADP-ribose, a product of the Sir2 family of acetyl-histone deacetylases // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2006. – Vol. 103. – P. 16687-16691.
- 12 Sharifi R., Morra R., Appel C.D., Tallis M. et al. Deficiency of terminal endonuclease of bull seminal plasma induced by ADP-ribosylation -ribose protein glycohydrolase TARG1/C6orf130 in neurodegenerative disease // EMBO J. – 2013. – Vol. 32. – P.1225-1237.
- 13 Koh D.W., Lawler A.M., Poitras M.F., Sasaki M., Wattler S., Nehls M.C., Stoger T., Poirier G.G., Dawson V.L., Dawson T.M. Failure to degrade poly(ADP-ribose) causes increased sensitivity to cytotoxicity and early embryonic lethality // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2004. – Vol. 101. – P. 17699-17704.
- 14 Ame J.C., Fouquerel E., Gauthier L.R., Biard,D., Boussin F.D., Dantzer F., de Murcia G., Schreiber V. Radiation-induced mitotic catastrophe in PARG-deficient cells // J. Cell Sci. 2009. – Vol. 122. – P. 1990-2002.
- 15 Suter B., Auerbach D., Stagljar I. Yeast-based functional genomics and proteomics technologies: the first 15 years and beyond // Biotechniques. – 2006. – Vol. 40. – P. 625–644.
- 16 Hartwell L.H. Yeast and cancer // Biosci. Rep. – 2004. – Vol. 24. – P. 523–544.
- 17 Rissel D., Heym P.P., Peiter E.A. yeast growth assay to characterize plant poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) proteins and inhibitors // Anal. Biochem. – 2017. – Vol. 15, №527. – P. 20-23.
- 18 Kuanbay A.K., Smekenov I.T., Saparbayev M.K., Ishchenko A.A., Taipakova S.M., Bissenbaev A.K. Isolation and characterization of *Arabidopsis thaliana* poly(ADP-ribose) polymerase 2 cDNA// Experimental Biology. -2018. -Vol. 74, №1. – P. 99-111.
- 19 Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – Vol. 227. – № 5259. – P. 680-685.
- 20 Kaiser P., Auer B., Schweiger M. Inhibition of cell proliferation in *Saccharomyces cerevisiae* by expression of human NAD⁺ ADP-ribosyltransferase requires the DNA-binding domain ("zinc fingers") // Mol. Gen. Genet. – 1992. – Vol. 232. – P. 231e239.
- 21 Perrin D., Gras S., van Hille B., Hill B.T. Expression in yeast and purification of functional recombinant human poly(ADP-ribose)polymerase (PARP). Comparative pharmacological profile with that of the rat enzyme // J. Enzyme Inhib. – 2000. – Vol. 15. – P. 461e469.
- 22 Perkins E., Sun D., Nguyen A., Tulac S., Francesco M., Tavana H., Nguyen H., Tugendreich S., Barthmaier P., Couto J., Yeh E., Thode S., Jarnagin K., Jain A., Morgans D., Melese T. Novel inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase PARP1 and PARP2 identified using a cell-based screen in yeast // Cancer Res. – 2001. – Vol. 61. – P. 4175e4183.
- 23 Tao Z., Gao P., Liu H.W. Studies of the expression of human poly(ADP-ribose) polymerase-1 in *Saccharomyces cerevisiae* and identification of PARP-1 substrates by yeast proteome microarray screening // Biochemistry. – 2009. – Vol. 48. – P. 11745e11754.

- 24 La Ferla M., Mercatanti A., Rocchi G., Lodovichi S., Cervelli T., Pignata L., Caligo M.A., Galli A. Expression of human poly (ADP-ribose) polymerase 1 in *Saccharomyces cerevisiae*: effect on survival, homologous recombination and identification of genes involved in intracellular localization // *Mut. Res. – Fundam. Mol. Mechan. Mutagen.* – 2015. – Vol. 774. – P. 14e24.
- 25 Rissel D., Heym P.P., Thor K., Brandt W., Wessjohann L.A., Peiter E. No silver bullet – canonical poly(ADP-ribose) polymerases (PARPs) are no universal factors of abiotic and biotic stress resistance of *Arabidopsis thaliana* // *Front. Plant Sci.* 2007. – Vol. 8. – P. 59.
- 26 Gottipati P., Vischioni B., Schultz N., Solomons J., Bryant H.E., Djureinovic T., Issaeva N., Sleeth K., Sharma R.A., Helleday T. Poly(ADP-ribose) polymerase is hyperactivated in homologous recombination-defective cells // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70. – P. 5389–5398.
- 27 Weil M.K., Chen A.P. PARP inhibitor treatment in ovarian and breast cancer // *Curr. Probl. Cancer.* – 2011. – Vol. 35. – P. 7–50.
- 28 De Vos M., Schreiber V., Dantzer F. The diverse roles and clinical relevance of PARPs in DNA damage repair: current state of the art // *Biochem. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 84. – P. 137–146.
- 29 Tao G.H., Yang L.Q., Gong C.M., Huang H.Y., Liu J.D., Liu J.J., Yuan J.H., Chen W., Zhuang Z.X. Effect of PARP-1 deficiency on DNA damage and repair in human bronchial epithelial cells exposed to benzo(a)pyrene // *Mol. Biol. Rep.* – 2009. – Vol. 36. – P. 2413–2422.
- 30 De Block M., Verduyn C., De Brouwer D., Cornelissen M. Poly(ADP-ribose) polymerase in plants affects energy homeostasis, cell death and stress tolerance // *Plant J.* – 2005. – Vol. 41. – P. 95–106.
- 31 Amy G. Briggs and Andrew F. Bent. Poly(ADP-ribosylation) in plants // *Trends in Plant Science.* – 2011. – Vol. 16, № 7. – P. 360-1385.
- 32 Abraham A.T., Lin J., Newton D.L., Rybak S., Hecht S. RNA cleavage and inhibition of protein synthesis by bleomycin // *Chem. Biol.* – 2003. – Vol. 10. – P. 45–52.
- 33 Povirk L.F., Han Y.H., Steighner R.J. Structure of bleomycin-induced DNA double-strand breaks: predominance of blunt ends and single-base 5' extensions // *Biochemistry.* – 1989. – Vol. 28, № 14. – P. 5808-14.

Р.А. Молдажанова*, А.Д. Мауленбай, А.С. Рсалиев

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности,
Казахстан, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский,
*e-mail: rmoldazhan@bk.ru

РАСОВЫЙ СОСТАВ ВОЗБУДИТЕЛЯ *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS* В ЮЖНЫХ РЕГИОНАХ КАЗАХСТАНА В 2018 Г.

Желтая пятнистость листьев, вызываемая гемибитрофным грибом *Pyrenophora tritici-repentis* Drechsler – вредоносное заболевание пшеницы, распространившееся практически по всей территории Казахстана. Взаимодействие патосистемы «пшеница – патоген» становится одним из обсуждаемых вопросов и вызывает интерес со стороны фитопатологов, генетиков и селекционеров во всем мире. Популяционное исследование фитопатогенов необходимо для обоснования стратегий генетической защиты пшеницы, что позволяет охарактеризовать динамику расового состава патогенов, оценить влияние выращиваемых сортов пшеницы на изменчивость популяции гриба и эффективность генов устойчивости у растений-хозяев. Цель данного исследования – определение расового состава популяций желтой пятнистости листьев, собранных с коммерческих сортов озимой пшеницы, возделываемых в Алматинской, Жамбылской и Туркестанской областях. В исследовании были использованы 135 моноконидиальных изолята гриба, выделенных из образцов популяций, собранных на юге и юго-востоке республики в 2018 г. Расы патогена были определены с помощью сорта Glenlea, линий 6B365 и 6B662 – индикаторов продукции токсинов Ptr ToxA, Ptr ToxB и Ptr ToxC. В обследованных регионах преобладали расы 1 и 2, а также в отдельных популяциях встречались расы 3 и 8. В тестируемых изолятах ген ToxB не был выявлен, а все исследованные популяции на 100% состояли из изолятов, имеющих ген ToxA.

Ключевые слова: *Pyrenophora tritici-repentis*, пшеница, популяция, изолят, раса, ToxA, ToxB, некроз.

R.A. Moldazhanova*, A.D. Maulenbay, A.S. Rsaliyev

Research Institute for Biological Safety Problems Gvardeyskiy,
Kazakhstan, Zhambyl region, Korday district,
*e-mail: rmoldazhan@bk.ru

Pathogen racial composition of *Pyrenophora tritici-repentis* in the south regions of Kazakhstan in 2018 year

In this article are considered about tan spot of leaves caused by the hemibiotroph fungus *Pyrenophora tritici-repentis* Drechsler – a harmful wheat disease that has spread almost all over Kazakhstan. The interaction of the “wheat-pathogen” pathosystem becomes one of the discussing issues and piques the interest among the phytopathologists, genetics and breeders around the world. A population study of phytopathogens is necessary to substantiate strategies for the genetic protection of wheat, which makes it possible to characterize the dynamics of the racial composition of pathogens, to assess the influence of cultivated wheat sorts on the variability of the fungus population and the efficiency of resistance genes in host plants. The aim of this study is to determine the racial composition of tan spot populations collected from commercial winter wheat varieties of cultivated in the Almaty, Jambyl and Turkestan regions. The study used 135 monoconidial isolates of the fungus isolated from samples of populations collected in the south and southeast of the country in 2018. Pathogen races were identified using Glenlea, 6B365 and 6B662, Ptr ToxA, Ptr ToxB and Ptr ToxC. Races 3 and 8 prevailed in the surveyed regions, as well as in individual populations. In the isolates tested, the ToxB gene was not identified, and all the populations studied all consisted of isolates with the ToxA gene.

Key words: *Pyrenophora tritici-repentis*, wheat, population, isolate, race, ToxA, ToxB, necrosis.

Р.А. Молдажанова*, А.Д. Мәуленбай, А.С. Рсалиев
Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты,
Қазақстан, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейск қалашығы,
*e-mail: rmoldazhan@bk.ru

Қазақстанның оңтүстік аймақтарында *Pyrenophora tritici-repentis* қоздырғышының 2018 жылғы расалық құрамы

Жапырақ сары дағы *Pyrenophora tritici-repentis* Drechsler гемибиотрофты санырауқұлағы арқылы туындайтын, Қазақстанның барлық аймағына таралған бидайдың қауіпті ауруы. «Бидай-патоген» патожүйесінің өзара қарым-қатынасы бірден бір талқыланатын мәселе болумен қатар, ол әлемдегі фитопатологтар, генетиктер мен селекционерлер арасында қызығушылық тудыруда. Фитопатогендерді популяциялық зерттеу, бидайдың генетикалық қорғалу стратегиясын негіздеу үшін қажет, бұл патогендердің нәсілдік құрамының динамикасын сипаттауға, өсірілген бидай сорттарының саңырауқұлақтар популяциясының өзгергіштігіне және негізгі өсімдіктердегі төзімді гендердің тиімділігіне баға беруге мүмкіндік береді. Осы зерттеудің мақсаты – Алматы, Жамбыл және Түркістан облыстарында өсірілетін коммерциялық күздік бидай сорттарынан жиналған жапырақ сары дағы популяцияларының расалық құрамын анықтау. Зерттеуге 2018 жылы республикамыздың оңтүстік және оңтүстік-шығысынан жиналған популяциялар үлгісінен бөлінген саңырауқұлақтың 135 моноконидиалық изоляттары қолданылды. Ptr ToxA, Ptr ToxB және Ptr ToxC токсиндерінің индикаторлары болып табылатын Glenlea сорты, 6B365 және 6B662 линиялары арқылы патогеннің расалары анықталды. Зерттелген аймақтарда 1 және 2 раса басым болды, сонымен қатар жекелеген популяцияларда 3 және 8 расалар кездесті. Сыналған изоляттарда ToxB анықталмады, ал барлық зерттелген популяциялар 100% ToxA гені бар изоляттардан құралды.

Түйін сөздер: *Pyrenophora tritici-repentis*, бидай, популяция, изолят, раса, ToxA, ToxB, некроз.

Сокращения и обозначения

Ptr – *Pyrenophora tritici-repentis*.

Введение

Желтая пятнистость или пиренофороз является экономически значимым заболеванием пшеницы во многих странах [1, 2], в том числе и в Казахстане [3-5]. Возбудитель этого заболевания – гомоталличный аскомицет *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler образует селективные хозяин специфичные токсины, которые считаются факторами патогенности. Основным фактором является токсин Ptr ToxA, индуцирующий образование некротических пятен на листьях восприимчивых сортов пшеницы [6-9]. Кроме того, к настоящему времени известны токсины Ptr ToxB и PtrToxC, индуцирующие хлороз, и еще два токсина некроза, предварительно обозначенных общим названием Ptr ToxD [10-12].

Желтая пятнистость широко распространена в Центральной Азии, и его вредоносность особенно возрастает при внедрении нулевой и минимальной технологии возделывания зерновых культур [2-5]. В Казахстане желтая пятнистость заняла доминирующее положение среди листовых болезней пшеницы сравнительно недавно. В период 2000-2016 годы 5 раз происходили локальные вспышки желтой пятнистости листьев и

септориоза или обширные их эпифитотии [3, 4]. При этом потери урожая пшеницы составляли в среднем 15-20 %, а при раннем их проявлении до 30-40%. В последние годы происходит заметное расширение ареала и усиление вредоносности желтой пятнистости листьев на юге и юго-востоке Казахстана [3, 4]. Причинами развития болезни в Казахстане являются минимальная обработка почвы с сохранением стерни, монокультура пшеницы и возделывание неустойчивых к патогену сортов [3-5].

Для обоснования стратегий генетической защиты пшеницы необходимы популяционные исследования фитопатогенов. Они позволяют охарактеризовать динамику расового состава патогенов, эффективность генов устойчивости у растений-хозяев и оценить влияние выращиваемых сортов пшеницы на изменчивость популяции гриба [13]. Исследования популяций *P. tritici-repentis* в Казахстане, Кыргызстане и Узбекистане впервые выполнены в 2001 году, при этом в каждой из этих стран была выявлена только одна или две расы патогена [2]. В период 2003-2005 годы в различных регионах Казахстана (северных, центральных, восточных, юго-восточных) наиболее широко представлен расой 1, однако расы 2, 3 и 4 также были обнаружены [14]. После этого научные работы в данной области были прекращены на определенное время и возобновлены только в 2013-

2015 г. По данным исследования отмечается, что на территории Казахстана обнаружено 5 рас *P. tritici-repentis*. (1, 3, 4, 6 и 8), при этом доминировали расы 1 и 8 [15]. Недавно изучены расовый состав и вирулентности *P. tritici-repentis* в северном и юго-восточном Казахстане (г. Алматы) [13, 16]. В 2017 г. по признаку токсинообразования среди североказахстанских изолятов *P. tritici-repentis* выявлено четыре рас (1-4) [13], а в 2018 году обнаружено шесть рас (1, 2, 3, 4, 5, 8) [16]; среди юговосточных изолятов – шесть (1, 2, 3, 4, 7, 8) [16], соответственно. Результаты предыдущих исследований показывают, что в зависимости от региона и года исследований расовый состав *P. tritici-repentis* часто меняется, следовательно в природе образуются новые вирулентные расы патогена. Кроме того, в последнее время в южных регионах Казахстана целенаправленные научные работы по изучению расового состава *P. tritici-repentis* не проводились. В связи с этим изучение структуры популяции данного патогена, путей возникновения новых рас, потенциально опасных для коммерческих сортов твердой и мягкой пшеницы, в настоящее время не потеряло своей актуальности, а, напротив, приобретает еще большее значение в связи с изменениями, происходящими в производстве пшеницы.

Целью данной работы является определение расового состава популяций желтой пятнистости листьев, собранных с коммерческих сортов озимой пшеницы, возделываемых в Алматинской, Жамбылской и Туркестанской областях.

Материалы и методы

В исследованиях были использованы гербарные материалы растений, инфицированных желтой пятнистостью листьев, собранные во время фитосанитарного мониторинга на производственных и опытных посевах пшеницы в 6 районах 3 областей Казахстана (Туркестанская, Жамбылская и Алматинская область) в 2018 году [17].

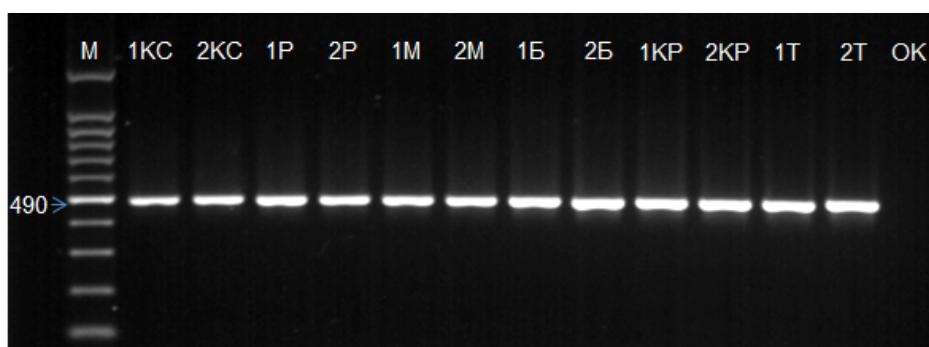
Для получения моноконидиальных изолятов *P. tritici-repentis* в чистую культуру из собранных листьев пшеницы с симптомами поражения вырезали сегменты, на которых располагались одноинфекционное пятно и прилегающий к нему участок зеленой ткани, отобранные образцы промывали в проточной воде в течение часа, стерилизовали в растворе 5% NaCl. Простерилизованные кусочки листьев промывали дважды в стерильной воде, просушивали стерильной фильтровальной бумагой, после чего помещали на питательную среду V4. В течение трех дней чашки инкубировали в термостате под УФ-лампами (ЛЭ-30) при температуре 20-22°C и для стимуляции образования конидий *P. tritici-repentis* помещали в холодильник на 24 часа (температура 5–8°C) [18]. В результате было всего выделено 135 моноконидиальных изолята желтой пятнистости листьев (таблица 1). В основном изоляты гриба выделены из листьев коммерческих сортов озимой пшеницы Стекловидная 24, Красновопадская 210, Богарная 56, Алмалы, Казахстанская 10, которые допущены к использованию на территории Республики Казахстан.

Таблица 1 – Происхождение и число изолятов *Pyrenophora tritici-repentis*

Происхождение изолятов			Источники инфекции, сорта пшеницы	Обозначения популяции	Число моноконидиальных изолятов гриба, шт
область	район	село			
Алматинская	Карасайский	Алмалыбак	Алмалы	Карасай	21
Жамбылская	Рыскуловский	Кулан	Казахстанская 10	Рыскулов	15
	Меркенский	Кызыл Шаруа	Стекловидная 24	Мерке	17
	Байзаковский	Туймекент	Казахстанская 10	Байзак	23
	Кордайский	Кайнар, Гвардейский	Богарная 56, Стекловидная 24	Кордай	19 25
Туркестанская	Тулкибасский	Састобе	Красноводопадская 210	Тулкибас	15
Всего					135

ДНК изолятов гриба выделяли с использованием набора Plant/Fungi DNA Isolation Kit (Norgen Biotek corp., Канада), согласно протоколу производителя (www.norgenbiotek.com). Вид гриба идентифицировали по морфологическим признакам конидий. Дополнительно провели молекулярную идентификацию *P. tritici-repentis* с использованием видеоспецифичных

праймеров [19] (рисунок 1). Условия проведения ПЦР для диагностики *P. tritici-repentis* приведены в оригинальном источнике [19]. Данные ПЦР анализа показали, что исследованные изоляты во всех популяциях относятся к гемибиотрофному грибу *P. tritici-repentis*, результаты оставшихся моноконидиальных изолятов аналогичны рисунку 1.



Размер ПЦР продукта – 490 п.н. Обозначения: М – маркер; 1КС, 2КС – Карасай; 1Р, 2Р – Рыскулов; 1М, 2М – Мерке; 1Б, 2Б – Байзак; 1КР, 2КР – Кордай; 1Т, 2Т – Тулкибас; ОК – отрицательный контроль.

Рисунок 1 – Результаты проведения идентификации *Pyrenophora tritici-repentis*

Основным фактором патогенности *P. tritici-repentis* являются экзотоксины PtrToxA, PtrToxB, PtrToxC. На листьях чувствительных растений PtrToxA индуцирует образование некрозов, PtrToxB и PtrToxC – хлорозов. В соответствии с вероятными сочетаниями токсинов изоляты разделяются на восемь рас (2^3). С помощью канадского набора дифференциаторов, представленного сортом Glenlea, 6B662, 6B365 и Salamouni, определяли способность моноконидиального изолята *P. tritici-repentis* продуцирующей экзотоксины PtrToxA, PtrToxB, PtrToxC и на основании этого определяли их расовую принадлежность [21].

Определение расового состава *P. tritici-repentis* была проведена с помощью инокуляции отрезков листьев, помещенных в раствор бензимидазола, поддерживающего в срезанных листьях неизменный метаболизм [18]. Проростки пшеницы выращивали в теплице при температуре 21°C днем и 18°C ночью с 16-часовым фотопериодом. Через 10 дней после посева растения в фазе 2 листьев использовали для инокуляции. Инфекционный материал готовили за 3 недели до заражения. С помощью канадского набора дифференциаторов, представленного сортом Glenlea и линиями 6B662 и 6B365, определяли способность изолятов *P. tritici-repentis* проду-

цировать экзотоксины ToxA, ToxB и ToxC и на основании этого определяли их расовую принадлежность [20]. Кроме того с помощью ПЦР определено наличие или отсутствие в изолятах генов ToxA и ToxB. Условия проведения ПЦР приведены в оригинальном источнике [19]. Анализ продуктов амплификации проводили при помощи электрофореза в 1,5 % агарозном геле в TBE буфере. Для определения длин амплифицированных фрагментов использовали 100bp DNA Ladder, Invitrogen, США.

Результаты исследований

В результате анализа 135 моноконидиальных изолята по признакам образования хлоротических и некротических пятен на сортах-дифференциаторах были идентифицированы четыре расы *P. tritici-repentis* (таблица 2). Выявленные расы *P. tritici-repentis* неравномерно распределялись между популяциями, причем с различной частотой встречаемости. Раса 1 (PtrToxA, PtrToxC), индуцирующая образование хлоротических пятен на линии 6B365 и некротических пятен на сорте Glenlea, присутствовала во всех образцах популяций с частотой встречаемости от 46 % до 68 %.

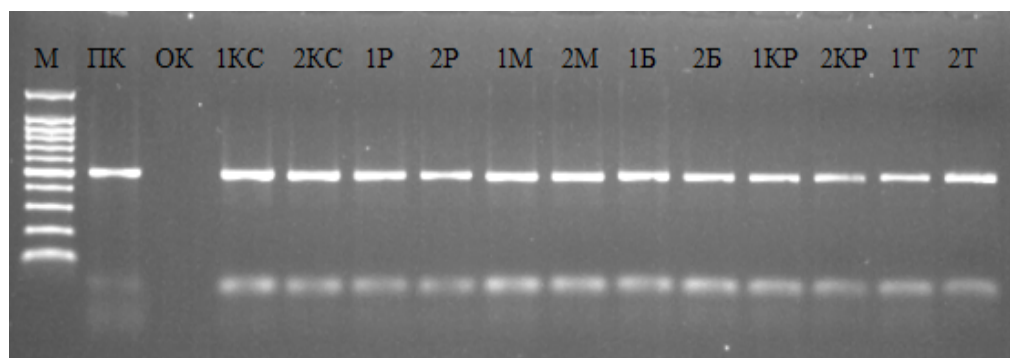
Таблица 2 – Расовый состав популяций *P. tritici-repentis* в южных регионах Казахстана

Раса	Фенотип расы, определенный на соргах-дифференциаторах (токсины некроза и хлороза)	Число изолятов (%) в популяциях <i>P. tritici-repentis</i> :					
		Кордай	Мерке	Рыскулов	Байзак	Тулкибас	Карасай
1	Ptr ToxA*, Ptr ToxC**	62	68	50	65	55	46
2	Ptr ToxA	18	22	27	35	18	10
3	Ptr ToxC	20	10	23	0	0	10
4	Не образует токсины	0	0	0	0	0	0
5	Ptr ToxB	0	0	0	0	0	0
6	Ptr ToxB, Ptr ToxC	0	0	0	0	0	0
7	Ptr ToxA, Ptr ToxB**	0	0	0	0	0	0
8	Ptr ToxA, Ptr ToxB, Ptr ToxC	0	0	0	0	27	34
Доля изолятов, имеющих ген ToxA		100	100	100	100	100	100

Примечания: 1 * – токсин Ptr ToxA, индуцирующий некроз на восприимчивом сорте
2 ** - токсины Ptr ToxB и Ptr ToxC, индуцирующие хлороз на восприимчивом сорте

Раса 2 (PtrToxA), индуцирующая образование некротических пятен на сорте Glenlea, также была обнаружена во всех популяциях (рисунок 2) гриба и варьировала от 10 % до

35 % с доминированием в Байзакском районе (Жамбылская область) и наименьшей частотой в Карасайском районе (Алматинская область).



Размер ПЦР продукта – 510 п.н. Обозначения: М – маркер; ПК – положительный контроль; ОК – отрицательный контроль; 1К, 2К – Карасай; 1Р, 2Р – Рыскулов; 1М, 2М – Мерке; 1Б, 2Б – Байзак; 1КР, 2КР – Кордай; 1Т, 2Т – Тулкибас.

Рисунок 2 – Результаты проведения идентификации Ptr ToxA.

Раса 3, индуцирующая образование хлоротических пятен на линии 6V365 и продуцирующая токсин PtrToxC зарегистрированы в популяциях Кордай, Мерке, Рыскулов и Карасай. Хотя данная раса встречается значительно реже (доля изолятов от 10 % до 23 %), чем расы 1 и 2. Раса 8 присутствовала только в популяциях Тулкибасского и Карасайского районов с частотой встречаемости 27 % и 34 %, соответственно. Расы 4, 5, 6 и 7 не выявлены в южных регионах республики в 2018 г.

При исследовании генов ToxA и ToxB в изолятах гриба методом ПЦР анализа ген ToxB не был выявлен в изученных нами популяциях, продукты амплификации гена ToxA обнаружены у всех изолятов южно-казахстанской популяции (100%) 2018 г., образующих некротические пятна на сорте Glenlea. Результаты проведения идентификации PtrToxA показаны в едином рисунке, так как результаты других моноконидиальных изолятов аналогичны Рисунок 2.

Обсуждение

Исследования популяции *P. tritici-repentis* по расовому составу ведутся в течение многих лет практически во многих странах производства пшеницы. По данным зарубежных исследований наблюдается что, расы 1 и 2 доминируют в прериях западной Канады [21]. В США на территории Великих равнин раса 1 найдена на мягкой яровой пшенице и составила более 90 % популяции патогена [22]. Обследовав расовый состав популяций гриба в направлении Великого шелкового пути, Ламари с соавторами [23] определили, что в образцах популяций из Азербайджана и Сирии разнообразие по расовому составу является наибольшим; там обнаружены шесть рас 1, 2, 3, 5, 7 (PtrToxA, PtrToxB) и 8 (PtrToxA, PtrToxC, PtrToxB), тогда как в Казахстане, Киргизии и Узбекистане не более чем по две расы. В Чешской республике в 2000-2003 годах доминировала раса 1, в малых количествах обнаружены расы 2 и 4 [24]. Данные бразильских ученых изучивших 40 изолятов *P. tritici-repentis* указывают на доминирование рас 1 (PtrToxA, PtrToxC) и 2 (PtrToxA) [25]. Высокое разнообразие рас было отмечено во всех российских популяциях патогена Ptr, доминировали расы 1 и 2 [26], что соответствует литературным данным.

В данной работе показан расовый состав *P. tritici-repentis* в южных регионах Казахстана в 2018 г. Исследованные популяции отличаются по вирулентности к сортам-дифференциаторам и по частоте встречаемости рас. Почти во всех популяциях отмечено преобладание рас 1 и 2, доля которых в регионах составила 46-68 % и 10-35 %, соответственно. Расы 1 и 2 возбудителя *P. tritici-repentis*, доминирующие в изученных южных популяциях, относятся к группе широко распространенных также и в других регионах Казахстана [2, 13, 16]. Недавно полученные данные свидетельствуют о том, что большинство сортов пшеницы, выращиваемых в Казахстане и России, обладают расоспецифической устойчивостью к желтой пятнистости листьев [4]. При этом на основе фитопатологического и молекулярного скрининга мировой коллекции пшеницы было выявлено сортообразцы яровой мягкой пшеницы, проявляющие высокую устойчивость к расам 1 и 2, а также нечувствительность к токсинам Ptr ToxA и Ptr ToxB [4, 27].

Расы 3 и 8 обнаружены не во всех изученных популяциях, при этом раса 3 отмечена в 4 популяциях (Кордай, Мерке, Рыскулов и Карасай), а раса 8 – в 2 популяциях (Тулькибас, Карасай),

соответственно. Установлено, что большинство казахстанских и российских сортов пшеницы восприимчивы именно к расе 8 [4], в связи, с чем необходимо найти источников устойчивости к данной расе. В ходе исследований нами не выявлены расы 4, 5, 6 и 7 в популяциях 2018 г., хотя по литературным данным расы 4 и 7 отмечены в 2017 и 2018 гг. в северных и юго-восточных регионах Казахстана [13, 16].

Prt-токсин является мономерным основным белком, с достаточно большим молекулярным весом (13900 Da), что отличает его от большинства грибных токсинов. Prt-токсин зарегистрирован в листьях растений пшеницы, инокулированных *nes⁺*- изолятами (не *nes⁻*) *P. tritici-repentis*. Причем Prt-токсин присутствует в межклеточной жидкости, как у чувствительных, так и у устойчивых к болезни сортов пшеницы. Таким образом, синтез токсина является конститутивным и не зависит от генотипа растения-хозяина. Токсин распространяется по сосудистой системе, опережая растущие гифы. Некроз развивается по направлению от основания листа к верхушке. При обработке Prt-токсином ткани листа плазмолема клеток и мембраны хлоропластов теряют свою целостность, возрастает утечка электролитов, через 18 часов после инфильтрации наблюдается массовое отмирание клеток [29].

Взаимоотношения в патосистеме «пшеница – *P. tritici-repentis*» осуществляются по типу «гена-ген», и выражаются в том, что продукты генов вирулентности патогена (хозяин-специфичные токсины) при взаимодействии с продуктами генов восприимчивости растения-хозяина вызывают совместимость, т.е. развитие болезни [16, 28]. Следовательно, генетика устойчивости коммерческих сортов пшеницы играет непосредственную роль в изменении вирулентности локальных популяций и отборе рас *P. tritici-repentis*. В нашем случае инфекционные материалы патогена в основном собраны с коммерческих сортов озимой пшеницы (Стекловидная 24, Богарная 56, Алмалы, Казахстанская 10) (таблица 1), у которых информация по генам устойчивости к желтой пятнистости листьев отсутствует, в связи, с чем не возможно достоверно оценить какие гены могли повлиять на результаты данного анализа расового состава *P. tritici-repentis*.

Выводы

Результаты определения расового состава популяции *P. tritici-repentis*, собранной на территории южного Казахстана, показали преобладание

рас 1 и 2, тогда как расы 3 и 8 встречались в меньшей степени, а расы 4, 5, 6 и 7 и вовсе не были выявлены. Исследованные популяции отличаются друг от друга по частоте встречаемости рас, выявленных по способности образовывать токсины, по вирулентности к сортам-дифференциаторам пшеницы. Так же при исследовании генов ToxA и ToxB в изолятах гриба методом ПЦР ген ToxB не был обнаружен, а ген ToxA, напротив, часто встречался в изолятах *P. tritici-repentis*. В связи с этим, учитывая актуальность контроля внутривидовой изменчивости патогена с теоретических позиций, равно как и с практической точки зрения – создания новых сортов с идентифицированными генами устойчивости к болезни, в связи с чем представленные результаты в данной статье имеют большое практиче-

ское значение. Планируется провести повторное исследование по определению расового состава возбудителя гриба *Pyrenophora tritici-repentis*, собранных с коммерческих сортов озимой пшеницы с других областей Казахстана.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан в рамках ПЦФ «Разработка инновационных систем для повышения устойчивости сортов пшеницы к особо опасным болезням в Республике Казахстан» на 2018-2020 гг. (ИРН BR0649329).

Авторы благодарят сотрудников НИИПББ Амирханову Н.Т. и Байгутова М.Ж., за оказанную помощь при получении экспериментов.

Литература

- 1 Mikhailova L.A., Mironenko N.V., Kovalenko N.M. Populations of *Pyrenophora tritici-repentis* in the North Caucasus and the North-West of Russia: the racial composition and dynamics of virulence. // *Mycology and Phytopathology* – 2014. – P. 393-400
- 2 Lamari L., Strelkov S., Yachyaoui A., Koishibayev M. Virulence of *Pyrenophora tritici-repentis* in the countries of the Silk Road. // *Canad. Jour. of Plant Pathology*. – 2005 – P. 316 -318
- 3 Койшыбаев М. Распространение и развитие желтой пятнистости пшеницы в Казахстане // *Микология и фитопатология*, 2010. – С. 177-186
- 4 Kokhmetova A., Kremneva O., Volkova G., Atishova M., Sapakhova Z. Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot // *Journal of Plant Pathology*. – 2017. – Vol. 99 (1). – P. 161-167.
- 5 Yachyaoui A., Lamari L., Parker B., Koishibayev M. Cereal diseases, insects, pests in Central Asia: occurrence and distribution // *Proceedings of the 1st Central Asian Wheat Conference*. – Almaty, 2003. – P. 637-638.
- 6 Ballance G.M., Lamari L., Bernier C.C. Purification and characterization of a host-selective necrosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis* // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 1989. – Vol. 35. – P. 203-213.
- 7 Lamari L., Bernier C.C. Virulence of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* on 11 wheat cultivars and cytology of the different host reaction // *Can. J. Plant Pathol.* – 1989. – Vol. 11. – P. 284-290.
- 8 Tomas A., Feng G.H., Reece G.R., Bockus W.W., Leach J.E. Purification of a cultivar-specific toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 1990. – Vol. 3. – P. 221-224.
- 9 Tuori R.P., Wolpert T.J., Ciuffetti L.M. Purification and immunological characterization of toxic components from cultures of *Pyrenophora tritici-repentis* // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 1995. – Vol. 8. – P. 41-48.
- 10 Ciuffetti L.M., Franel L.J., Ballance G.M., Bockus W.W., Lamari L., Meinhardt S.W., Rasmussen J.B. Standardization of toxin nomenclature in the *Pyrenophora tritici-repentis* wheat interaction // *Can. J. Plant Pathol.* – 1998. – Vol. 20. – P. 421-424.
- 11 Manning V.A., Pandelova I., Ciuffetti L.M. A race for a novel host selective toxin (Abstr.) // *Phytopathology*. – 2002. – Vol. 92. – P. 51.
- 12 Pandelova I., Ciuffetti L.M. A proteomics-based approach for identification of the ToxD gene // *Fung. Genet. Newsl.* – 2005. – Vol. 52. – P. 133.
- 13 Гульятеева Е.И., Коваленко Н.М., Шаманин В.П., Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Шайдаюк Е.Л., Моргунов А.И. Структура популяций листовых патогенов яровой пшеницы в западноазиатских регионах России и Северном Казахстане в 2017 г. // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018. – Т.22(3). – С.363-369.
- 14 Мараит А., Меркадо Вернес Д., Ренард М.Е., Жанарбекова А., Дювейле Э. Значение разнообразия в борьбе с желтой пятнистостью и ожогом листьев пшеницы в Центральной Азии. // *Агромеридиан*. 2006. №2(3). – С.105-115.
- 15 Кохметова А.М., Кремнева О.Ю., Кейшилов Ж.С., Султанова Н. Ж. Расовый состав и вирулентность изолятов *Pyrenophora tritici-repentis* в Северо-кавказском регионе России и Республике Казахстан // *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2016. №3. С.57-66.
- 16 Мироненко Н.В., Коваленко Н.М., Баранова О.А. Характеристика географически отдаленных популяций *Pyrenophora tritici-repentis* по вирулентности и генам токсинообразования ToxA и ToxB // *Вестник защиты растений*. – 2019. Т.1(99). – С.24–29.
- 17 Рсалиев А.С., Байгутов М.Ж., Асраубаева А.М., Гульятеева Е., Амирханова Н.Т. Сбор образцов популяции видов ржавчины и пятнистости листьев пшеницы в регионах Казахстана. // *Сборник трудов международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Досмухамбетова Т.М. «Наука, производство, бизнес: современное*

состояние пути инновационного развития аграрного сектора на примере Агрохолдинга «Байсерке-Агро». – Алматы, 2019. – Т. 2. – С.48-53.

18 Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. Желтая пятнистость пшеницы. Методические указания по изучению популяции возбудителя желтой пятнистости *Pyrenophora tritici-repentis* и устойчивости сортов. // СПб. 2012. – С. 39.

19 Antoni E. A., Rybak K., Tucker M. P., Hane J. K., Solomon D.S., Drenth A., Shankar M., Oliver R.D. Ubiquity of ToxA and absence of ToxB in Australian populations of *Pyrenophora tritici-repentis* // Austral. Plant Pathol. 2010. Vol. 39. P. 63-68.

20 Lamari L., Gilbert J., Tekauz A (1998) Race differentiation in *Pyrenophora tritici-repentis* and survey of physiologic variation in western Canada. // Can J Plant Pathol 20:396–400

21 Lamari L., Strelkov S.E., Yahyaoui A., Orabi J., Smith R.B. The identification of two new race of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one-to-one relationship in tan spot of wheat // Phytopatology. – 2003. – Vol. 93 (4). – P. – 391-396.

22 Ali S., Francl L.J. Population race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* prevalent on wheat and noncereal grasses in the Great Plains // Plant Dis. 2003, Vol. 87, N 4, – P. 418-422.

23 Kokhmetova A., Kremneva O., Volkova G., Atishova M., Sapakhova Z. Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot // Journal of Plant Pathology. – 2017. – Vol. 99 (1). – P. 161-167.

24 Sarova J. Wheat leaf spot disease *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. Summary of PhD Thesis. Prague Research Institute of Crop Production, 2004, – p. 15.

25 Victória V. B., Jéssica R. F., Zhaohui L. André C. R., Carolina C. D. Phenotypical and genotypical characterization of *Pyrenophora tritici-repentis* races in Brazil // Eur J Plant Pathol.

26 Кремнева О.Ю., Волкова Г.В. Структура популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на Северном Кавказе по вирулентности и морфолого-культуральным признакам // Микология и фитопатология, 2007, №4, – С. 356-361.

27 Кохметова А.М., Али С., Сапахова З., Атишова М.Н. Идентификация генотипов-носителей устойчивости к токсинам пиренофороза Ptr ToxA и Ptr ToxB *Pyrenophora tritici-repentis* в коллекции мягкой пшеницы. // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(8):978-986

28 Strelkov S, Lamari L. Host parasite interactions in tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] of wheat // Can J Plant Pathol. 2003. V. 25. P. 339–349.

29 Л. А. Михайлова, Т. И. Пригоровская, Желтая пятнистость листьев пшеницы *Pyrenophora tritici-repentis*, Михайлова Л.А., Пригоровская Т.Г. Желтая пятнистость листьев пшеницы . *Pyrenophora tritici-repentis*. / Микология и фитопатология. Т. 34. Вып. 1. 2000 г. С. 7-16.

References

1. Mikhailova L.A., Mironenko N.V., Kovalenko N.M. “Populations of *Pyrenophora tritici-repentis* in the North Caucasus and the North-West of Russia: the racial composition and dynamics of virulence.” *Mycology and Phytopathology*, (2014): 393-400.

2. Lamari L., Strelkov S., Yachyaoui A., Koishibayev M. “Virulence of *Pyrenophora tritici-repentis* in the countries of the Silk Road.” *Canad. Jour. of Plant Pathology*. – P. 316 -318.

3. Kojshy'baev M., “Rasprostraneniye i razvitiye zheltoy pyatnistosti pshenicy v Kazahstane.” *Mikologiya i fitopatologiya*, (2010): 177-186.

4. Kokhmetova A., Kremneva O., Volkova G., Atishova M., Sapakhova Z. “Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot.” *Journal of Plant Pathology*. Volume 99 (1), (2017): 161-167.

5. Yahyaoui A., Lamari L., Parker B., Koishibayev M. “Cereal diseases, insects, pests in Central Asia: occurrence and distribution.” *Proceedings of the 1st Central Asian Wheat Conference*. – Almaty, (2003): 637-638.

6. Ballance G.M., Lamari L., Bernier C.C. “Purification and characterization of a host-selective necrosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*.” *Physiol. Mol. Plant Pathol.*– Volume 35, (1989): 203-213.

7. Lamari L., Bernier C.C. “Virulence of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* on 11 wheat cultivars and cytology of the different host reaction.” *Can. J. Plant Pathol*. Volume 11 (1989): 284-290.

8. Tomas A., Feng G.H., Reeck G.R., Bockus W.W., Leach J.E. “Purification of a cultivar-specific toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat.” *Mol.Plant-Microbe Interact*. Volume 3. – 4. (1990): 221-224.

9. Tuori R.P., Wolpert T.J., Ciuffetti L.M. “Purification and immunological haracterization of toxic components from cultures of *Pyrenophora tritici-repentis*.” *Mol. Plant-Microbe Interact*. Volume 8– 1, (1995): 41-48.

10. Ciuffetti L.M., Francl L.J., Ballance G.M., Bockus W.W., Lamari L., Meinhardt S.W., Rasmussen J.B. “Standarization of toxin nomenclature in the *Pyrenophora tritici-repentis* wheat interaction.” *Can. J. Plant Pathol*. –Volume 20. (1998): 421-424.

11. Manning V.A., Pandelova I., Ciuffetti L.M. “Arace for a novel host selective toxin (Abstr.) *Phytopathology*.” Volume 92, (2002): 51.

12. Pandelova I., Ciuffetti L.M. “Aproteomics-based approach for identification of the ToxD gene.” *Fung. Genet.Newsl*. Volume 52, (2005): 133.

13. Gul'tyayeva Ye. I., Kovalenko N.M., Shamanin V.P., Tunin V.A., Shreyder Ye.R., Shaydayuk E.L., Morgunov A.I., “Struktura populyaciy listovyh patogenov yarovoi pshenitsy v zapadnoaziatskih regionah Rossii i Severnom Kazahstane v 2017 g.” *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selekcii*. (2018): 363-369.


14. Marait A., Merkado Vernes D., Renard M.E., Zhanarbekova A., Dyuvejle E`. “Znachenie raznoobraziya v bor'be s zheltoj pyatnistost'yu i ozhogom list'ev pshenitsy` v Ccentral'noj Azii.” // *Agromeridian*. #2(3). (2006): 105-115.

15. Kokhmetova A.M., Kremneva O.Yu., Kejshilov Zh.S., Sultanova N. Zh. "Rasovy'j sostav i virulentnost' izolyatov *Pyrenophora tritici-repentis* v Severo-kavkazskom regione Rossii i Respublike Kazakhstan" // Eurasian Journal of Applied Biotechnology. #3 (2016): 57-66.
16. Mironenko N.V., Kovalenko N.M., Baranova O.A. "Kharakteristika geograficheski otdalenny'kh populyacij *Pyrenophora tritici-repentis* po virulentnosti i genam toksinoobrazovaniya ToxA i ToxB." Vestnik zashchity rasteniy no 1(99), (2019): 24-29.
17. Rsaliev A.S., Bajgutov M.Zh., Asraubaeva A.M., Gul'tyaeva E., Amir Khanova N.T. "Sbor obrazczov populyaczii vidov rzhavchiny' i pyatnistosti list'ev psheniczy' v regionakh Kazakhstana." Sbornik trudov mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferenczii, posvyashhennoj 70-letiyu Dostukhambetova T.M. «Nauka, proizvodstvo, biznes: sovremennoe sostoyanie puti innovacionnogo razvitiya agrarnogo sektora na primere Agrokholdinga «Bajserke-Agro». – Almaty, no 2, (2019): 48-53.
18. Mikhajlova L.A., Mironenko N.V., Kovalenko N.M. "Zheltaya pyatnistost' psheniczy'. Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu populyaczii vozбудitelya zheltoj pyatnistosti *Pyrenophora tritici-repentis* i ustojchivosti sortov." SPb (2012): 39.
19. Antoni E. A., Rybak K., Tucker M. P., Hane J. K., Solomon D.S., Drenth A., Shankar M., Oliver R.D. "Ubiquity of ToxA and absence of ToxB in Australian populations of *Pyrenophora tritici-repentis*." Austral. Plant Pathol. Volume 39 (2010): 63-68.
20. Lamari L., Gilbert J., Tekauz A. "Race differentiation in *Pyrenophora tritici-repentis* and survey of physiologic variation in western Canada." Can J Plant Pathol (1998): 396-400.
21. Lamari L., Strelkov S.E., Yahyaoui A., Orabi J., Smith R.B. The identification of two new race of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one-to-one relationship in tan spot of wheat // Phytopatology. – 2003. – Vol. 93 (4). – P. – 391-396.
22. Ali S., Franel L.J. Population race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* prevalent on wheat and noncereal grasses in the Great Plains // Plant Dis. 2003, Vol. 87, N 4, – P. 418-422.
23. Kokhmetova A., Kremneva O., Volkova G., Atishova M., Sapakhova Z. Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot // Journal of Plant Pathology. – 2017. – Vol. 99 (1). – P. 161-167.
24. Sarova J. Wheat leaf spot disease *Pyrenophoraitritici-repentis* (Died.) Drechs. Summary of PhD Thesis. Prague Research Institute of Crop Production, 2004, – p. 15.
25. Victória V. B., Jéssica R. F., Zhaohui L. André C. R., Carolina C. D. Phenotypical and genotypical characterization of *Pyrenophora tritici-repentis* races in Brazil // Eur J Plant Pathol.
26. Kremneva O.Yu., Volkova G.V. "Struktura populyaczii *Pyrenophora tritici-repentis* na Severnom Kavkaze po virulentnosti i morfologo-kul'tural'ny'm priznakam" // Mikologiya i fitopatologiya, №4, (2007): 356-361.
27. Kokhmetova A.M., Ali S., Sapakhova Z., Atishova M.N. "Identifikacziya genotipov-nositelej ustojchivosti k toksinam pirenoforoza Ptr ToxA i Ptr ToxB *Pyrenophora tritici-repentis* v kollekczii myagkoj psheniczy'." Vavilovskij zhurnal genetiki i selekczii, no 22(8), (2018): 978-986.
28. Strelkov S, Lamari L. "Host parasite interactions in tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] of wheat." Can J Plant Pathol. Volume 25 (2003): 339-349.
29. L. A. Mikhajlova, T. I. Prigorovskaya, "Zheltaya pyatnistost' list'ev psheniczy' *Pyrenophora tritici-repentis*." / Mikologiya i fitopatologiya (2000): 7-16.

4-бөлім
ЗООЛОГИЯ

Section 4
ZOOLOGY

Раздел 4
ЗООЛОГИЯ

М.О. Аубакирова^{1,2*} , Е.Г. Крупа³,
А. Минат², Б.И. Абилов²

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

²Научно-производственный центр рыбного хозяйства, Казахстан, г. Алматы

³Институт зоологии, Казахстан, г. Алматы,

*e-mail: aubakirovamdirkaznukz@gmail.com

ВИДОВОЕ БОГАТСТВО ЗООПЛАНКТОНА МАЛЫХ ОЗЁР АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Исследования малых озёр являются актуальными для понимания их роли в сохранении биологического разнообразия. Изучение семи малых озёр Алматинской области (Малая Подкова, Большая Подкова, Косагаш, Деревянное, Алтынколь, Али, Первомайка) было выполнено в июне и августе 2019 г. Отбор и обработка проб зоопланктона были проведены стандартными методами. В период исследований зоопланктон был представлен 54 таксонами. Минимальное число видов планктонных беспозвоночных было зафиксировано в озере Большая Подкова, максимальное – в оз. Первомайка. Фоновыми видами являлись *A. priodonta*, *K. cochlearis*, *K. quadrata*, *A. rectangula*, *B. longirostris*, *T. crassus*. В озерах Али, Деревянное, Косагаш, Алтынколь существенных различий в составе зоопланктона от начала к концу лета не выявлено, при четырехкратном снижении этого показателя в озерах Большая Подкова, Малая Подкова и Первомайка. Сравнительный анализ комплекса фоновых видов зоопланктона выявил большое сходство с таковыми водоемов, находящихся под влиянием рыб планктофагов. Специфические черты зоопланктонофауны малых озёр Алматинской области обусловлены совокупным влиянием факторов среды, прежде всего, уровня зарастания, кормовой базы, гидрохимического режима и распространения рыб планктофагов.

Ключевые слова: малые озёра, зоопланктон, видовое богатство.

М.О. Aubakirova^{1,2*}, E.G. Krupa³, A. Minat², B.I. Abilov²

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Fisheries Research and Production Center, Kazakhstan, Almaty

³Institute of Zoology, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: aubakirovamdirkaznukz@gmail.com

Species richness of zooplankton in small lakes of Almaty region

Studies of small lakes are topical for awareness of their role in the conservation of biological diversity. A study of seven small lakes in the Almaty region (Malaya Podkova, Bolshaya Podkova, Kosagash, Derevyannoe, Altynkol, Ali, Pervomaika) was carried out in June and August 2019. Standard methods performed the sampling and processing of samples. Zooplankton was represented by 54 taxa. The minimum number of species of planktonic invertebrates was recorded in Lake Bolshaya Podkova, the maximum one in Pervomaika lake. Species *A. priodonta*, *K. cochlearis*, *K. quadrata*, *A. rectangula*, *B. longirostris*, *T. crassus* were widespread. There were no significant differences in the composition of zooplankton from the beginning to the end of summer in lakes Ali, Derevyannoe, Kosagash, Altynkol. However, in the lakes Bolshaya Podkova, Malaya Podkova, and Pervomaika, the value decreased four times. A comparative analysis of the complex of widespread species of zooplankton revealed a significant similarity with those of water bodies, which are under the influence of planktivorous fish. The specific features of the zooplankton fauna of small lakes in the Almaty region are due to the combined impact of environmental factors, primarily the development of macrophytes, food resources, hydrochemical regime, and distribution of planktivorous fish.

Key words: small lakes, zooplankton, species richness.

М.О. Аубакирова^{1,2*}, Е.Г. Крупа³, А. Минат², Б.И. Абилов²

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

²Балық шаруашылығы ғылыми-өндірістік орталығы, Қазақстан, Алматы қ.

³Зоология институты, Қазақстан, Алматы қ.,

*e-mail: aubakirovamoldirkaznukz@gmail.com

Алматы облысындағы шағын көлдердің зоопланктонының түрлік байлығы

Шағын көлдерді зерттеу биологиялық әртүрлілікті сақтаудағы олардың рөлін түсіну үшін өзекті болып табылады. Алматы облысының жеті шағын көлін зерттеу (Кіші Подкова, Үлкен Подкова, Қосағаш, Деревянное, Алтынкөл, Әли, Первомайка) 2019 жылдың маусым және тамыз айларында орындалды. Зоопланктон сынамаларын іріктеу және өңдеу стандартты әдістермен жүргізілді. Зоопланктонды зерттеу кезінде 54 таксон табылған. Планктонды омыртқасыздардың ең аз түрлер саны Үлкен Подкова көлінде, ең көп саны Первомайка көлінде тіркелген. Фондық түрлер қатарына колвраткалар *A. priodonta*, *K. cochlearis*, *K. quadrata*, бұтақмұрттылар *A. rectangula*, *B. longirostris*, ескекаяқты шаян *T. crassus* кірді. Әли, Деревянное, Қосағаш, Алтынкөл көлдерінде зоопланктон құрамындағы елеулі айырмашылық жаздың басынан аяғына дейін анықталған жоқ, алайда бұл көрсеткіш Кіші Подкова, Үлкен Подкова және Первомайка көлдерінде төрт рет төмендеген. Зоопланктонның фондық түрлері кешенінің салыстырмалы талдауы планктофаг балықтарының ықпалында болатын су қоймаларынан үлкен ұқсастықты анықтады. Алматы облысының шағын көлдері зоопланктонофаунасының ерекше белгілері орта факторларының, ең алдымен, су өсімдіктері өсу деңгейінің, коректік базаның, гидрохимиялық режимнің және планктофаг балықтарының таралу деңгейінің әсерімен шартталған.

Түйін сөздер: шағын көлдер, зоопланктон, түрлік байлық.

Введение

Видовое богатство биологических сообществ в лентических экосистемах имеет тенденцию увеличиваться от небольших временных водоемов к более крупным и постоянным [1, 2]. Растущий интерес к малым водоемам, таким как родники, реки, пруды, небольшие озера [3], обусловлен своеобразием их фауны [4, 5]. Специфический облик фауны малых водоемов связан с ее формированием в течение длительных геологических периодов за счет видов, приспособленных к изменчивым условиям среды [4, 6, 7, 8]. Высокая зарастаемость макрофитами мелководных слабо проточных водоемов [9, 10] обеспечивает гетерогенность местообитаний, что создает предпосылки для поддержания высокого разнообразия гидроценозов [11, 12].

Актуальность исследования малых водоемов для понимания их роли в сохранении биологического разнообразия [3] была признана сравнительно недавно [3, 13]. Очевидно, именно по этой причине сравнительно немного публикаций, посвященных исследованию гидрофауны этой категории водоемов [14, 15, 16]. Также как и в других регионах, в Казахстане гидробиологические исследования охватывают преимущественно важные в хозяйственном отношении водные объекты – крупные озера, реки,

водохранилища [17, 18, 19, 20, 21]. Существенно меньше публикаций, посвященных изучению гидробиологического режима малых водоемов [21, 22, 23, 24].

Данная работа частично восполняет этот пробел. Ее целью является исследование видового богатства зоопланктонных сообществ некоторых малых озёр Алматинской области, характеризующихся разнообразием физико-химических условий.

Материалы и Методы

Исследования 7 малых озёр были выполнены в июне и августе 2019 г. Согласно административно – территориальному делению, озера относятся к трем районам Алматинской области: Уйгурскому, Панфиловскому и Илийскому (рисунки 1).

Все озёра небольшие по площади, при более существенных различиях по глубине. Наибольшие глубины (таблица 1) и относительно высокая прозрачность (около 2 м) характерны для озёр Деревянное и Первомайка. Их питание осуществляется за счет рек Теренкара и Шарын. Минимальные глубины и прозрачность (0,8 м) отмечены в оз. Большая Подкова. В наполнении остальных, более мелководных озёр большую роль играют подземные воды.



Рисунок 1 – Карта – схема малых озёр Алматинской области: 1 – Малая Подкова, 2 – Большая Подкова, 3 – Косагаш, 4 – Деревянное, 5 – Алтынколь, 6 – Али, 7 – Первомайка

Озера тепловодные. В июне температура воды изменялась от 24° в озёрах Большая Подкова и Алтынколь до 27° в озере Малая Подкова. В августе температура воды снизилась до

23° в оз. Малая Подкова и до 23–24° в оз. Первомайка и Деревянное. Зарастаемость озёр макрофитами варьировала от 35% в оз. Большая Подкова до 50 % в оз. Первомайка.

Таблица 1 – Физико-географическая и гидрологическая характеристика малых озёр Алматинской области, 2019 г.

Водоем	Координаты		Длина, км	Ширина, км		Площадь, км ²	Глубина, м	
	Широта	Долгота		сред.	макс.		сред.	макс.
Панфиловский район								
Алтынколь	44°6'31.60»	80°19'3.94»	0,94	0,40	0,42	0,38	2,5	4,0
Малая Подкова	43°48'54.86»	80°26'23.27»	2,80	0,15	0,20	0,44	2,0	3,5
Большая Подкова	43°48'44.41»	80°24'9.62»	3,70	0,20	0,40	0,76	1,8	2,5
Уйгурский район								
Деревянное	43°50'28.36»	79°25'2.75»	1,20	0,52	0,80	0,62	2,0	10,0
Косагаш	43°38'52.58»	79°52'30.93»	1,0	0,17	0,26	0,17	3,0	4,0
Илийский район								
Первомайка	43°23'29.10»	76°54'47.82»	3,0	0,13	0,2	0,40	3,0	6,0
Али	43°33'56.53»	77° 2'34.01»	0,2	0,14	0,2	0,03	2,0	4,0

Отбор 32 проб зоопланктона был осуществлен стандартными методами [25]. На каждой станции с помощью GPS-навигатора Garmin eTrex определяли географические координаты. Температуру воды измеряли с помощью датчика модели U50-HORIBA. Прозрачность воды определяли по диску Секки. Зарастаемость водной

растительностью оценивалось визуально.

Пробы зоопланктона обрабатывали стандартными методами [26]. Для видовой идентификации планктонных беспозвоночных использовали определители [27–32] и микроскоп МСХ–300. Количество особей каждого вида в пробе подсчитывали с применением микроско-

па МБС–10. Частоту встречаемости видов (%) находили как отношение числа проб, в которых вид встречен, к общему числу отобранных проб. Сравнение видового сообществ зоопланктона исследованных озер выполнено на основе кластерного анализа с использованием программы PRIMER 5 (Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research).

Результаты и Обсуждение

В составе зоопланктона было выявлено 54 таксона, в том числе коловраток – 30, ветвистоу-

рых ракообразных – 13, веслоногих – 8, факультативных планктеров – 3 (таблица 2). Видовое богатство зоопланктона существенно изменялось по обследованным озерам. Минимальное число видов планктонных беспозвоночных было зафиксировано в озере Большая Подкова, максимальное в оз. Первомайка (таблица 3). Основной вклад в разнообразие зоопланктонных сообществ вносили преимущественно коловратки. В оз. Алтынколь наибольшее число видов было зарегистрировано среди ветвистоусых ракообразных. В озере Большая Подкова наиболее разнообразными были веслоногие.

Таблица 2 – Таксономический состав и частота встречаемости зоопланктона малых озёр Алматинской области, июнь (I) и август (II) 2019 г.

Название таксона	Частота встречаемости, %						
	Деревян-ное	Косагаш	Алтынкол	Малая Подкова	Большая Подкова	Перво-майка	Али
	I-II	I-II	I-II	I-II	I-II	I-II	I-II
Rotifera – Коловратки							
<i>Bdelloida</i> gen.sp.	0–0	0–0	0–0	0–0	0–0	67–67	0–0
<i>Asplanchna priodonta</i> (Gosse)	100–100	50–50	100–100	100–50	100–0	100–100	100–100
<i>Bipalpus hudsoni</i> (Imhof)	67–33	0–0	0–0	100–0	0–0	67–0	100–50
<i>Brachionus angularis</i> (Gosse)	0–0	0–0	0–0	0–0	50–0	0–0	0–0
<i>Brachionus plicatilis</i> (Muller)	33–0	0–0	0–0	0–0	0–0	33–0	0–0
<i>B. quadridentatus</i> (Hermann)	33–33	50–0	0–0	0–0	0–0	67–0	0–100
<i>B. quadridentatus brevispinus</i> (Ehrenberg)	0–0	0–0	0–0	50–0	0–0	0–0	0–0
<i>Brachionus calyciflorus anureiformis</i> Brehm	0–0	0–50	0–0	0–0	0–0	0–0	0–0
<i>B. calyciflorus dorcas</i> Gosse	0–0	0–100	0–0	0–0	0–0	0–0	0–0
<i>Brachionus diversicornis</i> (Daday)	0–0	0–0	0–0	0–50	0–0	0–0	0–0
<i>Conochilus dossuarius</i> (Hudson)	0–0	0–0	0–0	0–0	0–0	67–0	0–0
<i>Keratella cochlearis</i> (Gosse)	33–0	0–0	0–0	0–0	0–0	0–0	100–100
<i>Keratella quadrata</i> (Muller)	0–0	0–0	0–0	50–0	0–0	100–100	0–0
<i>Platyias quadricornis</i> (Ehrenberg)	33–0	0–0	0–0	0–0	0–0	0–0	50–100
<i>Polyarthra dolichoptera</i> (Idelson)	33–33	0–50	0–0	0–0	0–0	33–33	50–50
<i>Polyarthra eurypetra</i> (Wierzejski)	0–0	0–0	0–100	0–0	0–0	0–0	0–0
<i>Polyarthra</i> sp.	0–0	0–0	0–50	0–0	0–0	0–0	50–50
<i>Synchaeta stylata</i> (Wierzejski)	0–33	0–0	0–50	0–0	50–0	0–0	50–100
<i>Synchaeta tremula</i> (Muller)	0–0	0–0	0–0	0–0	0–0	0–0	0–50
<i>Synchaeta</i> sp.	0–0	0–0	0–0	0–0	0–0	67–33	0–0
<i>Trichocerca (Diurella) heterodactyla</i> (Tschugunoff)	0–0	0–50	0–0	0–0	0–0	33–0	0–0
<i>Trichocerca</i> sp.	0–0	0–0	0–50	100–0	0–0	33–33	50–50

Название таксона	Частота встречаемости, %						
	Деревян- ное	Косагаш	Алтынокол	Малая Подкова	Большая Подкова	Перво- майка	Али
	I-II	I-II	I-II	I-II	I-II	I-II	I-II
<i>Trichocerca elongata</i> (Gosse)	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	33-33	0-0
<i>Trichocerca similis</i> (Wierzejski)	0-0	0-0	0-50	0-0	0-0	0-0	0-0
<i>Trichotria pocillum</i> (Muller)	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	50-0
<i>Testudinella patina</i> (Hermann)	0-0	0-50	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
<i>Hexarthra oxyuris</i> (Zernov)	0-0	0-0	0-0	50-0	0-0	0-0	0-0
<i>Lecane (s.str.) unguolata</i> (Gosse)	0-0	0-0	0-0	50-0	0-0	0-0	0-0
<i>Lecane (s.str.) luna</i> (Muller)	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	67-0	50-0
<i>Lepadella ovalis</i> (Muller)	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	67-0	0-0
Cladocera – Ветвистоусые							
<i>Alona rectangula</i> (Sars)	67-33	50-100	0-0	100-0	0-0	0-0	100-100
<i>Alona sp.</i>	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	100-33	0-0
<i>Bosmina (Bosmina) longirostris</i> (O.F. Muller)	100-100	100-50	50-0	100-100	100-100	100-100	100-100
<i>Camptocercus sp.</i>	33-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
<i>Diaphanosoma brachyurum</i> (Lievin)	0-0	0-0	50-0	0-0	0-0	33-67	0-0
<i>D. macrophtalma</i> (Korovch. Et Mirabd.)	0-0	50-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
<i>Diaphanosoma sp.</i>	0-0	0-0	50-100	50-0	50-0	0-0	0-0
<i>Simocephalus vetulus</i> (O.F. Muller)	0-0	0-0	100-50	0-0	0-0	0-0	0-0
<i>Moina micrura</i> (Kurz)	0-0	0-50	0-100	100-0	50-0	0-0	0-0
<i>Daphnia (Daphnia) galeata</i> (G.O. Sars)	33-33	0-0	100-50	0-0	0-0	0-0	0-0
<i>Daphnia (Daphnia) hyalina</i> (Leydig)	0-0	0-0	0-50	0-0	0-0	0-0	0-0
<i>Ceriodaphnia sp.</i>	0-100	0-0	50-0	0-0	0-0	0-0	0-0
<i>Chydorus sphaericus</i> (O.F. Muller)	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	100-0
Copepoda – Веслоногие							
<i>Eucyclops (s.str.) macruroides</i> (Lilljeborg)	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	33-0	0-0
Cyclopoida gen.sp.	100-0	50-100	100-100	100-100	100-100	100-0	100-100
<i>Thermocyclops taihokuensis</i> (Harada)	0-33	100-0	0-0	0-0	0-0	0-67	0-0
<i>Thermocyclops crassus</i> (Fischer)	0-0	100-0	100-100	0-0	50-0	0-0	0-0
<i>Acanthodiptomus denticornis</i> (Wierzejski)	0-0	0-0	0-0	50-0	0-0	0-0	0-0
<i>Arctodiptomus bacillifer</i> (Koelbel)	0-0	0-0	0-0	0-0	50-0	0-0	0-0
Diaptomidae gen.sp.	0-0	0-0	0-100	100-0	0-0	0-0	0-0
Harpacticoida gen.sp.	0-0	0-0	0-0	0-0	50-0	0-0	0-0
Others – Факультативные планктеры							
Nematoda gen.sp.	100-33	50-0	0-100	50-0	0-0	67-100	0-0
Trematoda gen.sp.	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	33-0	0-0
Bivalvia gen.sp.	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-33	50-50
Bcero	16	15	18	16	10	23	17

Таблица 3 – Видовое богатство зоопланктона малых озер Алматинской области, 2019 г.

Озеро	Rotifera	Cladocera	Copepoda	Факультативные планктеры	Всего
Деревянное	8	5	2	1	16
Косагаш	7	4	3	1	15
Алтыноколь	6	8	3	1	18
Малая Подкова	8	4	3	1	16
Большая Подкова	3	3	4	0	10
Первомайка	14	3	3	3	23
Али	12	3	1	1	17

Повсеместно встречались только два вида – коловратка *A.priodonta* и кладоцера *Bosmina (B.) longirostris*. В большинстве обследованных озёр зарегистрированы коловратки *B. hudsoni*, *B.quadridentatus*, *P. dolichoptera*, *S. Stylata* и ветвистоусый рачок *A. rectangula*. Ряд видов характеризовались локализацией в отдельных озерах. Только в озере Первомайка встречались коловратки *C. dossuarius*, *T. elongata*, *L. ovalis* и циклоп *E. macruioides*. Коловратка *B. angularis* и и веслоногий рачок *A.bacillifer* обнаружены в озере Большая Подкова. Коловратки *P. euryptera*, *T. similis*, а также кладоцеры *S. vetulus* и *D.(D.) hyalina* встречены лишь в озере Алтыноколь. Уникальность планктонной фауны озера Малая Подкова была связана с присутствием в ее составе коловраток *B. diversicornis*, *B.quadridentatus brevispinus*, *L.ungulata*, *H.oxyuris* и веслоногого

рачка *A.denticornis*. Коловратки *T.pocillum* и *S. tremula* не отмечены ни в одном из озер, кроме оз. Али, а *B. calyciflorus anureiformis* и *B. calyciflorus dorcas* зафиксированы лишь в озере Косагаш.

На основе кластерного анализа было выполнено сравнение планктонной фауны обследованных озер (рисунок 2). На уровне сходства видового состава более 50%, зоопланктонные сообщества образовали 5 кластеров. В отдельные кластеры выделились планктонные зоопланктоценозы озёр Алтыноколь и Большая Подкова, а также Деревянное и Али. Видовой состав зоопланктонных сообществ двух последних озёр имел около 50% общих видов, не смотря на территориальную удаленность и различия по площади и глубине. Остальные три кластера включали по одному озеру, при уровне сходства около 40%.

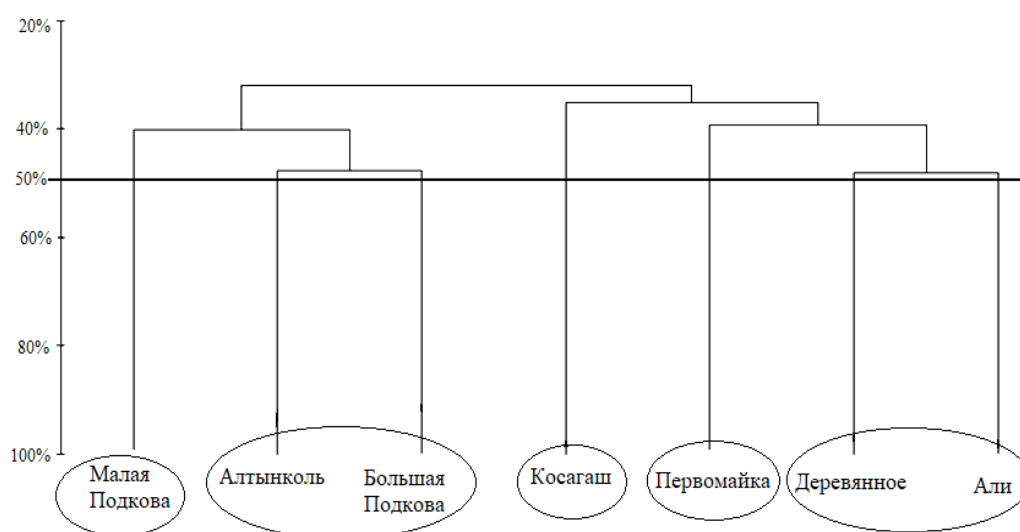


Рисунок 2 – Дендрограмма сходства видового состава зоопланктона малых озер Алматинской области, 2019

В целом для всех озер, видовое богатство зоопланктона снизилось от 43 таксонов в июне до 34 таксонов в августе. Изменения числа видов и состава зоопланктона обследованных озер имели различные тенденции. В озерах Деревянное, Косагаш, Алтынколь существенных различий в составе зоопланктона от начала к концу лета не выявлено. Число видов в зоопланктоне озера Али, в оба месяца оставалось практически без изменений, *при сокращении этого показателя более чем в 4 раза в озерах Большая Подкова, Малая Подкова и Первомайка*. В зоопланктоне озера Большая Подкова к августу выпали все виды, отмеченные в июне, кроме *B. longirostris* и циклопов на ранних стадиях развития. Состав зоопланктона озера Малая Подкова также значительно изменился, и в августе в сообществе сохранились только *A. priodonta*, *B. diversicornis*, *B. longirostris* и младшевозрастные стадии циклопов. С понижением температуры воды к августу из состава зоопланктона оз. Первомайка выпали *B. plicatilis*, *B. quadridentatus*, *C. dossuarius*, *L. luna*, *L. ovalis*, *P. dolichoptera*, *T. heterodactyla*, *B. hudsoni*, *E. macruroides*.

Летом в 2019 г. в зоопланктоне малых озер Алматинской области было зарегистрировано 54 таксона, при размахе колебаний этого показателя по озерам от 10 до 23 таксонов. Сравнение с литературными данными [33] показало близкий уровень видового богатства (52), выявленных для зоопланктона некоторых других малых водоемов региона с непостоянными гидролого-гидрохимическими условиями (Баклан, Ушколь-2, Ушколь-3, Байбалы, Райские озера). Видовое богатство зоопланктона в этих водоемах варьировало от 9 до 16 видов, что близко к полученным нами результатам.

Основной вклад в видовое богатство обследованных озер вносили коловратки, что характерно и для других зарастающих водоемов [14, 15, 33, 34, 35, 36, 37]. Такие виды как *B. hudsoni*, *B. angularis*, *A. rectangulara*, *Ch. sphaericus*, *D. galeata*, *T. crassus* встречались и в других малых водоемах региона [33, 35]. Видовой состав ветвистоусых ракообразных озер Деревянное, Алтынколь, Первомайка включал *A. rectangulara*, *D. brachyurum* которые были выявлены в составе зоопланктонных сообществ прудов г. Алматы [22, 23]. Фауна веслоногих в сравниваемых озерах характеризовалась специфическим видовым составом.

Комплекс фоновых видов в обследованных малых озерах Алматинской области включал коловраток *A. priodonta*, *K. quadrata*, *K. cochlearis*, ветвистоусых *A. rectangulara*, *Bosmina (B.) longirostris* и циклопа *T. crassus*. В водоеме

Кайрат, который расположен в том же регионе, из перечисленных выше видов были зарегистрированы *A. priodonta*, *B. longirostris*, а также *B. calyciflorus dorcias*, *B. forficula*, *K. tropica*, *L. bulla*, *D. dubium*, *Th. taihokuensis* [35]. Ряд из перечисленных выше видов имеют относительно широкое распространение в малых озерах Финляндии, Польши и Китая [38, 39], в условиях влияния на планктонные сообщества рыб планктонфагов [16]. Анализ литературных данных показал, что при отсутствии прессы рыб-планктофагов, в водоемах как нашего [33], так и европейского региона [40], фоновыми видами являлись более крупные виды, такие как *Daphnia pulex*, *Ceriodaphnia quadrangula*, *Arctodiaptomus (Rh.) salinus*. Такой же комплекс крупных фоновых видов планктонных беспозвоночных характерен для европейских водоемов с высоким развитием макрофитов [41].

В целом для всех обследованных озер видовое богатство зоопланктона снизилось от 43 таксонов в июне до 34 таксонов в августе. От начала к концу лета наиболее заметные изменения видового состава зоопланктона, преимущественно за счет коловраток, произошли в озерах *Большая Подкова, Малая Подкова и Первомайка*. В оз. Большая Подкова хищная коловратка *A. priodonta* была широко распространена в начале лета, но в конце сезона полностью выпала из состава зоопланктона. Известно, что массовое развитие этой коловратки обычно совпадает с периодом высокой численности мирных видов коловраток [42], которые полностью отсутствовали в этот период в озере Большая Подкова. Помимо ухудшения кормовой базы, возможной причиной сокращения видового богатства зоопланктона обследованных нами малых водоемов может быть повышение минерализации воды. Например, в Райских озерах, при росте минерализации воды, число видов коловраток снизилось от 9 до 2 [33].

Сравнительный анализ полученных нами и литературных данных [22, 23, 33, 36] позволил выделить комплекс видов, наиболее характерных для малых водоемов региона. Он включает коловраток *A. priodonta*, *B. hudsoni*, *B. angularis*, ветвистоусых ракообразных *A. rectangulara*, *Ch. sphaericus*, *Bosmina (B.) longirostris* и циклопа *T. crassus*.

Заключение, выводы

Летом 2019 г. зоопланктон озер Алматинской области был представлен 54 таксонами. Наибольшее количество таксонов (23) выявлено в зоопланктоне озера Первомайка. Наименьшее число таксонов (10) обнаружено в зоопланктоне

озера Большая Подкова. В озерах повсеместно встречались истинные планктёры – коловратки *A. priodonta*, *K. quadrata*, *K. cochlearis*, ветвистоусые *A. rectangula*, *Bosmina (B.) longirostris* и циклоп *T. crassus*. Видовой состав зоопланктона малых водоемов Алматинской области отличался от такового водоемов с высоким уровнем развития макрофитов и отсутствием прессы рыб-планктофагов. Специфические черты зоопланктонофауны малых озера Алматинской области обусловлены совокупным влиянием факторы среды, прежде всего, уровня зарастания, кормовой базы, гидрохимического режима и распространения рыб планктофагов.

Источник финансирования

Работа выполнена в ходе комплексных экологических исследований резервных водоёмов

Алматинской области, проводимых ТОО «Научно-производственный центр рыбного хозяйства» при НАО «Национальный аграрный научно-образовательный Центр» в рамках подготовки биологического обоснования «Определение рыбопродуктивности рыбохозяйственных водоемов и/или их участков, разработка биологических обоснований предельно допустимых уловов рыбы и других водных животных, режиму и регулированию рыболовства на рыбохозяйственных водоемах международного, республиканского значений и водоемах ООПТ Балкаш-Алакольского бассейна, а также оценка состояния рыбных ресурсов на резервных водоемах местного значения».

Конфликт интересов

Авторы не имеют конфликта интересов.

Литература

- 1 De Bie, T., S. Declerck, K. Martens, L. De Meester, L. Brendonck. A comparative analysis of cladoceran communities from different water body types: patterns in community composition and diversity // *Hydrobiologia*. –2008. -Vol.597. -P. 19–27.
- 2 Davies, B.R., Biggs, J., Williams, P.J., Lee, J.T., Tompson, S. A comparison of the catchment sizes of rivers, streams, ponds, ditches and lakes: implications for protecting aquatic biodiversity in an agricultural landscape // *Hydrobiologia*. –2008. -Vol. 579. -P.7–17.
- 3 Kelly-Quinn M., Biggs J., Fumetti S., 2017. The Importance of Small Water Bodies: Insights from Research // *Hydrobiologia*. –2017. -Vol. 793. -P.1–2. DOI 10.1007/s10750-016-3077-z.
- 4 Williams, P., M. Whitfield, J. Biggs, S. Bray, G. Fox, P. Nicolet & D. Sear. Comparative biodiversity of rivers, streams, ditches and ponds in an agricultural landscape in Southern England // *Biological Conservation*. –2004. -Vol. 115. -P. 329–341.
- 5 Clarke A., MacNally R., Bond N., Lake P. S. Macroinvertebrate diversity in headwater streams: a review // *Freshwater Biology*. –2008. -Vol. 53. -P. 1707–1721.
- 6 Demars, B. O. L. & A. C. Edwards. A seasonal survey of surface water habitats within the River Spey basin, Scotland: major nutrient properties // *Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems*. –2007. -Vol. 17. -P.565–583.
- 7 Gooderham, J. P. R., L. A. Barmuta & P. E. Davies. Upstream heterogeneous zones: small stream systems structured by a lack of competence? // *Journal of the North American Benthological Society*. –2007. -Vol. 26. -P.365–374.
- 8 Lischeid, G., Kalettka T. Grasping the heterogeneity of kettle hole water quality in Northeast Germany // *Hydrobiologia*. –2012. -Vol. 689. -P. 63–77.
- 9 Scheffer M., Geest G. J., Zimmer K., Jeppesen E., Sondergaard M., Butler M. G., Hanson M. A., Declerck S., De Meester L. // Small habitat size and isolation can promote species richness: second-order effects on biodiversity in shallow lakes and ponds. *Oikos*. –2006. -Vol. 112. -P. 227–231.
- 10 Moss crop L. E., Paterson A. M., DeSellas A. M., Kurek J., Weeber R., Smol J. P. Long-term stability of cladoceran assemblages in small, shallow, Canadian Shield lakes experiencing marked calcium declines // *Aquatic Sciences*. –2015. -Vol. 77. -P. 547–561.
- 11 Spoljar M., Drazina T., Sargac J., Kralj Borojevic K., Zutinic P. Submerged macrophytes as a habitat for zooplankton development in two reservoirs of a flow-through system (Papuk Nature Park, Croatia) // *International Journal Limnology*. –2012. -Vol 48. -P. 161–175.
- 12 Choi J. Y., Jeong K. S., La G. H., Joo G. J. Effect of removal of free-floating macrophytes on zooplankton habitat in shallow wetland // *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*. –2014. -Vol. 414. -P.11–22.
- 13 Biggs J., Williams P., Whitfield M., Nicolet P., Weatherby A. 15 years of pond assessment in Britain: results and lessons learned from the work of Pond Conservation // *Aquat. Conserv.: Mar. Freshw. Ecosyst*. 15. –2005. -P. 693–714.
- 14 Ismail A. H., Adnan A. A. Zooplankton Composition and Abundance as Indicators of Eutrophication in Two Small Man-made Lakes // *Tropical Life Sciences Research*. –2016. -Vol. 27(1). -P. 31–38. DOI : 10.21315/tlsr2016.27.3.5.
- 15 Umana-Villalobos G., Avies-Vargas L., Esquivel-Garrote Octavio. 2018. Zooplankton variation in Fraijanes Lake (Costa Rica) during the course of one year // *Int. J. Trop. Biol*. –2018. Vol. 66. -P.123–131. DOI 10.15517/RBT.V66I1.33267.

- 16 Williams A.E., Moss B. Effect of different fish species and biomass on plankton interactions in a shallow lake // *Hydrobiologia*. – 2003. -Vol. 491. -P. 331 – 346
- 17 Шарапова Л.И. Результаты мониторинга зоопланктона Северного Каспия в условиях сейсмозаземки // *Вестник КазНУ Сер. экол.* – 2012. – № 1 – С. 9–12.
- 18 Шарапова Л.И. Дифференциация летнего зоопланктона по биотопам водохранилища на р. Иле // *Изв. НАН РК. Сер. биол. и мед.* – 2013. – № 1 – С. 19–22.
- 19 Крупа Е.Г., Балымбетов К. Динамика количественных показателей зоопланктона в зависимости от солености и уровня воды Малого Аральского моря // *Известия НАН РК.* – 2014. – № 2. – Сер. биологическая и медицинская. – С. 7–12.
- 20 Krupa E.G. Structural Characteristics of Zooplankton of the Shardarinskoe Reservoir and Their Use in Water Quality Assessment // *Water Resources*. – 2007. -Vol. 34(6). -P.712–717.
- 21 Трошина Т.Т. Структура и экологическое состояние зоопланктона литоральной зоны оз. Алаколь в весенне–летний период 2013 г. // *Изв. НАН РК. Сер. биол. и мед.* – 2015. – № 308. – С. 15–19.
- 22 Крупа Е. Г. О фауне низших ракообразных водоемов г. Алматы // *Известия МН–АН РК. Сер. биолог.* – 1997. –№ 4. –С. 57–60.
- 23 Крупа Е.Г. Видовой состав и сезонная динамика численности и биомассы низших ракообразных пруда Центрального Парка Культуры и Отдыха г. Алматы // *Известия МН–АН РК. Сер. биолог.* – 1998. – 3 (207). – С.72–75.
- 24 Аубакирова М.О., Крупа Е.Г., Айнабаева Н.С. Разнообразие зоопланктона горных озер Юго-Востока Казахстана // *Материалы международной научно-практической конференции «Экология и сохранения животного мира»* – Алматы: КазНПУ им. Абая. – 2018. –С. 49-54.
- 25 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.
- 26 Методическое пособие при гидробиологических рыбохозяйственных исследованиях водоемов Казахстана (планктон, зообентос) Алматы, 2006. – 27 с.
- 27 Мануйлова Е.Ф. Ветвистоусые рачки фауны СССР. – М., Л.: Наука, 1964. – 328 с.
- 28 Боруцкий Е.В., Степанова Л.А., Кос М.С. Определитель Calanoida пресных вод. – СПб.: Наука, 1991. – 504 с.
- 29 Кутикова Л.А. Коловратки фауны СССР. – Л., 1970. – 744 с.
- 30 Рылов В.М. Фауна СССР. Ракообразные. Cyclopoida пресных вод. – Т. 3. – Вып. 3. – М., Л.: АН СССР, 1948. – 320 с.
- 31 Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. – С-Пб: Наука, 1995. – 628 с.
- 32 Orlova-Bienkowskaja M.Y. Cladocera: Anomopoda. Daphniidae: genus Simocephalus. – Leiden: Backhuys Publishers, 2001. – 130 с.
- 33 Трошина Т.Т. Биоразнообразие и структурные характеристики летнего зоопланктона Алматинской области (июль и август 2010, 2012 гг.) // *Изв. НАН РК. Сер. биол. и мед.* – 2013. – № 3. – С. 13–19.
- 34 Barrabin J M. The rotifers of Spanish reservoirs: Ecological, systematical and zoogeographical remarks // *Limnetica*. – 2000. –Vol.19. -P.91–144.
- 35 Saler S. Observation on the seasonal variation of rotifer fauna of Keban Dam Lake (Cemisgezcek Region). *Science and Engineering Journal of Firat University*. –2004. -Vol. 16(4). -P.695–701.
- 36 Аубакирова М.О. О зоопланктоне малых водоемов г. Алматы и Алматинской области // *Материалы международной конференции студентов и молодых учёных «Фараби элеме»*, 8–11 апреля 2019 г. –С. 8–9.
- 37 Castilho–Noll MSM, Camara CF, Chicone MF, Shibata EH. Pelagic and littoral cladocerans (Crustacea, Anomopoda and Stenopoda) from reservoirs of the Northwest of São Paulo State // *Brazil. Biota Neotrop.* –2010. -Vol. 10. -P. 21–30.
- 38 Hu B., Hu X., Nie X., Zhang X., Wu N., Hong Y., Qin H. Seasonal and inter–annual community structure characteristics of zooplankton driven by water environment factors in a sub–lake of Lake Poyang, China // *PeerJ*:e7590. –2019. -P. 2-29. <http://doi.org/10.7717/peerj.7590>
- 39 Kuczynska–Kippen N., Joniak T. Zooplankton diversity and macrophyte biometry in shallow water bodies of various trophic state *Hydrobiologia*. –2016. -Vol. 774. -P. 39–51. DOI 10.1007/s10750–015–2595–4.
- 40 Diéguez, M.C., Gilbert, J.J. Daphnia–rotifer interactions in Patagonian communities // *Hydrobiologia*. –2011. -Vol. 662(1). -P. 189–195.
- 41 Stefanidis K., Parastergiadou E. Influence of hydrophyte abundance on the spatial distribution of zooplankton in selected lakes in Greece // *Hydrobiology*. –2010. -Vol. 656. -P. 55–65.
- 42 Kwang–Hyeon Chang, Hideyuki, Yuichiro Nishibe. Shin–ichi NAKANO Feeding habits of omnivorous Asplanchna: comparison of diet composition among Asplanchna herricki, A. priodonta and A. girodi in pond ecosystems // *J. Limnol.* –2010. –Vol. 69(2). -P. 209–216. DOI: 10.3274/JL10–69–2–03

References

- 1 De Bie, T., S. Declerck, K. Martens, L. De Meester & L. Brendonck. (2008) A comparative analysis of cladoceran communities from different water body types: patterns in community composition and diversity. *Hydrobiologia*. vol.597, pp. 19–27.
- 2 Davies, B.R., Biggs, J., Williams, P.J., Lee, J.T., Tompson, S. (2008) A comparison of the catchment sizes of rivers, streams, ponds, ditches and lakes: implications for protecting aquatic biodiversity in an agricultural landscape. *Hydrobiologia*. vol. 579, pp. 7–17.

- 3 Kelly–Quinn M., Biggs J., Fumetti S. (2017) The Importance of Small Water Bodies: Insights from Research. *Hydrobiologia*. vol. 793, pp. 1–2. DOI 10.1007/s10750–016–3077–z
- 4 Williams, P., M. Whitfield, J. Biggs, S. Bray, G. Fox, P. Nicolet & D. Sear. (2004) Comparative biodiversity of rivers, streams, ditches and ponds in an agricultural landscape in Southern England. *Biological Conservation*. vol. 115, pp. 329–341.
- 5 Clarke, A., R. MacNally, N. Bond & P. S. Lake, 2008. Macroinvertebrate diversity in headwater streams: a review. *Freshwater Biology*. vol. 53, pp. 1707–1721.
- 6 Demars, B. O. L. & A. C. Edwards. (2007) A seasonal survey of surface water habitats within the River Spey basin, Scotland: major nutrient properties. *Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems*. vol. 17, pp. 565–583.
- 7 Gooderham, J. P. R., L. A. Barmuta & P. E. Davies, 2007. Upstream heterogeneous zones: small stream systems structured by a lack of competence? *Journal of the North American Benthological Society*. vol. 26, pp. 365–374.
- 8 Lischeid, G. & T. Kalettka. (2012) Grasping the heterogeneity of kettle hole water quality in Northeast Germany. *Hydrobiologia*. vol. 689, pp. 63–77.
- 9 Scheffer, M., G. J. van Geest, K. Zimmer, E. Jeppesen, M. Sondergaard, M. G. Butler, M. A. Hanson, S. Declerck & L. De Meester, 2006. Small habitat size and isolation can promote species richness: second–order effects on biodiversity in shallow lakes and ponds. *Oikos*. vol. 112, pp. 227–231.
- 10 Moss crop, L. E., A. M. Paterson, A. M. DeSellas, J. Kurek, R. Weeber & J. P. Smol, 2015. Long–term stability of cladoceran assemblages in small, shallow, Canadian Shield lakes experiencing marked calcium declines. *Aquatic Sciences*. vol. 77, pp. 547–561.
- 11 Spoljar M., Drazina T., Sargac J., Kralj Borojevic K., Zutinic P. (2012) Submerged macrophytes as a habitat for zooplankton development in two reservoirs of a flow–through system (Papuk Nature Park, Croatia), *Ann. Limnol. Int. J. Lim.* vol. 48, pp. 161–175.
- 12 Choi J. Y., Jeong K. S., La G. H., Joo G. J. (2014) Effect of removal of free-floating macrophytes on zooplankton habitat in shallow wetland, *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*. vol. 414, pp. 11–22.
- 13 Biggs, J., Williams, P., Whitfield, M., Nicolet, P., Weatherby, A. (2005) 15 years of pond assessment in Britain: results and lessons learned from the work of Pond Conservation. *Aquat. Conserv.: Mar. Freshw. Ecosyst.* vol. 15, pp. 693–714.
- 14 Ismail A. H., Adnan A. A. (2016) Zooplankton Composition and Abundance as Indicators of Eutrophication in Two Small Man-made Lakes. *Tropical Life Sciences Research*. vol. 27(1), pp. 31–38. DOI : 10.21315/tlsr2016.27.3.5
- 15 Umana-Villalobos G, Avies-Vargas L, Esquivel-Garrote Octavio. (2018) Zooplankton variation in Fraijanes Lake (Costa Rica) during the course of one year // *Int. J. Trop. Biol.* vol. 66(Suppl. 1), pp. 123–131. DOI 10.15517/RBT.V66I1.33267.
- 16 Williams A.E., Moss B. (2003) Effect of different fish species and biomass on plankton interactions in a shallow lake, *Hydrobiologia*. vol. 491, pp. 331 – 346.
- 17 SHarapova L.I. (2012) Rezul'taty monitoringa zooplanktona Severnogo Kaspiya v usloviyah sejsmorazvedki // *Vestnik KazNU Ser. ekol.*, no 1, pp. 9–12.
- 18 SHarapova L.I. (2013) Differenciatsiya letnego zooplanktona po biotopam vodohranilishcha na r. Ile // *Izv. NAN RK. Ser. biol. i med.* no 1 – S, pp. 19–22.
- 19 Krupa E.G., Balymbetov K. (2012) Dinamika kolichestvennykh pokazatelej zooplanktona v zavisimosti ot solenosti i urovnya vody Malogo Aral'skogo morya // *Izvestiya NAN RK. – Ser. biologicheskaya i medicinskaya.* no 2, pp. 7–12.
- 20 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.
- 21 Troshina T.T. (2013) Bioraznoobrazie i strukturnye karakteristiki letnego zooplanktona Almatinskoy oblasti (iyul' i avgust 2010, 2012 g.g.) // *Izv. NAN RK. Ser. biol. i med.* No 3, pp. 13–19.
- 22 Krupa E.G. (1998) Vidovoj sostav i sezonnaya dinamika chislennosti i biomassy nizshih rakoobraznykh pruda Central'nogo Parka Kul'tury i Otdyha g. Almaty // *Izvestiya MN–AN RK. Ser. biolog.* No 3 (207), pp. 72–75.
- 23 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.
- 24 Aubakirova M.O., Krupa E.G., Ajnabaeva N.S. (2018) Raznoobrazie zooplanktona gornyykh ozer YUgo-Vostoka Kazahstana // Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Ekologiya i sohraneniya zhivotnogo mira» – Almaty: KazNPU im. Abaya, – pp. 49–54.
- 25 Krupa E. G. (1997) O faune nizshih rakoobraznykh vodoemov g. Almaty // *Izvestiya MN–AN RK. Ser. biolog.* no 4, pp. 57–60.
- 26 Metodicheskoe posobie pri gidrobiologicheskikh rybohozyajstvennykh issledovaniyakh vodoemov Kazahstana (plankton, zoobentos) (2006). – 27 s.
- 27 Manuylova E.F. (1970) *Vetvistousyie rachki fauny SSSR [Crustaceans of the USSR fauna]*. – P 328.
- 28 Borutskiy E.V., Stepanova L.A., Kos M.S. *Opredelitel Calanoida presnykh vod [Freshwater Calanoida identification key]*. – SPb.: Nauka, 1991. – 504 s.
- 29 Kutikova L.A. (1970) *Kolovratki fauny SSSR [Rotifers of the USSR fauna]* – P 744.
- 30 Ryilov V.M. *Fauna SSSR. Rakoobraznyie. Cyclopoida presnykh vod.* – T. 3. – Vyip. 3. – M., L.: AN SSSR, 1948. – 320 s.
- 31 *Opredelitel presnovodnykh bespozvonochnykh Rossii i sopredelnykh territoriy (1995)[Key to freshwater invertebrates in Russia and adjacent territories]*. – P 628.
- 32 Orlova-Bienkowskaja M.Y. (2001) *Cladocera: Anomopoda. Daphniidae: genus Simocephalus.* – P130.

- 33 Troshina T.T. (2015) Struktura i ekologicheskoe sostoyanie zooplanktona litoral'noj zony oz. Alakol' v vesenne–letnij period 2013 g. // *Izv. NAN RK. Ser. biol. i med.* No 308, pp. 15–19.
- 34 Barrabin J.M. (2000) The rotifers of Spanish reservoirs: Ecological, systematical and zoogeographical remarks. *Limnetica*. vol.19, pp.91–144.
- 35 Saler S. (2004) Observation on the seasonal variation of rotifer fauna of Keban Dam Lake (Cemisgezek Region). *Science and Engineering Journal of Firat University*. vol 16(4), pp. 695–701.
- 36 Aubakirova M.O. (2019) O zooplanktone malyh vodoemov g. Almaty i Almatinskoj oblasti // *Materialy mezhdunarodnoj konferencii studentov i molodyh uchyonyh «FARABI ƏLEMI»*, 8–11 aprelya. pp. 8–9.
- 37 Castilho–Noll MSM, Câmara CF, Chicone MF, Shibata EH. (2010) Pelagic and littoral cladocerans (Crustacea, Anomopoda and Ctenopoda) from reservoirs of the Northwest of São Paulo State, Brazil. *Biota Neotrop.* vol.10, pp.21–30.
- 38 Hu B., Hu X., Nie X., Zhang X., Wu N., Hong Y., Qin H. (2019) Seasonal and inter–annual community structure characteristics of zooplankton driven by water environment factors in a sub–lake of Lake Poyang, China. *PeerJ*:e7590. pp. 2–29. <http://doi.org/10.7717/peerj.7590>
- 39 Kuczynska–Kippen N., Joniak T. (2016) Zooplankton diversity and macrophyte biometry in shallow water bodies of various trophic state *Hydrobiologia*. vol. 774, pp. 39–51. DOI 10.1007/s10750–015–2595–4
- 40 Diéguez, M.C., Gilbert, J.J. (2011) Daphnia–rotifer interactions in Patagonian communities. *Hydrobiologia*. vol. 662(1), pp. 189–195.
- 41 Stefanidis K., Parastergiadou E. (2010) Influence of hydrophyte abundance on the spatial distribution of zooplankton in selected lakes in Greece // *Hydrobiology*. vol.656, pp. 55–65.
- 42 Kwang–Hyeon Chang, Hideyuki, Yuichiro Nishibe, Shin–ichi NAKANO. (2010) Feeding habits of omnivorous Asplanchna: comparison of diet composition among *Asplanchna herricki*, *A. priodonta* and *A. girodi* in pond ecosystems. *J. Limnol.* vol. 69(2), pp. 209–216, DOI: 10.3274/JL10–69–2–03

Н.С. Сиханова

Кызылординский государственный университет имени Коркыт Ата, Казахстан, г. Кызылорда,
e-mail: muhtasar_08@mail.ru

**БЕЛОХВОСТАЯ ПИГАЛИЦА (*Vanellochettusia leucura*)
В ОЗЕРЕ КАРТМА
(система озер дельты реки Сырдарья,
Кызылординская область, Казахстан)**

Статья обобщает данные автора, полученные в ходе учетов птиц на озере Картма системы озер дельты реки Сырдарья, расположенной на территории Кызылординской области Республики Казахстан, в период с 2014 по 2019 гг. Подробно рассматривается характер пребывания, численность, экология белохвостой пигалицы (*Vanellochettusia leucura*). Белохвостая пигалица – кулик среднего размера, строением тела весьма похож на кречетку, но немногим меньше ее. На территории Казахстана в настоящее время гнездится в околководных стациях среднего и нижнего течения (от границы с Узбекистаном до Северного Аральского моря), системе озер дельты реки Сырдарья, на севере Каспийского моря. Численность белохвостой пигалицы на исследуемом озере Картма определена в пределах 30-150 особей, что является следствием сезонности учетов, флуктуацией площади акватории изучаемого водоема. Характерной чертой данного вида является своеобразный голос, образно передаваемый как «четыре, четыре», нарастающий при приближении человека к гнездовым участкам. Анализ специальной литературы по орнитологии восточного участка Аральского моря и озер дельты реки Сырдарья, показал, что белохвостая пигалица на протяжении двухсотлетнего периода в основном придерживается постоянных мест обитания. Гнездовая стация располагается в прибрежной зоне, на песчаных косах и островах.

Ключевые слова: озеро Картма, водно-болотные угодья, белохвостая пигалица, характер пребывания авифауны, пищевая специализация птиц, Э.А. Эверсманн.

N.S. Sihanova

Korkyt Ata Kyzylorda State University, Kazakhstan, Kyzylorda,
e-mail: muhtasar_08@mail.ru

**White-tailed lapwing (*Vanellochettusia leucura*) in lake Cartma
(lake systems of Syrdarya River's delta, Kyzylorda region,
Republic of Kazakhstan)**

This article generalizes data of authors collected in course of birds count at Lake Cartma Lake Systems of Syrdarya river's delta of the territory of Kyzylorda region, Republic of Kazakhstan, in period of 2014-2019. Distribution, quantity, ecology and areal of white-tailed lapwing (*Vanellochettusia leucura*) is considered in details. White-tailed lapwing is a medium-sized wader; body structure largely resembles black-sided lapwing but the size is slightly lesser. At present time, on territory of Kazakhstan, the white-tailed lapwing is nesting at wetland stations of middle and downstream (from border with Uzbekistan to North Aral sea), system of lakes in delta of Syr-Darya river, in the north part of Caspian sea. Quantity of white-tailed lapwing on studied Cartma lake is determined in limits of 30-150 specimen; this is the result of season nature of countings, fluctuation of area of studied water body surface. A characteristic feature of this species is a peculiar voice, descriptively translated as "chetyre, chetyre" ("four, four" in Russian), increasing at approach to nesting sites. Analysis of special literature on ornithology of eastern site of Aral sea and lakes of Syr-Darya river delta showed that for two hundred years period, white-tailed lapwing mostly adheres to constant habitats. Nesting station is located in shore zone, at sandbars and isles.

Key words: Cartma lake, wetlands, white-tailed lapwing, distribution of avifauna, trophic specialization of birds, E.A. Eversmann

Н.С. Сиханова

Қорқыт Ата атындағы Қызылорда мемлекеттік университеті, Қызылорда, Қазақстан,
e-mail: muhtasar_08@mail.ru

**Кәртма көліндегі (Сырдария өзенінің атырауындағы көлдер жүйесі,
Қызылорда облысы, Қазақстан Республикасы)
Аққұйрықты тарғақ (*Vanellochettusia leucura*)**

Мақала автордың Қазақстан Республикасы Қызылорда облысының территориясында орналасқан Сырдария өзенінің атырауындағы көлдер жүйесінің Картма көлінде 2014-2019 жылдар аралығында жүргізілген құстарды бақылау деректеріне арналған. Аққұйрықты тарғақтың (*Vanellochettusia leucura*) мекендеу сипаты, саны, экологиясы егжей-тегжейлі қарастырылады. Аққұйрықты тарғақ – орташа өлшемді балшықшы құс, дене тұрқы тарғаққа ұқсас, бірақ одан кішілеу. Қазақстан Республикасының территориясында қазіргі кезде Сырдария өзенінің орта және төменгі ағысындағы сулы-батпақты телімдерге жақын мекендерде (Өзбекстан Республикасымен шекарадан Солтүстік Арал теңізіне дейінгі аралықта), атырауындағы көлдер жүйесінде, Каспий теңізінің солтүстік бөлігінде ұялайды. Кәртма көліндегі аққұйрықты тарғақтың саны құстарды бақылаудың маусымына, зерттелген суқойма айдынының ауданы өзгеруіне байланысты 30-150 дара екені анықталды. Бұл түрдің өзіне тән ерекшелігі – ұялау телімдеріне адам жақындағанда күшейетін бейне бір орыс тіліндегі «четыре, четыре» дегенге ұқсас дауыстауы. Арал теңізінің шығыс бөлігінің және Сырдария өзені атырауындағы көлдер жүйесінің орнитологиясы бойынша қолда бар арнайы ғылыми әдебиеттерді талдау барысында, аққұйрықты тарғақтың (*Vanellochettusia leucura*) екі жүз жылдық кезеңде негізінен тұрақты мекендеу ортасын ұстанатындығы анықталды. Анықталғандай құстардың ұялау мекендері суқойманың жағалау аймағында, құмды қайырларда және аралдарда орналасқан.

Түйін сөздер: Кәртма көлі, сулы-батпақты алқаптар, аққұйрықты тарғақ, авифаунаның мекендеу сипаты, құстардың қоректенуі, Э.А. Эверсманн.

Введение

Биологическое разнообразие – один из основных пунктов, краеугольный камень создания устойчивой среды обитания человечества [1]. Усиление антропогенного влияния на окружающую среду может приводить к разрушению целостности природного разнообразия и развитию целого комплекса экологических, экономических и социальных проблем. В качестве примера можно указать крайнюю регрессию Аральского моря начавшуюся в 60-х годах XX столетия [2]. В данном случае, именно «крайняя» регрессия, так как человечество не в состоянии гарантировать, что та была «последняя» и такая аномалия не повторится в будущем. В то же время в мировой практике все чаще встречаются случаи, когда человечество осознав масштабы своего деяния, предпринимает попытки к уменьшению негативных последствий антропогенного вмешательства в природные процессы, путем внедрения результатов научных изысканий. Здесь можно вспомнить восстановление реки Рейн, проектирование и строительство биопроходов и биопереходов, экодуков для диких животных [3-5]. Ярким примером казахстанской модели практического применения результатов научных исследований может служить проект «Регулирование русла реки Сырдарья и Северное

Аральское море» (PPCCAM). Программа была инициирована коллаборацией российских и казахстанских ученых, поддержана правительством Казахстана при софинансировании Всемирного банка [6]. Цель разработки: сохранить существующие водные объекты и восстановить биологическое разнообразие экосистем региона Приаралья. Озерные системы и водно-болотные угодья дельты Сырдарьи являются основой устойчивого существования водных и околоводных экосистем Казахстанского Приаралья. Реализация первой фазы проекта позволила осуществить реконструкцию гидротехнических сооружений на реке Сырдарья (среднее и нижнее течение) и строительство Кокаральской плотины и Аклакского гидроузла. Указанные меры способствовали решению ряда экологических, экономических и социальных проблем региона. Так, к примеру ввод в эксплуатацию Кокаральской плотины и последовавший за ним подъем уровня воды Северного Аральского моря до отметки +42 м. по БС (Балтийская система), привел к постепенному увеличению объемов улова рыбы с Малого моря. В свою очередь, сооружение Аклакского гидроузла обусловило обводнение некоторых ранее осушенных водоемов в составе Приморской право- и левобережной системы озер дельты реки Сырдарья [2, 6-7]. Это способствовало расширению площадей во-

дно-болотных угодий, пастбищ [7]. Флуктуация уровня (регрессия и последовавшая за ней трансгрессия) Аральского моря и приморских озерных систем вносит корректировку в комфортное существование животного мира региона. Наблюдается острая необходимость в проведении комплексных исследований, направленных для изучения и оценки темпов происходящих изменений видового богатства и разнообразия в структуре фауны и флоры региона. Одним из индикаторов трансформации окружающей среды считается фауна птиц, вследствие чувствительности к любым изменениям в природе [2, 8]. В то же время, птицы, при выборе места обитания отличаются чрезвычайной консервативностью, и в сравнении с млекопитающими обладают крайне слабой экологической приспособляемостью [9].

Количественный учет авифауны может служить надежным методом анализа подчас тончайших оттенков изменений в составе фауны птиц [10]. Учитывая вышесказанное, автором в тесном сотрудничестве с биоэкологами Казанского федерального университета (Татарстан, Россия) были организованы научные экспедиции с целью изучения пространственно-временной динамики населения птиц озерных систем дельты реки Сырдарья. В качестве тестового участка было выбрано озеро Картма.

Во время учетов птиц с 2014 по 2019 гг. автором зафиксировано пребывание в пределах озера Картма 67 видов авифауны [2, 8], группировка орнитофауны в единицу верхнего классификационно-таксономического ранга на уровне отрядов птиц приведена на (рисунок 1).

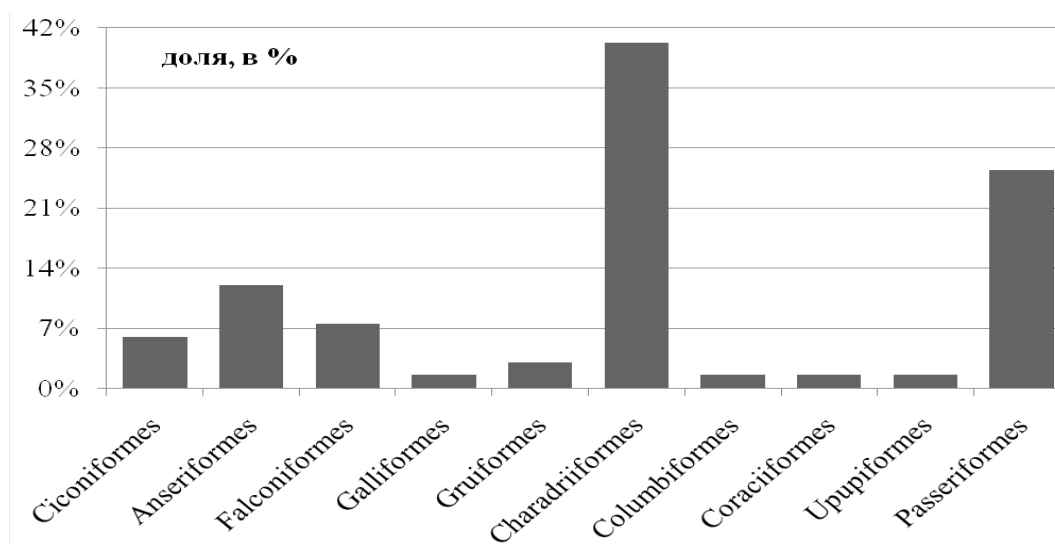


Рисунок 1 – Соотношение отрядов авифауны формирующих орнитоценоз озера Картма (2014-2019 гг)

Ржанкообразные (Charadriiformes), в системе озер дельты реки Сырдарья, в том числе озера Картма, согласно (рис. 1), составляют более 40% населения фауны птиц [2]. Доминирующее положение в структуре ржанкообразных занимает фауна куликов, которые в населении птиц Аральского моря и системы озер дельты р. Сырдарья, представляют одну из основных групп, как гнездящихся, так и мигрирующих и летующих. Сезонность нахождения приводимого классификационно-таксономического ранга представлена теплым временем года, с весны по

осень [11]. Анализ данных показывает, что сравнительно большее видовое богатство и наиболее стойкое удерживание своей территории среди куликов характерно белохвостой пигалице *Vanellochettusia leucura* (Licht., 1823) [8]. Ввиду отсутствия в доступной литературе сведения по характеру пребывания, численности, экологии белохвостой пигалицы в современный период восстановления системы озер дельты реки Сырдарья, автором организованы научные экспедиционные выезды на озеро Картма в период с 2014 по 2019 гг [2, 8, 12-14].

Объект и методы исследований

Озеро Картма – расположено в восточной части Северного Аральского моря (Аральский район Кызылординской области Республики Казахстан), функционирует в составе приморской левобережной системы озер дельты реки Сырдарья. Водоем находился в осушенном состоянии с 1988 по 2009 гг., кратковременные поступления воды в указанный период были вызваны фрагментарным увеличением стока реки Сырдарья. Стабилизация уровня воды водоема началась в 2010 г. Максимально возможная площадь озера 14 км² [2]. Во время учетов птиц в период 2014-2019 гг. площадь открытой акватории варьировала в пределах 5-8 км² [2, 8]. В настоящее время водоем испытывает постепенное уменьшение открытой акватории, что связано с деятельностью густых зарослей тростника (*Phragmites australis*), которые надвигаются с восточного берега по направлению к центральной части озера, с каждым годом увеличивая площадь купачовых зон [8]. Имеют место интенсивное заиление и загрязнение водоемов.

Дополнительным источником уменьшения водной массы в течение года служат листья *Phragmites australis*, которые характеризуются выраженной эвапотранспирацией. Средняя глубина озера 1-1,5 м., максимально возможный показатель 2 м. Береговая линия – вследствие равнинного типа рельефа – слабо изрезана, длина периметра 12-14 км [2].

Учеты птиц проводились в дневное время суток, в относительно теплую и ясную погоду [2, 8]. Методическую основу маршрутных учетов птиц составили труды Ю.С. Равкина [15], с поправкой на открытую местность. Метод: маршрутный учет, фотографирование и просмотр объектов [2]. Необходимо отметить, трансекты пролегли не только по привычной береговой полосе, но также укладывались лодочные маршруты через озеро. Минимально допустимая дистанция каждого маршрута – 5 км, скорость учетчика – 2,5 км/час, продолжительность – 2 часа. В снаряжение учетчика входили полевой дневник, определитель птиц Казахстана. Из оптических средств использовались 8-кратный бинокль и фотоаппарат. При определении видов руководствовались определителями и справочными изданиями В.К. Рябицева и др. [12], многотомником «Птицы Казахстана» [11], а также изданиями зарубежных орнитологов [10, 14, 16-17]. Название вида заимствовано из научной номенклатуры А.Ф. Ковшарь [18].

Результаты и их обсуждение

Белохвостая пигалица для региона Приаралья (между Кувандарьей и Джанадарьей – старые русла нижнего течения реки Сырдарья) впервые приводится в работе Э. Эверсмана [19], средиземноморский эндемик Средней Азии [9], гнездовой ареал вида проходит через границу нижнего течения реки Сырдарья [12], редкий, эндемичный вид аквальных авандельтовых болотных экосистем [2, 8].

Белохвостая пигалица – представитель отряда *Charadriiformes*, типичный кулик среднего размера, встречается в основном по прибрежным, топким местам (рисунок 2). Голос – громкий, крикливый, напоминает слова «четыре, четыре, четыре», может нарастать при приближении к гнездовой станции [8, 11].

Распространение белохвостой пигалицы в Казахстане весьма спорадично и включает ограниченные области водно-болотных угодий пустынной зоны, это – главным образом долина среднего и нижнего течения реки Сырдарья (от государственной границы с Республикой Узбекистан до Северного Аральского моря), системы озер дельты реки Сырдарья, северное побережье Каспийского моря [11-14]. Гнезда устраивает в прибрежной полосе, чаще на песчаных косах и островах (рисунок 3). В литературе имеются сведения касательно аналогичного расположения гнездовых станций *Vanellochettusia leucura* в дельте Сырдарьи [20].

Само гнездо представляет из себя небольшое углубление или ровную поверхность, устланную из сухих трав, веточек джунгила (*Tamarix ramosissima*) [8, 11]. В большинстве гнезд, обнаруженных на озере Картма, кладка белохвостой пигалицы содержала четыре яйца, были встречены единичные, очень редкие случаи с кладкой с тремя яйцами. В целом, береговая зона Картмы, является излюбленным местом гнездования, кормления данного вида.

Белохвостая пигалица встречается на озере Картма в теплое время года, с весны по осень. Суточная активность характеризуется преимущественно дневным образом жизни. Чаще всего делит свое местообитание с другими куликами, это – ходолючник *Himantopus himantopus*, луговая тиркушка *Glareola pratincola*. Основные запасы *Vanellochettusia leucura* сосредоточены главным образом на береговой зоне исследуемого водоема. Местообитание указанных трех видов может быть подразделено следующим образом (от берега к центральной части озера):

сухое побережье – луговая тиркушка, затопляемое побережье – белохвостая пигалица, береговая отмель – ходулочник [8]. Такое общество является следствием трофической специализации, эволюцией клюва и длины ног (цевки) [16-17, 21]. Также немаловажна чуткость, неослабная внимательность и крикливость белохвостой пигалицы, которая является сигналом при приближении посторонних (человек или

животные) [8, 11]. Этим ее свойством особенно пользуется луговая тиркушка – весьма доверчивая птица, может подпускать человека на близкие дистанции.

Сезонную динамику количественного состава белохвостой пигалицы, зарегистрированной во время проведения учетов птиц на озере Картма с 2014 по 2019 гг. можно проследить в приводимой (табл. 1).



Рисунок 2 – Белохвостая пигалица *Vanellochettusia leucura* на озере Картма



Рисунок 3 – Гнездо белохвостой пигалицы *Vanellochettusia leucura* на озере Картма

Таблица 1 – Количество особей белохвостой пигалицы на озере Картма

Год Сезон	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Весна	80	120	142	82	91	97
Лето	31	143	150	121	123	127
Осень	42	36	42	23	25	22

Согласно представленной (табл. 1), наименьшее число птиц наблюдается в 2019 г. во время осенних учетов (22 ос). Максимально возможное количество учтенных птиц (150 ос.) зарегистрировано летом 2016 г. В целом, наблюдается увеличение численности птиц с 2014 по 2016 гг. в весенний (с 80 до 142 ос.) и летний сезон (с 31 до 150 ос.), в 2017 г. отмечен спад количества зарегистрированных особей: в весенний сезон (с 142 до 82 ос.) и летом (с 150 до 121 ос.). Однако, в дальнейшем фиксируется постепенное увеличение численности *Vanellochettusia leucura*: весной с 82 (2017 г.) до 97 ос. (2019 г.) и летом с 121 (2017 г.) до 127 ос. (2019 г). Регистрация птиц осеннего сезона показывает совсем иную картину, в 2014 и 2016 гг. отмечено по 42 ос., тогда как, в 2015 г. зафиксировано 36 ос., далее наблюдается резкое уменьшение до 23 и 22 особей соответственно в 2017 и 2019 гг. Во время учетов с 2014 по 2019 гг. данный сезон характеризовался общей обедненностью количественного состава по сравнению с другими учетными сезонами, а также постепенным уменьшением зарегистрированных особей белохвостой пигалицы. Причиной этому могут служить, частичное обмеление водоема к концу летнего сезона до границ тростниково-купаковой зоны, с последующим истощением запасов кормовой базы куликов, ввиду осушения грунта береговой зоны. Необходимо подробно изучить данное явление. Во-первых, обмеление водоема является следствием как антропогенного фактора – регулирование стока реки Сырдарья, с увеличением попусков воды в Северное Аральское море (+42 м. по Балтийской системе) через Аклакский гидроузел, который обеспечивает водоносность озера Картма, так и естественным процессом – эвапотранспирация *Phragmites australis*. Во-вторых, густые заросли тростника (купаки) не входят в среду обитания куликов Приаралья, тут доминируют представители аистообразных (Ciconiiformes), воробьинообразных (Passeriformes) и болотный лунь из отряда дневных хищных птиц (Falconiformes) [2, 8, 11]. Соответственно, кормовая база куликов озе-

ра Картма ограничена пределами береговой зоны водоема (литораль, сублитораль) вне распространения тростников. Также немаловажным является подготовка белохвостой пигалицы к осенней миграции и отлет на зимовку, который совпадает со сроками проведения учетов. В целом, указанные факторы могут составлять основу устойчивой тенденции уменьшения количественного состава *Vanellochettusia leucura* по сравнению с остальными учетными сезонами [22].

С целью сравнения характера гнездования и пребывания белохвостой пигалицы в Приаралье (казахстанская, восточная часть), а также проследить изменение в поведении данного вида, составлена сводка на основе литературных источников. Учитывая тот факт, что Э.А. Эверманн проводил учеты птиц нижнего течения реки Сырдарья в 1820 г. [19], представленная сводка охватывает временной промежуток продолжительностью порядка 200 лет (табл. 2).

В.Н. Бостанжогло в своем фундаментальном исследовании приводит белохвостую пигалицу в общем списке птиц региона, но отмечает что не встречал ее во время учетов [23]. В публикации Е.П. Спангенберга, Г.А. Фейгина белохвостая пигалица в долине реки Сырдарья и на восточном побережье Аральского моря обозначается кодировкой «М» – вид, встречаемый в местности во время весенне-осенних миграции [25]. Указанная работа – результат изучения авифауны низменного Казахстана, инициированного авторами в период с 1924 по 1932 гг., и вполне возможно, что тогда белохвостая пигалица не гнездилась на исследуемой территории.

Анализируя приводимую сводку (табл. 2), можем предположить, белохвостая пигалица по характеру пребывания в регионе восточного Приаралья, в целом придерживается намеченной тенденции [2, 8]. Нам кажется, данное обстоятельство может быть связано с утверждением о том, что птицы чрезвычайно консервативны при выборе места обитания, и в сравнении с млекопитающими обладают крайне слабой экологической приспособляемостью [9, 28].

Таблица 2 – Характер гнездования и пребывания белохвостой пигалицы в Приаралье (казахстанская часть)

№	Публикации	Характер гнездования и пребывания
	Эверсманн (1868) [19]	В (гнездование)
	Бостанжогло (1911) [23]	нв (в публикации приводится в списке птиц, но не встречен)
	Зарудный (1916) [24]	МВ (миграция и гнездование)
	Спангенберг, Фейгин (1936) [25]	М (миграция)
	Долгушин (1962) [11]	В (гнездование)
	Ковшарь (2012) [18]	В (гнездование)
	Березовиков (2015) [26]	В (гнездование)
	Варшавский (2015) [27]	В (гнездование)
	Наши данные (2014-2019) [2, 8]	В (гнездование)

Немаловажным является проявление фактов антропогенной нагрузки со стороны местного населения. Расположение водоемов в аридной зоне предопределяет отсутствие пастбищ за пределами озер, т.е., так называемый эффект оазиса [29-30]. Это приводит к активизации элементов деградации прибрежной растительности, вызванной в основном перевыпасом скота. В то же время, здесь сохранились генофонд растительности и фрагменты фитоценозов, которые при надлежащей охране и рациональном использовании территории водно-болотных угодий должны восстановиться.

Выводы

1. Белохвостая пигалица *Vanellochettusia leucura* – на территории Казахстана встречается в водно-болотных угодьях пустынной зоны, в частности, в среднем и нижнем течении долины реки Сырдарья; системах озер дельты реки Сырдарья, в том числе на исследуемом объекте – озере Картма; на берегу Северного Аральского моря и на северном побережье Каспийского моря.

2. В период проведения учетов птиц с 2014 по 2019 гг., белохвостая пигалица количественно преобладала в летний сезон 2016 г., наименьшее количество зарегистрировано осенью 2019 года.

3. Сравнительный анализ литературы по орнитологии казахстанского Приаралья показал, что белохвостая пигалица сохранила свой гнездовой ареал и в основном придерживается того характера пребывания, указанного в приводимых источниках.

Заключение

Последняя регрессия Аральского моря, начавшаяся в 60-х гг. XX века изменила биоразнообразие всего региона Приаралья. Реализация экологического проекта РРССАМ, осуществленная в 2005 г., способствовала сохранению водно-болотных угодий системы озер дельты реки Сырдарья и Северного Аральского моря. В результате наблюдается постепенное восстановление биоразнообразия казахстанской части Приаралья. Одними из первых после начала процесса восстановления данную территорию стали населять птицы, которые являются прекрасными индикаторами состояния окружающей среды. Изучение динамики количественного состава и экологии авифауны Приаралья в современный период является одной из приоритетных задач. В качестве объекта исследования выступает озеро Картма, который входит в систему озер дельты реки Сырдарья и является местом остановок орнитофауны во время весенне-осенних миграции. В структуре фауны птиц водоема преобладает отряд ржанкообразных. Предмет исследования – белохвостая пигалица – кулик, распространенный на территории Казахстана в пределах среднего и нижнего течения, системы озер дельты реки Сырдарья. Экология, количественный состав белохвостой пигалицы в регионе недостаточно освещен в научной литературе. В результате учетов птиц выявлена ярко выраженная сезонность встречаемости *Vanellochettusia leucura*. Наблюдается постепенное увеличение численности белохвостой пигалицы в весенний и летний сезон с 2014 по 2019 гг. Наиболее высокое значение численности птиц

на озере Картма (150 ос.) зарегистрировано в летний учетный сезон 2016 г., тогда как минимальное количество *Vanellochettusia leucura* (22 ос.) отмечено во время осенних учетов 2016 г. В целом, наблюдается постепенное восстановление водно-болотных угодья нижнего течения и дельты реки Сырдарья, что имеет благотворное влияние на видах авифауны населяющих указанные местообитания.

Благодарности

Автор выражает искреннюю признательность И.И. Рахимову (Казанский федеральный университет, Казань), Н.В. Аладину (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург) за критические замечания и предоставленные данные по водно-болотным угодьям дельты Сырдарьи.

Литература

- 1 Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение: Пер. с англ. – М.: Мир, 1992. – 184 с.
- 2 Sihanova N.S., Rahimov I.I. Avifauna of the Lake Systems in the Delta of the Syr Darya River (Lake Cartma) // *Helix*. – 2017. – V. 8 (1). – P. 2259-2264. – DOI 10.29042/2018-2259-2264.
- 3 Hofstra, M.A., Strijbis, G. WIER, information system for data about waste water emissions // H2O. – 1988.
- 4 Рубцов А.А., Евгеньев Г.И. Биопереходы для животных на автомобильных дорогах I категории // *Международный студенческий научный вестник*. – 2017. №4-7. – С. 1044-1048.
- 5 Kruidering A.M., Veenbaas G., Kleijberg R., Koot G., Rosloot Y and Van Jaarsveld E., 2005, Leidraad faunavoorzieningen bij wegen. Rijkswaterstaat, Dienst Weg-en Waterbouwkunde, Delft, The Netherlands. URL: <http://publicaties.minienm.nl/documenten/leidraad-faunavoorzieningen-bij-wegen> (дата обращения: 19.01.2020).
- 6 Аладин Н.В., Плотников И.С. Современная фауна остаточных водоемов, образовавшихся на месте бывшего Аральского моря // *Труды Зоологического института РАН*. Т.312, №1/2, 2008. – С. 145-154.
- 7 Нургизаринов А. Арал өңірінің экологиялық күйіне байланысты биологиялық қорлардың қайтадан қалпына келуі // *Қазіргі заманғы Арал өңірінің экологиялық жағдайы, проблемаларды шешу перспективалары: Халықаралық ғылыми-практикалық конференция*. Қызылорда, 2011. – Б. 59-61.
- 8 Sihanova N.S., Rahimov I.I. Waders of Lake Cartma (The Systems of Coastal Lakes of the North Aral Sea, Kyzylorda, Kazakhstan) // *Helix*. – 2017. – V. 8 (1). – P. 2254-2258. – DOI 10.29042/2018-2254-2258.
- 9 Штегман Б.К. Основы орнитогеографического деления Палеарктики // *Фауна СССР. Птицы*. М.-Л., 1938. Т. 1, вып. 2. – 156 с.
- 10 Svensson L. Collins Bird Guide. 2–nd edit. / Harper Collins Publishers Ltd. London. 2010. – 446 p.
- 11 Долгушин И.А. Отряд Кулики – Limicolae. – В кн.: *Птицы Казахстана*. Т.2. // Под общ. ред. И.А. Долгушина. – Алма-Ата: АН КазССР, 1962. – С. 40-245.
- 12 Рябицев В.К. Ковшарь А.Ф., Ковшарь В.А., Березовиков Н.Н. Полевой определитель птиц Казахстана. – Алматы, 2014. – 512 с.
- 13 Gavrilov E., Gavrilov A. The Birds of Kazakhstan // *Tethys Ornithological Research*. – 2005. – vol. 2. – P. 1-228.
- 14 Aye R., Schwiezer M., Roth T. Birds of Central Asia (Kazakhstan, Turkmenistan, Uzbekistan, Kyrgyzstan, Tajikistan and Afghanistan) – *Field Guide*. London, 2012. – 336 p.
- 15 Равкин Ю.С. К методике учета птиц лесных ландшафтов // *Природа очагов клещевого энцефалита на Алтае*. Новосибирск: Наука, 1967. – С. 66-75.
- 16 Mayr E., Amadon D. A classification of recent birds // *American Museum Novitates*. – 1951, – vol. 1496. – P. 1-42.
- 17 Message S., Taylor D. *Field Guide to the Waders of Europe, Asia & North America* / – Christopher Helm London. 2005. – 224 p.
- 18 Ковшарь А.Ф. Ревизия орнитофауны и современный список птиц Казахстана // *Орнитологический вестник Казахстана и Средней Азии*. – 2012. – Вып. 1. – С. 51-70.
- 19 Эверсманн Э. Естественная история Оренбургского края. Ч. 3. Казань. В университетской типографии, 1868. – 614 с.
- 20 Пославский А.Н. Гнездование белохвостой пигалицы *Vanellochettusia leucura* в дельте Сырдарьи // *Русский орнитологический журнал*. Том 22, Экспресс-выпуск 935. 2013. – С. 2998-2999.
- 21 Юдин К.А. Филогения и классификация ржанкообразных // *Фауна СССР. Птицы*. Т. 2, Вып. 1.1. – М.-Л.: Изд-во Наука, 1965. – С. 24-41.
- 22 Березовиков Н.Н. Материалы к орнитофауне авандельты Сырдарьи и Малого Аральского моря // *Русский орнитологический журнал*. Том 21, Экспресс-выпуск 775. 2012. – С. 1619-1653.
- 23 Бостанжогло В.Н. Орнитологическая фауна Арало-Каспийских степей // *Материалы к познанию фауны и флоры Российской империи*. Отд. зоол. Том 11. М.: Типография Императорского Московского Университета, 1911. – 410 с.
- 24 Зарудный Н.А. Птицы Аральского моря // *Изв. Туркестанского отдела ИРГО*. Т. 12, вып. 1. Ташкент. Типо-литография В.М. Ильина, 1916. С. 1-229.

- 25 Спангенберг Е.П., Фейгин Г.А. Птицы нижней Сырдарьи и прилегающих районов // Сборник трудов Государственного зоологического музея МГУ, вып. III. Москва, 1936. – С. 41-184.
- 26 Березовиков Н.Н. Орнитологический мониторинг в Рамсарских водно-болотных угодьях Малого Аральского моря, дельты Сырдарьи, Камыстыбасской и Акчатауской озерных систем в августе 2015 года // Русский орнитологический журнал. Том 24, Экспресс-выпуск 1227. 2015. – С. 4519-4541.
- 27 Варшавский С.Н. К распространению и экологии куликов в северном Приаралье и прилегающих районах // Русский орнитологический журнал. Том 24, Экспресс-выпуск 1208. 2015. – С. 3916-3919.
- 28 Wassink A., De Cocksdorp. The new Birds of Kazakhstan // Texel. – 2015. – 382 p.
- 29 Heinzel H. Fitter R., Parslow J. Birds of Britain & Europe with North Africa & the Middle East // Harper Collins Publishers. London. 1995. – PP. 142-143 p.
- 30 Beaman M., Madge S. The Handbook of Bird Identification for Europe & the Western Palearctic Christopher Helm A&C Black. London. 2010. 868 p.

References

- 1 Mjegarran Je. Jekologicheskoe raznoobrazie i ego izmerenie [Ecological diversity and its measurement]: Per. s angl. – M.: Mir, 1992. – 184 s.
- 2 Sihanova N.S., Rahimov I.I. Avifauna of the Lake Systems in the Delta of the Syr Darya River (Lake Cartma) // Helix. – 2017. – V. 8 (1). – P. 2259-2264. – DOI 10.29042/2018-2259-2264.
- 3 Hofstra, M.A., Strijbis, G. WIER, information system for data about waste water emissions // H2O. – 1988.
- 4 Rubcov A.A., Evgen'ev G.I. Bioperehody dlja zhivotnyh na avtomobil'nyh dorogah I kategorii // Mezhdunarodnyj studentcheskij nauchnyj vestnik. – 2017. №4-7. – S. 1044-1048.
- 5 Kruidering A.M., Veenbaas G., Kleijberg R., Koot G., Rosloot Y and Van Jaarsveld E., 2005, Leidraad faunavoorzieningen bij wegen. Rijkswaterstaat, Dienst Weg-en Waterbouwkunde, Delft, The Netherlands. URL: <http://publicaties.minienm.nl/documenten/leidraad-faunavoorzieningen-bij-wegen> (data obrashhenija: 19.01.2020).
- 6 Aladin N.V., Plotnikov I.S. Sovremennaja fauna ostatochnykh vodoemov, obrazovavshijsja na meste byvshego Aral'skogo morja [Modern fauna of residual water bodies formed on the place of the former Aral Sea] // Trudy Zoologicheskogo instituta RAN. T.312, №1/2, 2008. – S. 145-154.
- 7 Nurgizarinov A. Aral uongirining jekologijalyq kujine bajlanysty biologijalyq qorlardyng qajtadan qalpyna kelui// Qazirgi zamanghy Aral ongirining jekologijalyq zhaghday, problemalary sheshu perspektivalary: Halykaralyq ghylymi-praktikalyq konferencija. Qyzylorda, 2011. – B. 59-61.
- 8 Sihanova N.S., Rahimov I.I. Waders of Lake Cartma (The Systems of Coastal Lakes of the North Aral Sea, Kyzylorda, Kazakhstan) // Helix. – 2017. – V. 8 (1). – P. 2254-2258. – DOI 10.29042/2018-2254-2258.
- 9 Shtegman B.K. Osnovy ornitogeograficheskogo deleniya Palearktiki // Fauna SSSR. Pticy. M.-L., 1938. T. 1, vyp. 2. – 156 s.
- 10 Svensson L. Collins Bird Guide. 2–nd edit. / Harper Collins Publishers Ltd. London. 2010. – 446 p.
- 11 Dolgushin I.A. Otrjad Kuliki – Limicolae. – V kn.: Pticy Kazahstana. T.2. // Pod obshh. red. I.A. Dolgushina. – Alma-Ata: AN KazSSR, 1962. – S. 40-245.
- 12 Rjabicev V.K. Kovshar' V.A., Kovshar' V.A., Berzovikov N.N. Polevoj opredelitel' ptic Kazahstana [A Field Guide to the Birds of Kazakhstan]. – Almaty, 2014. – 512 s.
- 13 Gavrilov E., Gavrilov A. The Birds of Kazakhstan // Tethys Ornithological Research. – 2005. – vol. 2. – P. 1-228.
- 14 Aye R., Schwiezer M., Roth T. Birds of Central Asia (Kazakhstan, Turkmenistan, Uzbekistan, Kyrgyzstan, Tajikistan and Afghanistan) – Field Guide. London, 2012. – 336 p.
- 15 Ravkin Ju.S. K metodike ucheta ptic lesnyh landshaftov // Priroda ochagov kleshhevogo jencefalita na Altae. Novosibirsk: Nauka, 1967. – S. 66-75.
- 16 Mayr E., Amadon D. A classification of recent birds // American Museum Novitates. – 1951, – vol. 1496. – R. 1-42.
- 17 Message S., Taylor D. Field Guide to the Waders of Europe, Asia & North America / – Christopher Helm London. 2005. – 224 p.
- 18 Kovshar' A.F. Revizija ornitofauny i sovremennyj spisok ptic Kazahstana // Ornitologicheskij vestnik Kazahstana i Srednej Azii. – 2012. – Vyp. 1. – S. 51-70.
- 19 Jeversmann Je. Estestvennaja istorija Orenburgskogo kraja. Ch. 3. Kazan'. V universitetskoj tipografii, 1868. – 614 s.
- 20 Poslavskij A.N. Gnezdovanie belohvostoj pigalicy Vanellochettusia leucura v del'te Syrdar'i // Russkij ornitologicheskij zhurnal. Tom 22, Jekspress-vypusk 935. 2013. – S. 2998-2999.
- 21 Judin K.A. Filogenija i klassifikacija rzhankoobraznyh // Fauna SSSR. Pticy. T. 2, Vyp. 1.1. – M.-L.: Izd-vo Nauka, 1965. – S. 24-41.
- 22 Berzovikov N.N. Materialy k ornitofaune avandel'ty Syrdar'i i Malogo Aral'skogo morya // Russkij ornitologicheskij zhurnal. Tom 21, Jekspress-vypusk 775. 2012. – S. 1619-1653.

- 23 Bostanzhoglo V.N. Ornitologičeskaja fauna Aralo-Kaspijskih stepej // Materialy k poznaniju fauny i flory Rossijskoj imperii. Otd. zool. Tom 11. M.: Tipografija Imperatorskogo Moskovskogo Universiteta, 1911. – 410 s.
- 24 Zarudnyj N.A. Pticy Aral'skogo morja // Izv. Turkestanskogo otdela IRGO. T. 12, vyp. 1. Tashkent. Tipo-litografija V.M. Il'ina, 1916. S. 1-229.
- 25 Spangenberg E.P., Fejgin G.A. Pticy nizhnej Syrdar'i i prilegajushhhij rajonov // Sbornik trudov Gosudarstvennogo zoologičeskogo muzeja MGU, vyp. III. Moskva, 1936. – S. 41-184.
- 26 Berezovikov N.N. Ornitologičeskij monitoring v Ramsarskih vodno-bolotnyh ugod'jah Malogo Aral'skogo morja, del'ty Syrdar'i, Kamystybasskoj i Akchatauskoj ozernyh sistem v avguste 2015 goda // Russkij ornitologičeskij zhurnal. Tom 24, Jekspress-vypusk 1227. 2015. – S. 4519-4541.
- 27 Varshavskij S.N. K rasprostraneniju i jekologii kulikov v severnom Priaral'e i prilegajushhhij rajonah // Russkij ornitologičeskij zhurnal. Tom 24, Jekspress-vypusk 1208. 2015. – S. 3916-3919.
- 28 Wassink A., De Cocksdorp. The new Birds of Kazakhstan // Texel. – 2015. – 382 p.
- 29 Heinzel H. Fitter R., Parslow J. Birds of Britain & Europe with North Africa & the Middle East // Harper Collins Publishers. London. 1995. – PP. 142-143 p.
- 30 Beaman M., Madge S. The Handbook of Bird Identification for Europe & the Western Palearctic Christopher Helm A&C Black. London. 2010. 868 p.

5-бөлім
**АДАМ ЖӘНЕ ЖАНУАРЛАР
ФИЗИОЛОГИЯСЫ**

Section 5
**HUMAN AND ANIMAL
PHYSIOLOGY**

Раздел 5
**ФИЗИОЛОГИЯ
ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

А.С. Динмухамедова*, Ш.К. Елеупаева

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.,

*e-mail: a_a_a_shynar@mail.ru

БАЛАЛАРДЫҢ ЖАС ЕРЕКШЕЛІГІ МЕН ЖЫНЫСЫНА БАЙЛАНЫСТЫ РЕНАЛЬДІ ИНФЕКЦИЯ ҚОЗДЫРҒЫШТАРЫ ТҮРЛЕРІНІҢ ЖЫЛ МЕЗГІЛДІК ТАРАЛУ КӨРСЕТКІШТЕРІ

Мақалада тубулоинтерстициальді ұлпалар мен бүйректегі пиелоцитальді жүйенің зақымдануына әкелетін микробты қабыну туғызатын доминантты инфекциялар түрлері айқындалған. Зерттеуге 3ШЖИ шалдыққан 1 айдан 17 жас аралығындағы балалардың несептерінен арнайы микробиологиялық зерттеулер арқылы 88 бактериялар культуралары зерттелінді. Эндо ортасы мен қанды агарға секторлық екпе жасалынып, ішек микрофлорасының түрлік құрамы мен сандық параметрі бактериурия дәрежесі арқылы анықталды. Микроорганизмдердің оқшауланған штамдарының микробқа қарсы препараттарға сезімталдығын персистентті маркерлер арқылы анықталды. Алынған нәтижелерді өңдеу әдістері вариациялық статистикамен, сараптамалардың айырмашылық дәлдігін Стюдент-Фишер критерийлерімен бағаланды. Зерттеулер нәтижесінде ең үлкен доминантты бактериялар көрсеткіші Staphylococcus (30,6%) туысына жататындар, әсіресе соның ішіндегі түрлері: S.aureus (11,1%), S.epidermidis (48,1%) және S.saprophyticus (37,1%), S.intermedius (3,7%) екені белгілі болды. Бактериялар культураларының доминантты түрлері балалардың жас ерекшеліктері, жынысы мен жылдың мезгілдеріне байланысты таралуы да анықталды. Әсіресе ренальді қабынуға әкелетін E. Coli штамдары жаз айында ұлдар мен қыздар арасында басымырақ болса, Enterococcus faecalis күзде, ал саңырауқұлақ туысының Candida өкілдері барлық мезгілде ұл балалар арасында қыста кеңінен таралған. Staphylococcus epidermidis штамы көктем айында қыз балалар арасында аса үлкен көрсеткішке ие болып отыр. Зерттеу нәтижесінде доминантты болған Staphylococcus epidermidis штаммының антибиотикке сезімталдығы мен резистенттілігі анықталып, ең үлкен сезімталдылығы цефотаксимге (98,6%), цефазолинге (97,8%), цефуроксим (95,5%), амикацинге (100%), оксацилинге (85,3%), имепинемге (87,5%) өте жоғары екені дәлелденді. Балалар арасында зәр шығару жүйесі қоздырғыштарының кейбірі, яғни анықталып отырған шартты патогенді бактериялардың басым көпшілігі жеке ағзаның физиологиясына да тәуелді екені байқалған.

Түйін сөздер: ренальді инфекция, пиелонефрит, микробтық биоценоз, бактериурия, тубулоинтерстициальді қабыну, иммунитет.

Sh.K. Yeleupayeva*, A.S. Dinmukhamedova

L.N. Gumilev Eurasian national university, Kazakhstan, Nur-Sultan,

*e-mail: a_a_a_shynar@mail.ru

Annual indicators of the prevalence of renal infection agents related to age peculiarity and sex of children

The dominant types of infections that cause microbial inflammation, which leads to the damage of tubulointerstitial tissue and pyelocytic system in the kidneys are considered in the article. The study examined 88 bacterial cultures from the urine of children aged 1 month to 17 years with UTIs using special microbiological studies. Sectoral inoculation to endo medium and blood agar was performed and species composition and quantitative parameters of intestinal microflora were determined by the degree of bacteriuria. Sensitivity of isolated strains of microorganisms to antimicrobial drugs was determined by persistent markers. Methods of processing obtained results were evaluated by variational statistics, difference accuracy of the analysis was determined by Student-Fisher criteria. According to the research, the largest number of dominant bacterias is related to Staphylococcus (30,6%) relatives, especially the types in it: S.aureus (11,1%), S.epidermidis (48,1%) and S.saprophyticus (37,1%), S.intermedius (3,7%). It is defined that the prevalence of bacterial cultures in children depends on their age peculiarities, sex and time of the year. In particular E.Coli strains, which cause renal inflammation are more dominant among the boys and girls in summer, Enterococcus faecalis is dominant in the fall and Candida fungi rela-

tive representatives are spread widely among the boys in all season. Staphylococcus epidermidis strain is the most prevalent among girls in spring. As a result of the research, it is defined that the Staphylococcus epidermidis was dominant. The sensitivity of Staphylococcus epidermidis strain to antibiotic susceptibility and resistance was defined and it is revealed that the highest sensitivity to cefotaxime (98,6%), cefazolin (97,8%), cefuroxime (95,5%), amikacin (100%), oxacillin (85,3%), imepinem (87,5%) was very high. The antibiotic resistance of some types of pathogens of the urinary system in children, namely the studied opportunistic bacteria, also depend on the physiology of an individual organism.

Key words: renal infection, pyelonephritis, microbial biocenosis, bacteriuria, tubulointerstitial inflammation, immunity.

Ш.К. Елеупаева*, А.С. Динмухамедова

Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Казахстан, г. Нур-Султан,
*e-mail: a_a_shynar@mail.ru

Показатели периодического распространения видов возбудителей ренальной инфекции в зависимости от возраста и пола детей по временам года

В статье определены доминирующие типы инфекций, которые вызывают микробное воспаление, приводящее к повреждению тубулоинтерстициальной ткани и пилоцитарной системы в почках. В исследовании изучены 88 бактериальных культур с мочой детей в возрасте от 1 месяца до 17 лет с ИППП с использованием специальных микробиологических исследований. Проводили секторальную инокуляцию эндосреды и кровяного агара, а видовой состав и количественные параметры кишечной микрофлоры определяли по степени бактериурии. Чувствительность выделенных штаммов микроорганизмов к противомикробным препаратам определяли по стойким маркерам. Методы обработки полученных результатов оценивались с помощью вариационной статистики, достоверности различий анализа по критериям Стьюдента-Фишера. Исследования показали, что стафилококк (30,6%) связан с *S. aureus* (11,1%), *S. epidermidis* (48,1%) и *S. saprophyticus* (37,1 %), *S. intermedius* (3,7 о). Доминирующие виды бактериальных культур были также определены, в зависимости от возраста, пола и времени года у детей. Штаммы *Coli* преобладают летом среди мальчиков и девочек. *Enterococcus faecalis* распространен осенью, а *Candida*, родственник гриба, часто встречается у мальчиков зимой. Штамм *Staphylococcus epidermidis* наиболее распространен среди девочек весной. Были определены чувствительность и устойчивость к антибиотикам штамма *Staphylococcus epidermidis*, наибольшая чувствительность к цефотаксиму (98,6%), цефазолину (97,8%), цефуроксиму (95,5%), амикацину (100%), оксациллину (85,39), имепинем (87,5%). Антибиотикоустойчивость некоторых видов возбудителей мочевыделительной системы у детей, а именно исследуемых условно-патогенных бактерий, также зависит от физиологии отдельного организма.

Ключевые слова: ренальная инфекция, пиелонефрит, микробный биоценоз, бактериурия, тубулоинтерстициальное воспаление, иммунитет.

Қысқартылған сөздер

ЗШЖИ – зәр шығару жолының инфекциясы,
КМК – коммуналдық мемлекеттік кәсіпорын,
ПН – пиелонефрит

Кіріспе

Қазіргі кезде балалардың зәр шығару жүйесінің инфекциясы нефрология мен педиатрияның өзекті мәселелерінің бірі болып отыр. Ренальді инфекция – бұл тубулоинтерстициальді ұлпалар мен бүйректегі пиелоцитальді (бүйрек астауы) жүйенің зақымдануына әкелетін микробты қабыну ауруы ретінде қарастырылады [1-5].

Пиелонефрит (ПН) – тубулоинтерстициальді қабынумен қоса үздіксіз бактериялық инфекцияның шабуылымен мінезделетін кезеңдік

патологиялық үдеріс [6]. Пиелонефриттің этиологиясы мен патогенезіндегі тікелей аурудың себебі болып инфекциялық факторлар болып табылады [7,8]. Әр түрлі инфекциялық агенттерге сезімталдықтың жоғарылауы, зәр шығару жолдарының инфекцияларының (ЗШЖИ) рецидиві мен созылмалы болуы патогендік және шартты патогендік микроорганизмдердің гуморалды және жасушалық иммунитетінің эффекторлық байланыстарының әсеріне қарсы тұру қабілетімен байланысты. Бұл олардың иммунобиологиялық кедергілерін жеңуіне ғана мүмкіндік бермейді және әртүрлі органдар мен тіндерді қорғайды және колонизациялайды, сонымен қатар олардың ағзада ұзақ уақыт сақталатындығы ғылыми тұрғыда дәлелденген [9,10,11,12]. Қабылдаушы ағзада «иммунорезистивтігі» мен тұрақтылығын

бағыттайтын жұқпалы агенттер қасиеттерінің жиынтығы, пиелонефрит қоздырғыштарының патогендік потенциалының ажырамас құрамдас бөлігі болып табылады. Оған микробтың антилизоцимді, антикомплементарлы, антиинтерцидті белсенді және тағы басқа қасиеттері жатады [13,14].

Уротракт инфекциясын негізінен зертханалық жағдайда анықтауда бактериурия әдісі қолданылады. Пиелонефритпен ауыратын науқасты тексеру кезінде несепті микробиологиялық зерттеуден өткізіп, онда урофлораның қоздырғышының түрін, вируленттілігі мен тұрақты қасиеттерін анықтайды [15].

Балалардағы осы патологияның қоздырғыштарының таксономиялық құрылымын бағалау кезінде бактериялық уропатогендер спектрінде Enterobacteriaceae тұқымдас микроорганизмдердің негізгі орын алатыны белгілі болған (80-90% дейін) [16,17].

ЗШЖИ үшін ең көп таралған шынайы этиологиялық агент – *E. coli*, оның несептегі өсіндісі 60-тан 87,3%-ға дейін жетеді. Көбінесе созылмалы обструктивті пиелонефритпен ауыратын 1-5 жас аралығында балаларда аэробты грам теріс таяқшалар өсінділері жиі кездесетіні дәлелденген. Пиелонефриттің қоздырғыштарының негізгі көзі ішек микробиоценозы екені белгілі, ал бүйрек инфекциясын туғызатын үдеріс-ішектен мезентериалды лимфа түйіндері мен қан айналым жолдарына тасымалдайтын негізгі механизм лимфогематогендік микроорганизмдердің миграциясы болып табылады. Бұдан уротракт пен ішектегі микробтық биоценоздың арасында өзара байланыс бар екені дәлелденді [18,19, 20].

Жұмыс барысында жалпы архивтік құжаттарға сүйене отырып соңғы 2017 жылдан бастап 2019 жылдар арасында ЗШЖИ шалдыққан балалардың жалпы статистикасы анықталды. Қарағанды қаласындағы облыстық балалар клиникалық емханасында жастары 1айдан 17 жас арасындағы нефрология бөлімінде пиелонефриттің асқынған белгісі мен ЗШЖИ емделіп шығып бақылауда тұрған және ем қабылдап жатқан 638 балалардың тізімі алынды. Онда 1 айдан 11 айға дейін 148 бала болса, оның 71 (48%) қыз бала, 77 (52%) ұл бала болды. Ал 1 жастан 5 жас аралығында 292 бала, оның 88 (30%) ұл бала, ал 204 (70%) қыз бала болды. 6-11 жас аралығында жалпы ЗШЖИ ауыратын балалардың жалпы көрсеткіші 190 құрады, оның ішінде 51 (26,8%) ұл бала, 138 (83,1%) қыз бала болды. Ал соңғы 12-17 жас

аралығындағы жасөспірімдер саны 129 жетсе, оның 31(24%) ұл бала, 98 (76%) қыз балалар екені анықталды. Негізгі мақсатымыз ренальді инфекция қоздырғыштар түрлерінің балалардың жасы мен жынысына байланысты таралуын анықтау болып табылады.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеуге 2019 жылдың қаңтар айынан бастап қыркүйек айы аралығында пиелонефриттің асқынған түріне шалдыққан Қарағанды қаласында тұратын 1 айдан 17 жас аралығындағы 196 ауру балалар бақылауға алынды. Оның 132-сі (67,3%) қыз, 64-і (32,7%) ұл бала болды. Зерттеу КМК Қарағанды облыстық клиникалық ауруханасында жүргізілді. Клиникалық ауруханаға облыс деңгейінен емделуге келетін пациенттер саны жоғары болғандықтан, тек Қарағанды қаласында тұратын балалар ғана іріктеліп алынды. Барлық балалардың несептерінен арнайы микробиологиялық зерттеулер жүргізілді. Соның ішінде Эндо ортасы мен қанды агарға секторлық екеп жасалынып, ішек микрофлорасының түрлік құрамы мен сандық параметрі бактериурия дәрежесі арқылы анықталды.

Бөлінген урологиялық флораның түрлік идентификациясын жалпы қабылданған әдістер арқылы жүзеге асырылды. Микроорганизмдердің окшауланған штамдарының антилизоцимге белсенділігі, антиинтерцидті белсенділігі мен серологиялық резистенттілігі, сонымен қатар микробқа қарсы препараттарға сезімталдығын персистентті маркерлер арқылы анықталды. Алынған нәтижелерді өңдеу әдістері вариациялық статистикамен, айырмашылық дәлдігін Стьюдент-Фишер критерийлерімен бағаланды.

Зерттеу нәтижелері мен талқылаулар

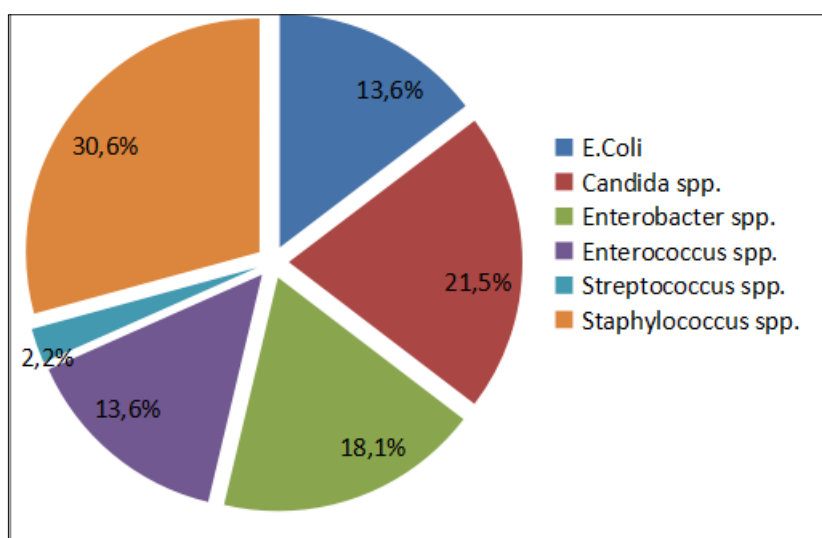
Емделу нәтижелерін сараптай келе пиелонефриттің асқынған түріне шалдыққан балалардың ауру кезеңдерін екі үлкен топқа біріктірдік (арудың асқынған және аурудан жазылған, яғни ремиссия фазасы). Бірінші топқа созылмалы пиелонефриттің асқынған түріне 139 (71%) бала болса, созылмалы пиелонефриттен жазылу фазасындағы 57 (29%) ауру балалар кірді.

Барлық 196 (100%) аурудың 88-інде (44,8%) бактериялар ізін көріп отырмыз. Ал қалған баланың 108 (55,1%) несептеріндегі бактериологиялық көрсеткіштерінде «ізі жоқ» деген зертханалық сараптама алынды. Бұл

балалардың дәрігерлік диагноздарына сүйене отырып анықтасақ: қуықтағы және бүйректегі туа біткен кемшіліктер (бір ғана бүйрегі бар балалар), бүйрек тасы мен қуықтағы нефретикалық синдромдары бар қатарына кіреді екен.

Негізінде созылмалы пиелонефрит қоздырғыштарының микроорганизмдік құрылымы Enterobacteriaceae тұқымдастарынан тұрады, әсіресе *E. Coli* үлесіне тиесілі. Бірақ біздің зерттеулер нәтижесінде төменде біраз ерек-

шеліктер бар екенін байқауға болады. Ең үлкен көрсеткішті *Staphylococcus* (30,6%) туысына жататындар әсіресе соның ішіндегі түрлері: *S.aureus* (11,1%), *S.epidermidis* (48,1%) және *S.saprophyticus* (37,1%), *S.intermedius* (3,7%) екені белгілі болды. Суретте зерттеулер нәтижесінде бақылау топтарындағы ренальді инфекцияның асқынған түрі мен ремиссиядағы науқастардың несептеріндегі бактериологиялық сараптамалар нәтижелері.



1-сурет – Бақылау топтарындағы несептерден алынған доминантты бактериялардың пайыздық көрсеткіштері

Бақылау топтарындағы несептен алынған бактериологиялық сараптамалар нәтижелерін жылдың төрт мезгілі мен аурудың жыныстық белгілеріне байланысты таралуын да анықтадық. Кестеге сүйене отырып, ЗШЖИ туғызатын бактериялардың ішінде *Saccharomytaies* ашытқылар тобына кіретін *Candida*-ның жалпы үлесі 19-ға тең болса, оны 8-і көктем айында және басым бөлігі барлық мерзімде ұл балаларда таралыпты. Ал *Staphylococcus epidermidis* керісінше қыз балалар арасында көктем мерзімінде басымырақ және *E.Coli* жаз айында ұлдар мен қыздар арасында басым көрсеткішті көрсетіп отыр. Төменгі кестеде бактериялардың доминантты белгілерінің көктем мерзімінде және қыз балалар арасында кең таралғанын байқауға болады.

Жалпы ауруларда бактериялардың 88 (100%) жыныстық айырмашылыққа байланысты таралуын талқыласақ, 51 (58%) қыз балаларда, 37 (42%) ұл балаларда екенін көруге болады. Сонымен қатар бактериологиялық көрсеткіштер бой-

ынша ұл балалар ЗШЖИ-на жаз айында көп ауырса, қыз балалар қыста және көктемде ең үлкен көрсеткіштер көрсетіп тұр.

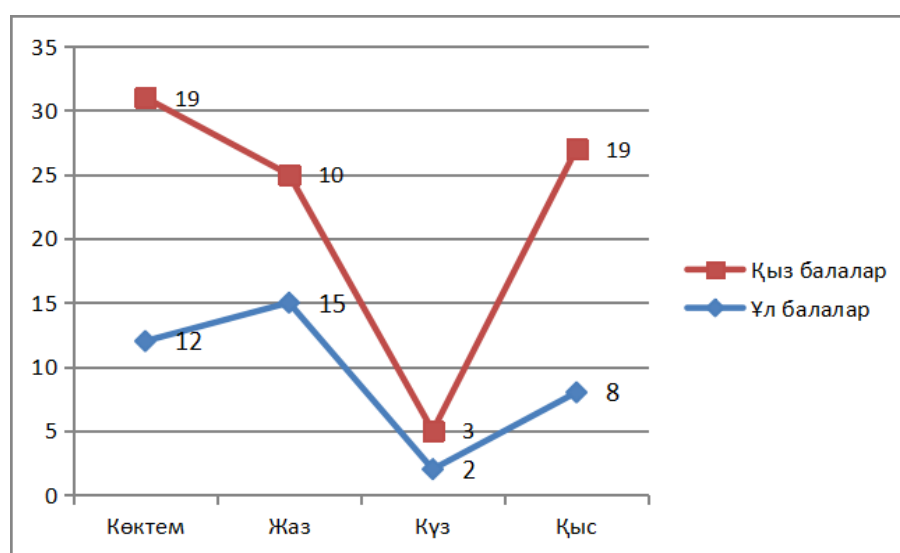
Ренальді инфекцияның асқынған түріне жыныстық ерекшеліктерімен қоса жас ерекшеліктері де айтарлықтай рөл атқарады. Жас ерекшелігіне тоқтала кетсек, қыс айында 1 жастан 5 жас шамасындағы қыз балалар жиі ауырып, ауру қоздырғыштары болып *E.Coli*, *Candida*, *Enterobacter aerogenes* пен *Staphylococcus epidermidis* табылды. Одан кейін 1айдан 11 ай арасындағы нәресте қыздар мен 12 жастан 17 жас арасындағы жасөспірім қыздар және 1 жастан 5 жас арасындағы ұлдарда жиі ауру ошақтары көрсетілген. Ал 6 жастан 11жас арасындағы ұлдарда ешқандай пиелонефриттің түрлері тіркелмеген, ал осы жас арасында тек бір қыз балада ЗШЖИ болып, несептің бактериологиялық сараптамасында *Enterobacter cloacae* табылған. Бактериологиялық сараптамаларға қарасақ көктемде ең белсенді болып ашытқы тұқымдас

Candida мен *Staphylococcus epidermidis* болды. 1айдан 11 ай аралығындағы ұл балаларда және 6 жастан 11 жас арасындағы қыз балаларда *Candida* доминантты болса, 1 жастан 5 жас аралығында қыз балаларда *Staphylococcus*

epidermidis үлесі жоғары болды. Ал *Enterococcus spp.* тұқымдастарының әр түрлерін 12 жастан 17 жас арасындағы жасөспірімдердің несебіндегі бактериологиялық сараптамаларынан көруге болады.

1-кесте – Зәр шығару жүйесі инфекциясының қалалық балалар арасындағы жыл мерзімдік көрсеткіштері

2019 жылдың қаңтар мен қыркүйек айлары											
№	Бактериялар атауы	Көктем		Жаз		Күз		Қыс		абс.	%M±m
		Ұлдар	Қыздар	Ұлдар	Қыздар	Ұлдар	Қыздар	Ұлдар	Қыздар		
1	<i>E.Coli</i>		1	3	3	1		1	3	12	13,6±0,6
2	<i>Candida</i>	5	3	3	2			3	3	19	21,5±0,5
3	<i>Enterobacter aerogenes</i>		3	1	2				2	8	9,1±0,09
4	<i>Enterobacter cloacae</i>	1		1			1		3	6	6,9±0,8
5	<i>Enterococcus faecalis</i>	1	2	1		1	2	2	3	12	13,6±0,6
6	<i>Streptococcus aeruginosa</i>			1	1					2	2,2±0,2
7	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	4	2	1			1	2	13	14,7±0,7
8	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	4	1				1	2	10	11,3±0,3
9	<i>Staphylococcus aureus</i>		1	1	1					3	3,4±0,4
10	<i>Staphylococcus intermedius</i>			1						1	1,1±0,1
11	<i>Hafnia alvei</i>		1						1	2	2,2±0,2
Барлығы		12	19	15	10	2	3	8	119	88	100



2-сурет – Қарағанды қаласы бойынша ЗШЖИ-на шалдыққан балалардың жыныстық айырмашылығының көрсеткіштері

2-кесте – Балалардың жасы мен жынысына байланысты ЗШЖИ-сы қоздырғыштарының қыс және көктем айлары бойынша таралуы

№	Бактериялардың атауы	Қыс				Көктем				Бактериялар саны
		1 - 11 ай (Ұ+Қ)	1 - 5 жас (Ұ+Қ)	6-11 жас (Ұ+Қ)	12-17жас (Ұ+Қ)	1 - 11 ай (Ұ+Қ)	1 - 5 жас (Ұ+Қ)	6 - 11жас (Ұ+Қ)	12 - 17 жас (Ұ+Қ)	
1	<i>E.Coli</i>		1+2		0+1		0+1		0+1	6
2	<i>Candida</i>	0+1	1+2		2+0	3+0	1+0	1+2	0+1	14
3	<i>Enterobacter aerogenes</i>		0+2			0+1	0+2			5
4	<i>Enterobacter cloacae</i>	0+1	0+1	0+1		1+0				4
5	<i>Enterococcus faecalis</i>	1+0	1+1		0+2	1+0		0+1		7
6	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1+0	0+2			2+1	1+2	0+1		10
7	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0+2	1+0			1+2	0+1	0+1	1+0	9
8	<i>Staphylococcus aureus</i>						0+1			1
9	<i>Hafnia alvei</i>				0+1				0+1	2
Жасы мен жынысына байланысты		2+4	4+10	0+1	2+4	8+4	2+7	1+5	1+3	58 (20+38)

*Ұ+Қ – ұл бала мен қыз балалардың арасында тіркелген доминантты бактериялар микрофлорасының саны

Ал жас ерекшеліктеріне келетін болсақ соның ішінде әсіресе жаз айында 1айдан 11 ай арасындағы ұл нәрестелер мен 6 жастан 11 жастағы қыздарда жиі кездесіп отыр. Ол бақылау тобындағы пиелонефриттің асқынған түріне шалдыққан ауруларға кіреді. Бұған туа біткен кемшіліктерден гөрі, анасының аяғы ауыр кездегі әртүрлі инфекциялық аурулар мен қан аздық, әлеуметтік жағдайлары да түрткі болып отыр. Сонымен жаз айында ең көп және доминантты бактериялар құрамын бірінші болып *E.Coli* толықтырып тұр. Өйткені ол 1айдан 17 жас аралығындағы балалардың 90%-ға жуығын қамтыды. Ал қыркүйек айының көрсеткіші бойынша *Enterococcus faecalis*-тің 6 жастан 11жас арасы мен 12 жастан 17 жас арасындағы қыз балалардың және 1айдан 11 ай арасындағы ұл балалардың несепінен табылып отыр.

Жоғарыда көрсетілгендей, *Staphylococcus* тұқымдасына жататындар ішінде доминантты болғандықтан *Staphylococcus epidermidis* культураның антибиотикке деген абсолютті сезімталдылық картасын құрастырып, емдеудегі

топтарға арнайы антибиотикалық препараттар белгіленді. Эпидермалды стафилококкалардың бөлініп алынған штамдарының ең үлкен сезімталдылығы цефотаксимге (98,6%), цефазолинге (97,8%), цефуроксим (95,5%), амикацинге (100%), оксациллинге (85,3%), имепинемге (87,5%) өте жоғары екенін көруге болады. Бөлініп алынған штамдардың амоксацилин, левофлоксацинге, офлоксацинге сезімталдығы әлсіз болды. Ал антибиотикке резистенттіліктің ең жоғары көрсеткіштерді ампициллинге (62%), рокситромицинге (49,3%), линкомицинге (26,2%) және азитромицинге (34,8%) болды. Төменгі кестеде несеп шығару жолдары инфекциясы бар науқастардан бөлініп алынған *Staphylococcus epidermidis* штамдарының антибиотикке сезімталдығы мен резистенттілігі берілген.

Төмендегі суретте бақылау топтарындағы несептің бактериологиялық сараптамасының доминантты штаммына антибиотикалық сезімталдық пен резистенттілігінің пайыздық көрсеткіштері.

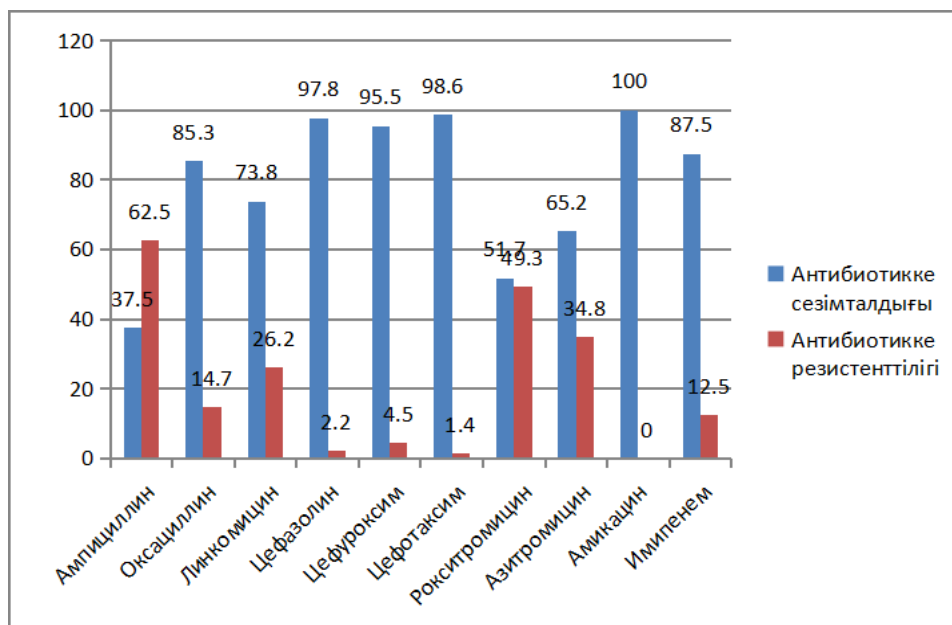
3-кесте – Балалардың жасы мен жынысына байланысты ЗШЖИ-сы қоздырғыштарының жаз және күз айлары бойынша таралуы

№	Бактериялардың атауы	Жаз				Күз				Бактериялар саны
		1 - 11 ай (Ү+Қ)	1 - 5 жас (Ү+Қ)	6 - 11 жас (Ү+Қ)	12 - 17 жас (Ү+Қ)	1 - 11 ай (Ү+Қ)	1 - 5 жас (Ү+Қ)	6 - 11 жас (Ү+Қ)	12 - 17 жас (Ү+Қ)	
1	<i>E.Coli</i>	1+1	1+0	1+0	0+2	1+0				7
2	<i>Candida</i>	2+0	1+1		0+1					5
3	<i>Enterobacter aerogenes</i>	0+1	1+0	0+1						3
4	<i>Enterobacter cloacae</i>	1+0					0+1			2
5	<i>Enterococcus faecalis</i>	1+0				1+0		0+1	0+1	4
6	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1+0		1+1						3
7	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>			1+0						1
8	<i>Staphylococcus aureus</i>	1+0		0+1						2
9	<i>Streptococcus aeruginosa</i>		1+0	0+1						2
10	<i>Staphylococcus intermedius</i>			0+1						1
Жасы мен жынысына байланысты		7+2	4+1	3+5	0+3	2+0	0+1	0+1	0+1	30 (16+14)

*Ү+Қ – ұл бала мен қыз балалардың арасында тіркелген доминантты бактериялар микрофлорасының саны

4-кесте – Жалпы қолданыстағы антибактериалдық препараттарға *Staphylococcus epidermidis*-тің сезімталдығы мен резистенттілігі

Антибактериалдық препарат	<i>Staphylococcus epidermidis</i>			
	Резистенттілігі		Сезімталдығы	
	N	%	N	%
Ампициллин	70	62,5	42	37,5
Оксациллин	21	14,7	122	85,3
Линкомицин	37	26,2	105	73,8
Цефазолин	3	2,2	131	97,8
Цефутоксим	6	4,5	127	95,5
Цефотаксим	2	1,4	140	98,6
Рокситромицин	70	49,3	72	51,7
Азитромицин	15	34,8	28	65,2
Амикацин	0	0	22	100
Имипенем	2	12,5	14	87,5



3-сурет – Несеп шығару жолдары инфекциясы бар науқастардан бөлініп алынған *Staphylococcus epidermidis* штамдарының антибиотикке сезімталдығы мен резистенттілігі

Сонымен, жүргізілген зерттеу жұмыстары *Staphylococcus epidermidis* штамдар қатынасына аса тиімді дәрі-дәрмектерге цефтриаксон және азитромицин жататынын көрсетті. Бұл осы топтағы ауруына қарсы бастапқы эмпирикалық антибактериялық терапия үшін цефтазидимді де пайдалану мүмкіндігі туындайды.

Қорытынды

Қорыта келе ЗШЖИ ауырған балалардың жалпы көрсеткіштеріне және асқыну түрлеріне байланысты тіркеулер жиынтығынан ренальді инфекция қоздырғыштар түрлерінің балалардың жасы мен жынысына байланысты таралуы анықталды. Клиникалық зертханалық кешенді зерттеулер мен емдеулер нәтижесінде созылмалы полинефритке шалдыққандардың көбінде – бүйрек ауруының генеологиялық кезеңдері (47,8%), асқорыту мүшесі (36,6%) мен сонымен қатар зәр шығару мүшесі аномалияларының болуы (15,5%), қуықтағы нейрогенді дисфункция, метоболизмнің бұзылуынан екеніне

көз жеткізіп отырмыз. Бүгінгі зерттеулерге сүйене отырып, ренальді инфекцияға ауыз суы ластанған, экологиялық, әлеуметтік орталардың төменгі жағдайлары да үлкен ықпал ететінін теріс лактоздық ішек таяқшасы мен *Candida* тектес саңырауқұлақтардың гомолитикалық құрылымының жоғары екендігі, сонымен қатар ішекте эшерихий серотипінің спектрінің кемуінен байқауға болады.

Мүдделер қақтығысы берілген мақаладағы авторлар арасында болған жоқ.

Алғыс

Нефрология бөлімінің дәрігері А.М. Горбатов пен аурухананың бас дәрігері А.Н. Бидайбаевқа нефрология бөлімінде бактериологиялық егу мен антибиотикке сезімталдық зерттеулерін жасауға атсалысқандары үшін үлкен алғыс білдіреміз.

Қаржыландыру көзі жоқ. Берілген мақала докторант пен жетекшінің ғылыми жұмыстары аясында әзірленген.

Әдебиеттер

- 1 Борисова Т.П., Багдасарова И.В. Инфекция мочевой системы у детей//Клиническая медицина. – 2014. – Т.1. – №2. – С.20-24.
- 2 Захарова И.Н. Инфекция мочевой системы у детей и современные представления об этиологии //Нефрология и диализ. – 2015. – Т.2. – №1. – С. 48-54.

- 3 Ешимова С., Тулегенова Ж., Кенжебаева Н., Динмухамедова А. Антибиотикочувствительность штаммов *enterococcus faecalis*, выделенных от больных с инфекциями мочевыводящей системы//Клиническая Медицина Казахстана. – 2015. – Т.4. – №38. – С.46-49.
- 4 Zhu X.f. Zhang Q.W., Yang S., Zhang D.P. Кандида *xinjiangensis* СП. новый анаморфный вид дрожжей, выделенный из *Scolytus scherygrewi* в Китае.// Canadian Journal of Microbiology. – 2017. – Т.199. – №2. – С. 377-383.
- 5 Ян С.С., Клыков Ю.И., Лин С.Х., Алжужфали И.А. Современные случаи вспышки патогенной кишечной палочки пищевого происхождения и разработка терапии.// Archive of Microbiology. – 2017. – Т.199. – №6 – С. 811-825.
- 6 Киелак А.М., Сиприано М. А. П., Курамай Е. Е. Штаммы ацидобактерий из подразделения 1 действуют как растение бактерии, способствующие росту. // Immunology and Microbiology: Microbiology. – 2016. – Т. 198. – №10. – С. 987-993.
- 7 Барабаш, А.Л., Булгаков Н.Г. Влияние химико-микробиологического состава подземных питьевых вод на здоровье человека // Успехи современной биологии. – 2015. – Изд.1. – №1. – С. 480-495.
- 8 Кузнецова А.А., Ревна М.О., Наточин Ю.В. Водно-солевой обмен и функции почек у детей при целиакии и хроническом гастродуодените // Педиатрия. – 2015. – Т.2. – №5. – С.27-31.
- 9 Джозеф А.М., Соновал Р., Махадеван С. Сравнительное исследование эволюции утилизации целлюлозы в кишечной палочке и шигелле сонней // Archive of Microbiology. – 2017. – Т. 2. – С. 247-257
- 10 Yuan Q.B., Huang Y.M., Shen Y., Hu N. Сравнительное исследование аэрации, биостимуляции и биоаугментации при очистке загрязненных городских рек. // Environmental technologies and innovations. – 2018. – Т.11. С. 276-285.
- 11 Клейн, С.В., Веквшинина С.А., Сбоев А.С. Приоритетные факторы риска питьевой воды и связанный с этим экономический ущерб // Гигиена и санитария. – 2016. – №1. – С. 10-14.
- 12 Биссенова Н., Ергалиева А., Махамбетов К. и др. Микробиологическое обоснование эффективности пробиотика в коррекции дисбактериоза кишечника // Клиническая Медицина Казахстана. – 2016. – №2(40). – С. 36-42.
- 13 Писклаков А.В., Шевляков А.С. Показатели профилометрии уретеро-везикального соустья при пузырно-мочеточниковом рефлюксе у детей с нейрогенной дисфункцией мочевого пузыря// Педиатрия. – 2016. – №95. (5). – С.132-135.
- 14 Корсунский А.А., Гусева Н.Б., Гаткин Е.Я., Корсунский И.А. Комплексное лечение рецидивирующего цистита при нейрогенной дисфункции мочевого пузыря у девочек//Педиатрия. – 2017. Т. 96. – № 1. – С.209-211.
- 15 Ильин Ф.Е., Даринский Ю.А. Экологический мониторинг питьевой и поверхностных вод Иртыша и Тобола// Экология человека. – 2017. – Т.1. – №1. – С.281-290.
- 16 Тукчи М., Рухи С., Гекче А. М., Кара М., Аксарай С. Случай инфекции мочевыводящих путей, вызванной Раултеллой плантиколой после уродинамического исследования бразильца.// Journal of infectious diseases. – 2017. – Т. 21. – №2. – С. 196-198.
- 17 Стридом Л., Джуэлл Ю.А., Мейер М., Пфистер Б., Зеэман С. Анализ генов, участвующих в деградации гликогена в кишечной палочке // FEMS Microbiology Letters. – 2017. – Т. 3. – С. 364-368.
- 18 Васильев А.О., Говоров А.В., Ширяев А.А. Изменение микрофлоры мочи у пациентов с мочекаменной болезнью // Урология. – 2018. – №6. – С. 26-31.
- 19 Дутов В.В., Буймистр С.Ю., Русанова Е.В. Оценка бактериологического анализа мочи у пациентов с длительным дренированием мочевого пузыря// Урология. – 2018. – №6. – С. 32-36.
- 20 Акбар М. Урологические осложнения после трансплантации почки// Клиническая Медицина Казахстана. – 2018. – Т.3. – №49. – С.24-27.
- 21 Goodacre R., Kel D. В. Комментарий к статье " быстрая идентификация видов стрептококков и энтерококков с использованием инфракрасной спектроскопии с диффузным отражением-поглощением Фурье-преобразования и искусственных нейронных сетей.// FEMS Microbiology Letters. – 2017. – Т. 364. – №10. – С. 1-4.
- 22 Флуер Ф.С., Логинова О.Г., Панова Я.А. Частота встречаемости энтеротоксигенных штаммов *Staphylococcus aureus*, продуцирующих энтеротоксины типов SEC и SEI, выделенных при нарушении кишечной микрофлоры у детей// Педиатрия. – 2019. – Т.98. – №6. – С.60-64.
- 23 Ли В., Демичук Л. Механизмы повреждения клеток крови и почек при экзогенных токсических нефропатиях// Клиническая Медицина Казахстана. – 2019. – Т.51. – №1. – С. 21-26.
- 24 Сизонов В.В., Дубров В.И., Акрамов Н.Р. и др.
- 25 Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В. и др. СоРезультаты лечения новорожденных с постренальной анурией, обусловленной обструкцией грибковыми безоарами верхних мочевыводящих путей//Педриатрия и урология. – 2020. – №1. – С.81-85стояние антибиотикорезистентности возбудителей внебольничных инфекций мочевыводящих путей в России, Беларуси и Казахстане: результаты многоцентрового международного исследования «Дармис-2018»//Урология. – 2020. – №1. – С.19-31.
- 26 Eveillard M., Pouliquen H., Ruvoen N., Magras C., Lepelletier D. Воздействие антибиотиков и бактериальная резистентность в медицине человека и ветеринарии: проблемная учебная тема для магистрантов.// FEMS Microbiology Letters. – 2017. – Т. 1. – №6. – С. 361-364.
- 27 Jeukens J., Kukavica-Ibrulj I., Emond-Rheault J.G., Freschi L., Levesque R.C. Сравнительная геномика лекарственно-резистентной панели *pseudomonas aeruginosa* и проблемы прогнозирования устойчивости к противомикробным препаратам по геномам.// Biochemistry, genetics and molecular biology: genetics. – 2016. – Т. 364. – С. 18-21.

References

- 1 Borisova T.P., Bagdasarova I.V. (2014). Infektsiia mochevoi sistemy u detei. Chast1. [Urinary tract infection in children. Part 1]. *Klinicheskaiia meditsina - Clinical medicine*, vol. 3, no1, pp. 20-24
- 2 Zakharva I.N. (2015) Infektsiia mochevoi sistemy u detei i sovremennye predstavleniia ob etiologii. [Infection of the urinary system in children and modern ideas about the etiology]. *Nefrologiia i dializ - Nephrology and dialysis*, Vol.1, pp. 48-54
- 3 Eshimova S., Tulegenova Zh., Kenzhebaeva N., Dinnukhamedova A. (2015). Antibiotikochuvstvitelnost shtammov enterococcus faecalis, vydelennykh ot bolnykh s infektsiiami mochevyvodiashechi sistemy [Antibiotic sensitivity of strains enterococcus faecalis, isolated from patients with urinary tract infections]. *Klinicheskaiia meditsina Kazakhstana - Clinical Medicine of Kazakhstan*, vol. 4, no38, pp.46-49
- 4 Zhu X.f. Zhang Q.W., Yang S., Zhang D.P. (2017). *Candida xinjiangensis* sp. nov., a new anamorphic yeast species isolated from *Scolytus scheryrewi* Semenov in China. *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 199(2), pp.377-383
- 5 Yang S.C., Fang J.Y., Lin C.H., Aljuffali I.A. (2017). Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. *Archives of Microbiology*, vol.199(6), pp.811-825
- 6 Kielak A.M., Cipriano M.A.P., Kuramae E.E. (2016). Acidobacteria strains from subdivision 1 act as plant growth-promoting bacteria. *Immunology and Microbiology: Microbiology*, vol.198(10), pp.987-993
- 7 Barabash A.L., Bulgakov N.G. (2015). Vliianie khimiko-mikrobiologicheskogo sostava podzemnykh pitevykh vod na zdorove cheloveka [The influence of the chemical-microbiological composition of underground drinking water on human health]. *Uspekhi sovremennoi biologii - Advances in modern biology*, vol. 2, pp. 480-495
- 8 Kuznetsova A.A., Revnova M.O., Natochin Yu.V.(2015). Vodno-solevoy obmen i funktsii pochek u detei pri tseliakii i khronicheskom hastroduodenite [Water-salt metabolism and renal function in children with coeliac disease and chronic gastroduodenitis]. *Pediatryia – Pediatrics*, vol.2, no5, pp. 27-31.
- 9 Joseph A.M., Sonowal R., Mahadevan, S. (2017) A comparative study of the evolution of cellobiose utilization in *Escherichia coli* and *Shigella sonnei*. *Archives of Microbiology*, vol. 2, pp. 247-257
- 10 Yuan Q.B., Huang Y.M., Shen Y., Hu N.(2018) A comparative study of aeration, biostimulation and bioaugmentation in contaminated urban river purification. *Environmental Technology and Innovation*, vol. 11, pp. 276-285
- 11 Klein S.V., Iekoshinina S.A., Sboev A.S. (2016). Prioritetnye faktory riska pitevoi vody i svyazannykh s etim ekonomicheskii ushcherb. [Priority risk factors for drinking water and associated economic damage]. *Gigiena i sanitariia - Hygiene and sanitation*, vol.1, pp. 10-14
- 12 Bissenova N., Ergalieva A., Makhambetov K., Talgatbekova N. (2016). Mikrobiologicheskoe obosnovanie effektivnosti probiotika v korrektsii disbakterioza kishechnika [Microbiologic evaluation of efficacy of probiotic for correction intestinal dysbiosis]. *Klinicheskaiia meditsina Kazakhstana- Clinical Medicine of Kazakhstan*, vol. 40, no 2, pp. 36-42
- 13 Pisklavov A.V., Shevliakov A.S. (2016). Pokazateli profilometrii ureterovezikalnogo soustia pri puzyrno-mochetochnikovym reflukse u detei s neirogennoi disfunktsiei mochevogo puzyria [Profilometry of ureterovesical anastomosis in case of vesicoureteral reflux in children with neurogenic bladder dysfunction]. *Pediatryia - Pediatrics*, vol. 95,no 5, pp. 132-135.
- 14 Korsunskii A.A., Guseva N.B., Gatkin E.Ia.,Korsunskii I.A. (2017). Kompleksnye lechenie retsdiviruiushchego tsistita pri neirogennoi disfunktsii mochevogo puzyria u devochek [Complex treatment of recurrent cystitis with neurogenic bladder dysfunction in girls]. *Pediatryia – Pediatrics*, vol. 96,no1, pp. 209-211
- 15 Ilyin F.E., Darinsky Yu.A. (2017) Ekologicheskii monitorinh pitevoi i poverkhnostnykh vod Irtysha i Tobola [Environmental monitoring of drinking and surface waters of the Irtysh and Tobol]. *Ekologia cheloveka - Human Ecology*, vol. 1,no 1,pp.281-290
- 16 Tuğcu M., Ruhi C., Gokce A.M., Kara M., Aksaray S. (2017). A case of urinary tract infection caused by *Raoultella planticola* after a urodynamic study Brazilian. *Journal of Infectious Diseases*, vol. 21(2), pp.196-198
- 17 Strydom L., Jewell J., Meier M.A., Pfister B., Zeeman S. (2017). Analysis of genes involved in glycogen degradation in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 3, pp.364-368
- 18 Vasilev A.O., Govorov A.V., Shiriaev A.A. (2018). Izmenenie mikroflory mochi u patsientov s mochemakemnoi bolezniu [Changes in the urinary microflora in patients with urolithiasis]. *Urologiia – Urology*, vol. 6, pp. 26-31.
- 19 Dutov V.V, Buimistr S.Iu., Rusanova E.V. (2018). Otsenka bakteriologicheskogo analiza mochi u patsientov s dlitelnyim drenirovaniem mochevogo puzyria [Evaluation of bacteriological analysis of urine in patients with prolonged bladder drainage]. *Urologiia – Urology*, vol. 6, pp. 32-36.
- 20 Akbar M. (2018). Urologicheskie oslozhneniia posle transplantatsii pochki [Approach to urological complications early post renal transplant]. *Klinicheskaiia meditsina Kazakhstana - Clinical Medicine of Kazakhstan*, vol. 3,no 49, pp. 24-27
- 21 Goodacre R., Kel D.B. (2017). Commentary on "rapid identification of streptococcus and enterococcus species using diffuse reflectance-absorbance fourier transform infrared spectroscopy and artificial neural networks." *FEMS Microbiology Letters*, vol. 364(10), pp.1-4
- 22 Fluer F.S., Loginova O.G., Panova Ia.A.(2019). Chastota vstrechaemosti enterotoksigennykh shtammov *Staphylococcus aureus*, produtsiruiushchikh enterotoksiny tipov SEC i SEI, vydelennykh pri narushenii kishechnoi mikroflory u detei [The frequency of occurrence of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* producing enterotoxins of types SEC and SEI isolated in children with intestinal microflora]. *Pediatryia - Pediatrics*, vol. 98, no 6, pp. 60-64.
- 23 Li. V., Demichuk L. (2019). Mekhanizmy povrezhdeniia kletok krovi i pochek pri ekzogennykh toksicheskikh nefropatiiakh [Mechanisms of blood cells and kidney lesion in exogenous toxic nephropathies]. *Klinicheskaiia Meditsina Kazakhstana - Clinical Medicine of Kazakhstan*, vol. 51,no1, pp. 60-64.

24 Sizonov V.V., Dubrov V.I., Akramov N.R., Markov N.V, Kagantsov I.M., Shidaev A.Kh-A. (2020). Rezultaty lecheniia novorozhdennykh s postrenalnoi anuriei, obuslovennoi obstruktsiei bezoarami verkhnikh mochevyvodiashchikh putei [The results of treatment of newborns with postrenal anuria due to obstruction of the upper urinary tract with fungal bezoars]. *Pediatrica i urologiia - Pediatrics and urology*, Vol. 1, pp.81-85

25 Palagin I.S., Sukhorukova M.V., Dekhnich A.V., Eidelstein M.V. (2020). Sostoianie antibiotikorezistentnosti vzbuditelei vnebolnichnykh infektsii mochevyvodiashchikh putei v Rossii, Belorusi i Kazakhstane: rezultaty mnogotsentrovogo mezhdunarodnogo issledovaniia "Darmis-2018"[The status of antibiotic resistance of community-acquired urinary tract infections in Russia, Belarus and Kazakhstan: results of the multicenter international study "Darmis-2018"]. *Urologiia – Urology*, Vol. 1, pp. 19-31

26 Eveillard M., Pouliquen H., Ruvoen N., Magras C., Lepelletier D. (2017). Antibiotic exposure and bacterial resistance in human and veterinary medicine: A problem-based learning topic for Master's students. *FEMS Microbiology Letters*, vol.(6), pp. 361-364

27 Jeukens J., Kukavica-Ibrulj I., Emond-Rheault J.G., Freschi L., Levesque R.C. (2016). Comparative genomics of a drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* panel and the challenges of antimicrobial resistance prediction from genomes. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology: Genetics*, vol. 364, pp. 18-21

МАЗМҰНЫ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

1-бөлім Ботаника	Section 1 Botany	Раздел 1 Ботаника
<i>Котухов Ю.А., Данилова А.Н., Ануфриева О.А.</i> Конспект видов рода <i>Betula</i> L. (сем. Betulaceae S. F. Gray) Казахстанского Алтая, Сауро-Манрака и Зайсанской впадины		4
<i>Mirzaliyeva D., Sultanova B., Aksoy A.</i> Biochemical and anatomical research of Kazakhstan <i>Seriphidium heptapotamicum</i> (Asteraceae)		17
<i>Чилдибаева А.Ж., Аметов А.А.</i> Опыты интродукции редкого, находящегося под угрозой исчезновения, узкоэндемичного растения <i>Rosa iliensis</i> Chrshan. в условиях степного пояса Заилийского Алатау		26
2-бөлім Биотехнология	Section 2 Biotechnology	Раздел 2 Биотехнология
<i>Исаева А.У., Панкиевич Р., Отарбекова А.А.</i> Оңтүстік өңіріндегі құрамында фосфоры бар қалдықтарының микробиологиялық анализі		38
<i>Кухар Е.В., Киян В.С., Смагулова А.М.</i> Характеристика редкого возбудителя ониомикоза <i>Phoma macrostoma</i> (син. <i>Didymella macrostoma</i>)		52
<i>Рыскалиева А., Крупова З., Хенри С., Файе Б., Конуспаева Г.С., Мартан П.</i> Фундаментальные исследования экзосом молока <i>Camelus dromedarius</i> , <i>Camelus bactrianus</i> и гибридов Казахстана		62
3-бөлім Молекулалық биология және генетика	Section 3 Molecular biology and genetics	Раздел 3 Молекулярная биология и генетика
<i>Biyasheva Z.M., Tleubergenova M.Zh., Zaripova Y.A., Nurhan, D.Zh., Shaizadinova A.M.</i> Induction of reporter genes expression by ionizing radiation and toxins influence on the <i>Drosophila melanogaster</i> genome.....		76
<i>Тайпакова С.М., Қуанбай А.К., Манапқызы Д., Сметенов И.Т., Алыбаев С.Д., Бисенбаев А.К.</i> Клонирование кДНК гена Поли(АДФ-рибоза) полимеразы 2 <i>Arabidopsis thaliana</i> в <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		86
<i>Молдажанова Р.А., Мауленбай А.Д., Рсалиев А.С.</i> Расовый состав возбудителя <i>Rugenophora tritici-repentis</i> в южных регионах Казахстана в 2018 г.		98
4-бөлім Зоология	Section 4 Zoology	Раздел 4 Зоология
<i>Аубакирова М.О., Крупа Е.Г., Минат А., Абилов Б.И.</i> Видовое богатство зоопланктона малых озёр Алматинской области		108
<i>Сиханова Н.С.</i> Белохвостая пигалица (<i>Vanellochettusia leucura</i>) в озере Картма (система озер дельты реки Сырдарья, Кызылординская область, Казахстан)		119
5-бөлім Адам және жануарлар физиологиясы	Section 5 Human and animal physiology	Раздел 5 Физиология человека и животных
<i>Динмухамедова А.С., Елеупаева Ш.К.</i> Балалардың жас ерекшелігі мен жынысына байланысты ренальді инфекция қоздырғыштары түрлерінің жыл мезгілдік таралу көрсеткіштері		130