

ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТИ

# ХАБАРШЫ

Биология сериясы

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

# ВЕСТНИК

Серия биологическая

AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

# EXPERIMENTAL BIOLOGY

№4 (85)

Алматы  
«Қазақ университеті»  
2020



KazNU Science • КазҰУ Фылымы • Наука КазНУ

# ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ №4 (85) желтоқсан



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

## Күәлік № 16494-Ж

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

### ЖАУАПТЫ ХАТИШЫ

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 ҮФА академигі (ғылыми редактор) (Қазақстан)  
Бекманов Б.О., б.ғ.к., доцент (ғылыми редактордың орынбасары) (Қазақстан)  
Толеуханов 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)  
Нұртазин С.Т., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)  
Тұруспеков Е.К., б.ғ.к., қауымдастырылған профессор (Қазақстан)

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

### ТЕХНИКАЛЫҚ ХАТИШЫ

Смекенов Изат, PhD (Қазақстан)

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

Макалалар биологияның келесі болімдері бойынша жарияланады: ботаника, биотехнология, биохимия, есімдіктер 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**



### Жоба менеджері

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

Редакторлары:  
Гульмира Бекбердиева  
Азила Хасанқызы

Компьютерде беттеген  
Айгүл Алдашева

### ИБ № 14101

Пішімі 60x84 1/8, Қолемі 10,6 б.т. Тапсырыс № 15945.  
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**

**М.Ж. Жумагул<sup>1\*</sup> , А.А. Курмантаева<sup>2</sup>, Мария Хен<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>Қазақстан Республикасы Экология, геология және табиғи ресурстар министрлігі

Орман шаруашылығы және жануарлар дүниесі комитетінің «Ботаника және фитоинтродукция институты» РМК, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>Сент-Иштван университеті, Венгрия, Будапешт қ.

\*e-mail: moldirzhumagul@gmail.com

## **ШЫҒЫС ҚАЗАҚСТАНДА КЕЗДЕСЕТИН *RHODIOLA ROSEA L.* ДӘРІЛІК ӨСІМДІГІНІҢ АНАТОМИЯЛЫҚ ҚҰРЫЛЫМЫ ЕРЕКШЕЛІКТЕРИ**

Бұл мақалада жасаңшөптер тұқымдасы Crassulaceae DC. семізот туысына *Rhodiola L.* жататын көп жылдық, екі үйлі, өте бағалы дәрілік қызығылт семізот *R.rosea L.* өсімдігінің анатомиялық құрылымын зерттеу барысында алынған диагностикалық белгілері берілген. Болашақта флора әлемінің жекелеген түрлерінің генетикалық қорын жойылуудан сақтап қалу үшін құнды дәрілік өсімдіктердің бірі – *Rhodiola rosea L.*-ні қорғау және ұтымды пайдалану мәселелері өзекті. Қызығылт семізот өсімдігі алтын тамыр атымен көнінен тараған, жылтыр сары алтын түстес тамыры халық медицинасында ертеден маңызды. Ерекше химиялық құрамына қарамастан, Қазақстан Республикасының мемлекеттік фармакопеясында ресми мақала тіркелмегендіктен, ең алдымен елімізде өсетін *R. rosea L.* өсімдігінің анатомиялық ерекшелігін зерттеу өзекті мәселе болып табылады. Зерттеу негізінде қызығылт семізоты өсімдігінің жапырағы, сабағы және тамырсағағының көлденең кесіндесінен анатомиялық құрылымы анықталды, жапырақ эпидермисінде моторлы клеткалар, сабақта танниндердің тарағын, шоғырлануы, тамырсағағында ритидом кездесті, өзек паренхимасында көп мөлшерде крахмалдық кристаллдардың орналасу орны белгіленді. *Rhodiola rosea L.* өсімдігінде жинақтаған биологиялық белсенді заттардың орналасуын анықтау барысында, алғаш рет идиобластарда илік заттар орналасқан орны айқындалды.

**Түйін сөздер:** *Rhodiola rosea L.*, морфология, тамыр, анатомия, ксилема, флоэма.

M.Zh. Zhumagul<sup>1\*</sup>, A.A. Kurmantayeva<sup>2</sup>, Maria Hohn<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>RSE at the PHV "Institute of Botany and Phytointroduction" of the Committee for Forestry and Wildlife of the Ministry of Ecology, Geology and Natural Resources of the Republic of Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>Szent István University, Hungary, Budapest

\*e-mail: moldirzhumagul@gmail.com

### **Features of the anatomic structure of the medicinal plant *Rhodiola rosea L.* in East Kazakhstan**

In this article, in the study of the anatomical structure of the roots, the identification of diagnostic signs is considered – perennial, herbaceous, very valuable medicinal plants *Rhodiola rosea L.*, a species of the genus *Rhodiola*, the Crassulaceae family. In the future, we focus on the conservation and rational use of *Rhodiola rosea L.*, one of the most valuable and rare medicinal plants, for the conservation of certain plant species, and replenishment of the genetic fund of this species. *Rhodiola rosea L.*, popularly called the golden root, since the roots have a yellow golden color and have an ancient meaning in folk medicine. Despite the specific chemical composition, the official article in the State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan is not registered, primarily grows in Kazakhstan. The main objective of the study is to study the anatomical features of plants of *Rhodiola rosea L.*

Based on the study, the anatomical features of the leaves, stems and transverse sections of the roots were identified, motor cells in the epidermis of the leaves, cleavage and concentration of tannins on the stems, the location of starchy crystals in the root rhytidoma, in the nucleus parenchyma were established. When determining the location of biologically active substances in *Rhodiola rosea L.*, tannins were first detected in idioblasts.

**Key words:** *Rhodiola rosea L.*, morphology, root, anatomy, xylem, phloem.

М.Ж. Жумагул<sup>1\*</sup>, А.А. Курмантаева<sup>2</sup>, Мария Хен<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный университет им аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>РГП на ПХВ «Институт ботаники и фитоинтродукции» Комитета лесного хозяйства и животного мира Министерства экологии, геологии и природных ресурсов Республики Казахстан, Казахстан, г. Алматы

<sup>3</sup>Университет имени Сент-Иштван, Венгрия, г. Будапешт

\*e-mail: moldirzhumagul@gmail.com

## Особенности анатомической структуры лекарственного растения *Rhodiola rosea L.* в Восточном Казахстане

В данной статье при изучении анатомического строения корней рассматривается процесс выявления диагностических признаков многолетнего травянистого, очень ценного лекарственного растения Родиолы розовой (*Rhodiola rosea L.*), вид рода – Родиола, семейства Толстянковые (*Crassulaceae*).

Авторы акцентируют внимание на вопросах сохранения и рационального использования *Rhodiola rosea L.*, одного из наиболее ценных и редких лекарственных растений, для сохранения отдельных видов растений, и пополнения генетического фонда этого вида. *Rhodiola rosea L.* в народе называют золотым корнем, так как корни имеют желтый золотистый цвет и имеют древнее значение в народной медицине. Несмотря на специфический химический состав, статья в Государственной Фармакопее Республики Казахстан не зарегистрирована, прежде всего произрастает в Казахстане. На основании исследования были выявлены анатомические особенности листьев, стеблей и поперечных разрезов корней, установлены моторные клетки в эпидермисе листьев, расщепление и концентрация танинов на стебелях, расположение крахмальных кристаллов в корневом ритидоме, в паренхиме ядра. При определении местоскопления биологически активных веществ в *Rhodiola rosea L.* впервые выявлены в идиобластах дубильные вещества.

**Ключевые слова:** *Rhodiola rosea L.*, морфология, корень, анатомия, ксилема, флоэма.

### Kіріспе

Табиғи биоалуантүрлілікті сақтау және табиғи ресурстарды ұтымды пайдалану өте өзекті проблема болып табылады. Қазақстан Республикасы аймагында өсімдіктердің 6 мың түрі кездеседі. Өсімдіктердің 14% эндемиктер болып табылады, олардың ішінде қоپтеген реликті өсімдіктер де кездеседі. Қазақстан Республикасының Қызыл кітабына өсімдіктердің 387 түрі енгізілді, оның ішінде алтын тамыр, яғни қызығылт с., (*R. rosea L.*) өсімдігі де кіреді [1,2].

Қазақстанның шығысында 2000-нан астам түрі бар Таулы Алтайдың табиғи флорасы пайдалы өсімдіктердің әртүрлі топтарын қамтиды, өнірде тұракты әлеуметтік-экономикалық даму проблемасы табиғи ресурстарды ұтымды пайдалану мен қорғаумен тығыз байланысты. Әсіресе, дәрілік өсімдіктер табиғи флораның ерекше назар аударалық бөлімін құрайды. Таулы Алтайдың қатал табиғи-климаттық жағдайларында ортаның қолайсыз өсеріне және биологиялық белсенді заттардың жоғары синтезіне төзімді өсімдіктердің бірегей гендік коры қалыптасады және дәрілік шикізат көзінде ерекше құндылық береді. Адамның антропогендік факторы, мал шаруашылығының, соңғы кезде көз тұнар табигатымен халықтың қызығушылығын арттыруда сондықтан да туризмнің дамуы нәтижесінде, ауа, жер үсті

ортасының ластануынан табиғи ресурстарды қорғауға бақылау әлсіреп, дәрілік өсімдіктердің қоپтеген құнды түрлерінің қорлары айтарлықтай төмендеген, табиғи флораға нақты қауіп туындауда. Қоپтеген реликті өсімдіктер мен эндемиктер, сирек кездесетін және жойылып бара жатқан түрлерінің тіршілікке бейімділігі төмендеді.

*Rhodiola rosea L.* деген қызығушылық ғалымдардың тарарапынан ерекше артуда оның басты себебі, адам денсаулығына аса қажет алтын тамырдың құрамында дубильді заттар, органикалық қышқылдар, кумарин, флавонидтер мен салидрозидтің болуында [3].

Бұғандегі *R.rosea L.* тамырының шикізат реңінде қорының азауы қебінесе оны шектеусіз әрі заңсыз жиналуында болып табылады. Сондықтан да оны арнайы плантациялық жағдайда өсіріп, әсіресе жер асты бөлігіне ерекше мән беріліп, экологиялық-биологиялық табиғи жағдайларда өсіру мүмкіндіктері ескерлуі қажет [4,5].

Қызығылт семізоты тамыры жарқыраған алтын түстес, тарамдалған тамырсабақтары тамырларға бұтактанған. Тамырсабағы жуан, етженді, жанарған қосалқы бүйір тамырлары көп тамырсабақ. Тамырсабағы көлемі мен салмағы өсімдіктердің тіршілік ету орнына байланысты қатты өзгереді. Қоңырларының таза салмағы 2,5-3,5 кг жетеді [6]. Қалың тамырсабағының арасында топырактың қарашірігі, тас-құм, басқа өсімдік жапырактары,

тамырлары қоса кездеседі, тамырдың қалың қабығын кескенде ақшыл түсті ішкі бөлігі кебе келе қызылт түске айналады. Химиялық құрамының ерекше орайласып келуінен, оттегімен байланысқа түскенде тотыгуынан түсінің өзгеруі айқындалады.

*Rhodiola rosea* L. тамырдың беті тегіс, жылтыр түсі алтын түстес, бұл тек алтын тамырға ғана тән қасиет. Иісі өткір, жағымды, қышқыл, ал тамырдың дәмі аңы-тұтқыр. *Rhodiola rosea* L. өсімдігінің дәрілік шикізаты тамыры мен тамырсабағы болып табылады, өсімдіктің гүлдеу кезеңінен бастап вегетациялық кезеңінің соңына дейін жинауга болады [7,8]. Алтын тамырда илеу заттары (20% дейін), антрагликозидтер, эфир майы, органикалық және фенол қышқылдары, қанттардың айтарлықтай мөлшері, акуыздар, майлар, балауыздар, стериндер, гликозидтер, флавоноидтар және марганецтің көп мөлшері бар. Өсімдік тамырларының негізгі әсер ететін заттары – тирозол фенолоспирт және гликозид, салидрозид – адам эритроциттерінің тотығу стрессінен қорғайды, организмнің күйзеліске және шаршауга төзімділігін арттыратын адаптоген, адамның лимфосаркома жасушаларының ісік метастазаларын басуға қабілетті, вируска қарсы әсері бар, орталық жүйке жүйесін ынталандырады [7,8]. Қызылт семізоты өсімдік бағалы дәрілік өсімдік, бұл өсімдікten жасалған алтын тамыр препараты адамның ақыл-ой, жұмыс қабілеттілігін ынталандыруға әсер етеді, көңіл-күйді жақсартады, қысымды қүштейтеді [9,10].

*R.rosea* L. өсімдігінің ынталандыруши әрекеті бойынша лимон, марал тамыры өсімдіктерінен асып түседі. Соңғы жылдардың зерттеу нәтижелері бойынша ісікке қарсы белсенделікті, тамырдың антиоксиданттық әсерін көрсетті. *Rhodiola rosea* L. емдік қасиеттері Америкада, Қытай, Монголия, сондай-ақ Тибетте және Жапония елдерінде, Шығыс медицинасында жоғары бағаланады [10].

*R. rosea* L. өсімдігі ағзаның спецификалық резистенттілігін арттыруға және эмоционалдық, психикалық және физикалық әртүрлі стрессорларға жауап ретінде оның функцияларын қалпына келтіруге қабілетті бейімделгіш қасиеттері жақсы дамыған әмбебап дәрілік өсімдігі ретінде белгілі [11].

Ғалымдардың зерттеу нәтижесі бойынша, *R.rosea* L. экстракт құрамында тирозол және розавиндер сияқты оның бағалы фармакологиялық белсендей заттары нейропротекторлар [12], гепатопротекторлы [13], антиоксидант [14], вируска

қарсы [15], ісікке қарсы [16] және қабынуға қарсы белсенделілігі [17] анықталған.

Халық медицинасында тамырынан жасалған дәрілерді адамның еңбек ету қабілетін күштейтетін, шаршағандықты басатын дәрі ретінде, ақсазан мен жүйке ауруларын емдеуге, жатырдан кеткен қанды тоқтату үшін де кеңінен қолданады. Фармакологиялық зерттеулер бұл өсімдік тамырының денеге қуат беретін қасиетін толық анықтаған. Ғылыми зерттеулер мен клиникалық зерттеулер қызылт семізоты өсімдігінен психостимулятор, жалпы адам ағзасын нығайтушы және күйзеліске қарсы дәрілік құрамын анықтаған [18]. *Rhodiola rosea* L. айқын физиологиялық және фармакологиялық белсенделілігі оның табиғи оның ортасымен байланысты [19]. Әлемнің көптеген елдерінде [20] бағалы өсімдік болғандықтан, шикізат ретінде жинауга қатаң тыым салынған [21-22].

Қазақстан аумагынан жиналған *R.rosea* L. өсімдігінің фитохимиялық құрылымын зерттеу барысында, көптеген аталған элементтерден басқа сквален элементінің де бар екендігі айқындалды [23]. Сквален – бұл бірегей фармакологиялық белсенделілігі бар табиғи биологиялық белсенде қосылыс. Бұл метаболизмге, ең алдымен стероидті биосинтездің алғышарты ретінде белсенде қатысады, эпидермистің липидті қабатының негізгі құрылымдық фрагменті. Сквален пролиферация процесін арттырады, сәйкесінше регенерацияның жылдамдығын арттырады, иммунокоррекциялық және антиоксидантты белсенделілікке ие. Қазіргі уақытта сквален онкологияда перспективті молекула ретінде қарастырылады. Скваленнің ең көп мөлшері амарант және асқабақ майларында болатындығы анықталды [24].

Осылайша, фармацевтикалық препараттардың биотехнологиялық өндірісі үшін тұрақты платформа ретінде *in vitro* өсімдік жүйелерін қолдану перспективалы болып табылады. *In vitro* жүйелері көптеген артықшылықтарға ие, соның ішінде ең үздік өндірістік практикаларға (GMP) сәйкес биоқауіпсіз метаболиттердің биосинтезі және қоршаған орта факторларына тәуелсіздік тудырады [22].

Алтын тамырдың анатомиялық құрылымы екінші типті құрылымға ие және сыртқы бөлігінде күрделі 10-14 қабықтан тұратын қорғаныш қабығы анықталған. Жас тамырлардың ортасындағы паренхима борпылдақ күйде және үзілмелі болып келеді. Тамырсабағында бүршіктерінен қалың қабыршақ тәрізді жапырақтары пайда болады. Тамырдың көлденең кесіндісінде

қыртысты қабықтан соң перидерма қабаты орналасқан [25]. Көлденең кесіндісінен, ризомаларының дөңгелек және біркелкі пішінге ие болмайтыны анықталды. Тамырдың бүйірінен пайда болған меристема, камбий және феллоген тамыр жүйесінің екінші типті соңғы құрылымға ие екендігін көрсетеді [26, 27, 28].

Тамырдың алғашқы қабығы паренхималары арасы нәзік аяу өткізгіш кеңістікке ие. Осы жерде қатты әргастикалық заттардың барын байқауға болады. Зерттелген өсімдік үлгілерінің жер асты мүшесі белгінде крахмал дәндерінің қалдықтары байқалған. Алтын тамырдың тамыр жүйесінен анықталған крахмалды дәндер әллипс тәрізді пішінге ие болып келеді [27].

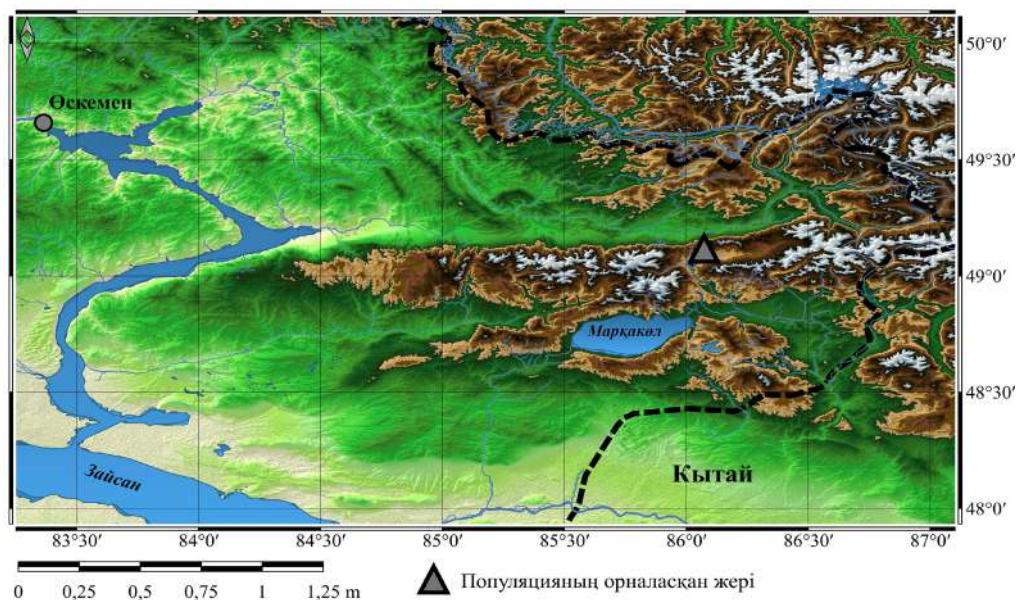
Тамырдың сыртқы қабығы 6-9 қабаттан тұрады, бұл өз кезегінде тамырдың қалың қабатының қатпарлануына әкеледі. Алғашқы қабық 6-7 қабаттан тұратын сопақтау және созынқы паренхималардан құралады. Орталық цилиндр екінші реттегі құрылымға ие, одан өтетін тамырлар радиальды жолақшалар түзейді [28].

Ресей Федерациясының Красноярск және Алтай аймақтары Магадан облысы мен Тыва Республикасының қоспағанда Қызыл кітабына енгізілген, 3-ші санатта. Бұл өсімдік Қазақстанның Қызыл кітабына да енгізілген 3-санатта, саны жылдан жылға қысқаруда. Құнды дәрілік өсімдіктің жойылып кетуден және генофондты сақтау үшін жалпы қасиеттерін, ішкі құрылышын зерттеу аса маңызды.

**Осыған орай, жұмыстың мақсаты:** *Crassulaceae* тұқымдастына жататын қызғылт семізоты (*R.rosea* L.) өсімдігінің анатомиялық құрылымын зерттеу арқылы диагностикалық белгілерін және жасушалардағы биологиялық белсенді заттардың орнын анықтау.

### Материалдар мен әдістемелер

**Зерттеу нысаны:** Қызғылт семізоты *Rhodiola rosea* L. өсімдігінің биіктігі 20-40 см көпжылдық, екі үйлі өсімдік. Тамырсағынан қалың қабыршақ тәрізді жапырақтары дамиды. Сабагы тік, жуандай, жіңішке жолақтары болады. Жапырағы кезектесіп орналасады, қондырмалы, таспалы жүйкелі, әллипс пішінді. Ұшы сүйір, шеті тісті, кейде бүтін жиекті. Қазакстанда Алтай, Катон-Карағайдың белдеулерінде тасты жерлерде кездеседі. Алтын тамырды шамадан тыс мөлшерде жинағандықтан ареалы азаюда. Популяциялары қысқарып, жойылып кету қаупі төнуде. *R. rosea* L. өсімдігінің популяциясы жиналған жердің GPS навигатор бойынша координаттары, ені: 49.039872, ұзындығы: 86.029510: Шығыс Қазақстан облысы, Катон-Карағай ауданы, теңіз деңгейінен биіктігі: 1870 м<sup>2</sup>, көлбеулігі 40-55%. Экспозициясы: ашық, онтүстік-батыс баурайы, далалы аймақ, өсімдік жамылғысы 1-ярус әртүрлі шөптесін өсімдіктерден құралған, 2-ярус бұталар, 1-сурет.



1-сурет – *Rhodiola rosea* L. Қазақстанда таралуы,  
Шығыс Қазақстан облысы, Катон Қарағай ауданы

**Зерттеу әдістері:** Зерттеу барысында өсімдіктердің диагностикалық белгілерін анықтау үшін *R.rosea* L. өсімдігінің тамыры зерттелді. Алтын тамырдың анатомиялық құрылышына зерттеу жүргізу үшін табиги жағдайда өскен өсімдіктер генеративті фазада жиналып алынды. Жинал алынған материалдар Старсбургер-Флемминг әдісі бойынша (спирт, глицерин, су, 1:1:1 қатынасында) фиксацияланды [29]. Анатомиялық препараттар ТОС – 2 қондырысымен тоңазытқыш микротомда даярланды. Анатомиялық кесіндінің қалындығы 10-15 мкм құрады. Микро суреттер және морфометриялық көрсеткіштерін анықтау үшін 100-ден аса уақытша препараттар даярланды. Сандық нәтижелерін анықтау мақсатында морфометриялық көрсеткіштері МС-300 маркілі микроскопында препараттардан өлшеніп, есептелді, арнағы фотоқондырығысы орнатылған САМ V400/1/3м видеокамерасы қөмегімен микро фотосуреттер түсірілді [30,31,32,33].

### Нәтижелер мен талқылаулар

Шығыс Қазақстан облысына қарасты Катон-Карағай өнірінде осетін алтын тамыр *Rhodiola rosea* L. өсімдігі табиги жағдайда жиналып алынды. Алтын тамыр (*R. rosea* L.) сабактары бірнеше данага дейін өседі, өте сирек жағдайда жалғыз сабактан дамиды. Сабактары тік бағыттала өсіп, бұтақтанбайды, биіктігі 20-60 см дейін жетеді. Тамырсабагында бүршіктерден қалың қабыршақты жапырақтары шығады. Жапырағы кезектесіп жиі орналасады, қондырмалы, таспалы жүйкелі, эллипс пішінді. Жапырағының ұшы сүйірленіп келеді, шеті әлсіз тісті, бүтін жиекті жапырақ та кездесті. Тамыры жылтыр, алтын түсті. Тамырының салмағы 900 граммнан – 3,5 кг-ға дейін жетті. Тамырының сыртқы қабаты жалтырағын ақшыл сары түсті болса, ішкі жағы ақ түсті, кепкен кезде тамырының сынған жері қызылт түсті болып кетеді. Тамырының сыртқы қабығын пышақпен кессе, аңқыған хош иіс шығады, ал сыртқы қабықтан кейінгі қабығы сарғыш түске ие. Гүл шоғыры қалқан тәрізді, гүлдері шоғырлаған сары түсті. Жемістері өте ұсақ, 2-сурет.

Жапырағының анатомиялық құрылышын зерттеу барысында, жапырақтың екі жағында

жоғарғы және төменгі эпидермис клеткаларынан тұрады, клеткалары түссіз, эпидермистің сыртқы қабырғасы stomatalардан тұрады. Эпидермис клеткалары арасынан моторлы клеткалар айқын байқалады. Моторлы клеткалар көлемі жағынан ірі. Моторлы клеткалар көбіненсе дара жарнақты өсімдіктерге тән, кос жарнақты өсімдіктерде алғаш рет бақылануда. Трихомалар анықталмады. Мезофилл тек борпылдақ болып келген. Мезофилл ерекшеліктері бағаналы мезофилл клеткалары да әртүрлі дәңгелек пішінді, көпқырлы болып та келген, хлорофилл дәндерінің көп мөлшері бағаналы мезофиллді борпылдақ мезофиллден ажыратады. Себебі, борпылдақ мезофиллде ауалық күстың көп мөлшерде кездесуіне орай, хлорофилл дәндерінің өте аз екендігін көрсетеді. Ортаңғы жүйкеде негізгі өткізгіш шоқ орналасқан. Өткізгіш шоқтар бірқатарда орналасуы жапырақ таспалы жүйкелі болып келгенін дәлелдейді. Орталық жүйкеде орналасқан негізгі өткізгіш шоқ басқа өткізгіш шоқтардан төмен деңгейде орналасқанымен, көлемі жағынан ең ірі болып келген. Ксилема тұтіктері жоғары эпидермиске бағытталған, флоэма төменгі эпидермиске қарай бағытталған. флоэманың астыңғы жағында илік заттар, таниндердің шоғырланып келуі алғаш рет айқындалды, әдебиеттерде бұрын көлтірілмеген. Яғни, өсімдіктерде көп кездесетін илік заттар немесе таниндер өсімдік тектес фенолдық қосылыстар тобы, құрамында негіздер тобы көп болады. Таниндер немесе таниндер тотығу қасиеттеріне және тұтқыр дәмге ие. Таниндердің тотығу әсері олардың ақуыздармен, полисахаридтермен және басқа биополимерлермен күшті байланыс құра алу қабілетіне негізделген. Сонымен қатар, мезофилл клеткаларында крахмал және басқа да белсенді заттар өте көп мөлшерде кездесетіні бақыланды, 3-сурет. Ал, сандық мәліметтер, 1-кестеде көлтірілген.

Жапырақтың анатомиялық құрылышының морфометриялық көрсеткіштерін зерттеу барысында, жоғарғы эпидермис клеткалары  $24,7 \pm 0,19$  мкм төменгі эпидермис клеткаларынан үлкен  $20,8 \pm 0,31$  мкм және бағаналы мезофилл көлемі борпылдақ мезофиллден екі есе қалың екені байқалды. Сондай, ақ ксилеманың флоэмага қатынасы 2-еседен артық.



**2-сурет – *Rhodiola rosea* L. өсімдігінің жалпы көрінісі**



**3-сурет – *Rhodiola rosea* L. өсімдігінің жапырағының анатомиялық құрылышы**

Ескерту: ж.э.– жоғарғы эпидермис, т.э.- төменгі эпидермис, т. – таниндер, фл.-флоэма, бор.mez. – борпылдақ мезодерма, кс. – ксилема, баг.mez.– бағаналы мезодерма

*I-кесте – R. rosea* L. жапырағының анатомиялық көрсеткіштері

Эпидермис қалындығы, мкм		Жапырак қалындығы, мкм	Мезофилл қалындығы, мкм		Ксилема, мкм	Флоэма, мкм
жоғарғы	төменгі		бағаналы	борпылдақ		
24,7±0,19	20,8±0,31	263,14±5,75	139,04±1,98	78,6±1,04	54,6±2,12	21,5±0,93

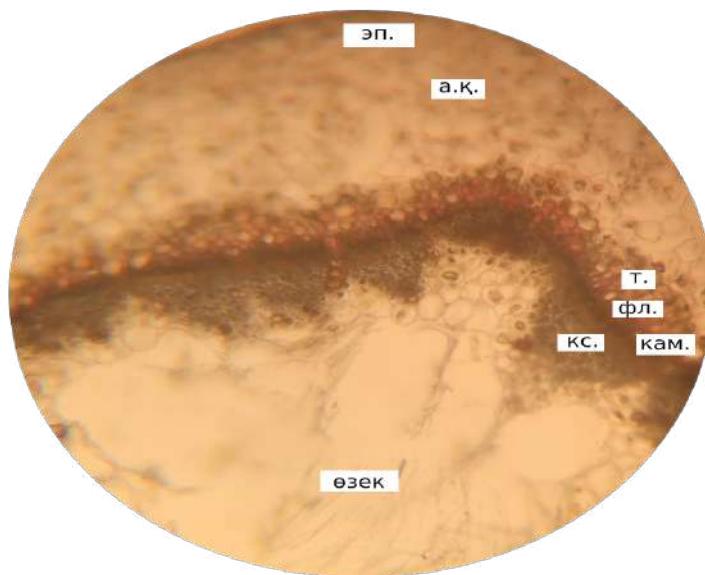
Ескерту: Үлгайтылуы 100 есе

Алтын тамыр сабағының анатомиялық құрылышында сыртын эпидермис клеткалары қоршаған, эпидермис астында алғашқы қабық паренхималары бірнеше қатарды алғып жа-

тыр. Алғашқы қабық түссіз паренхимасында биологиялық белсенді заттардың шоғырланганы байқалады. Орталық шеңберде біртұтас камбий анық көрінеді, шоқты құрылыштың шоқсыз

құрылышқа айналуы байқалды. Камбийден жоғары қарай бағытталған флоэма орналасса, флоэмандың үстіндегі жағында өте көп мөлшерде біркелкі болып илік заттар, танниндердің шоғырланып таралуы бірінші рет байқалды. Илік заттар идиобластарда шоғырланған, идиобластар

ірі, сарғыш, мөлдір, мөлшері әртүрлі дәңгелек пішінде біркелкі болып келгендейтін айқындалды. Камбийден өзекке қарай ксилема дамыған. Өзек паренхимасы ортасында ыдыраған. Өзек паренхимасында да биологиялық белсенеді заттар шашыранқы кездесетіндегі айқындалды, 4-сурет.



**4-сурет – *Rhodiola rosea* L. өсімдігінің сабагының анатомиялық құрылышы**

Ескерту: эп.-эпидермис, а.к.-алғашқы қабық, т.-танниндер, фл.-флоэма, кам.-камбий, кс.-ксилема

Сабақтың анатомиялық құрылышының сандық мәліметтері 2-кестеде бейнеленген. Эпидермис қалындығы, 33,84 мкм. Ксилема көлемі айтартылғатай көп мөлшерлі, флоэмага

қатынасы 3 есеге артық. Флоэмандың ұлғаюы сырттан ішке қарай, ксилемандың ұлғаюы іштен сыртқа қарай жүреді, ксилема каллотералды орналасады.

**2-кесте – *Rhodiola rosea* L. сабагы ішкі құрылышының морфометриялық көрсеткіштері**

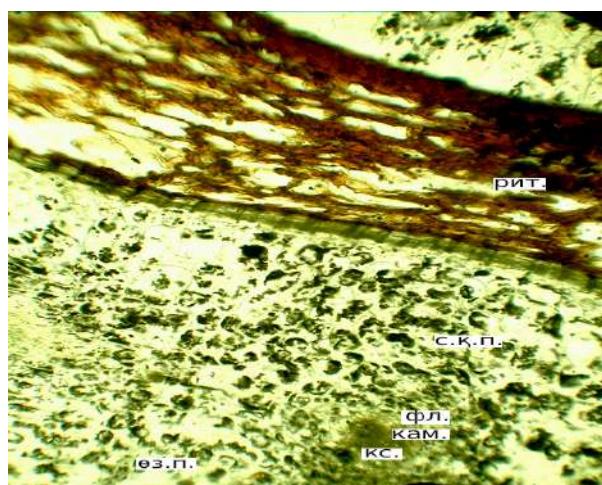
Эпидермис қалындығы, мкм	Алғашқы қабық қалындығы, мкм	Ксилема, мкм	Флоэма, мкм
33,84±0,23	562,94±1,38	200,3±20,66	68,7±4,03

Ескерту: Ұлғайтылуы 100 ессе

*R.rosea* L. тамырсабағының анатомиялық құрылымын зерттеу барысында, қабық немесе ритидом айқындалды, ал ритидом – көпжылдық тамырлардың және тамырсабақтың қабығының сыртқы бөлігі, алғашқы қабықтың және екінші реттік флоэмандың өлі бөліктөрінен тұрады. Осы екі ұлпа соңғы түзуші ұлпа феллогеннен түзілген перидермен арқылы бөлінген. Соңғы қабықта

аяуалық құыстар көп мөлшерде байқалды. Склеренхимасы жоқ орталық цилиндр тамырсабаққа тән құрылыш анықталды. Тін немесе соңғы флоэма мен ксилемандың ортасында камбий орналасқан. Камбий соңғы түзуші ұлпа, екінші өткізгіш ұлпа тін мен сүректің пайда болуын және тамырдың жуандап өсуін қамтамасыз етеді. Тамырсабақтың ортанды өткізгіш ұлпа тіндең ортасында орналасады.

сақтайдын өзек паренхимасы алып жатыр. Алтын тамырда, ксилема сәулелері сүректенбеген, шашыранқы орналасқан, арасында борпылдақ қор заты сақталған өзектік паренхиманың басым болуы нәтижесінде, тамырсабақ жұмсақтығын сақтап қалған (5-сурет).



5-сурет – *Rhodiola rosea* L. тамырының анатомиялық құрылымы

Ескерту: Рит.-Қыртыс немесе ритидом, С.К.П.- соңғы қабық паренхимасы, фл.-флоэма, кам.-камбий, кс.- ксилема, өз.п.-өзек паренхимасы

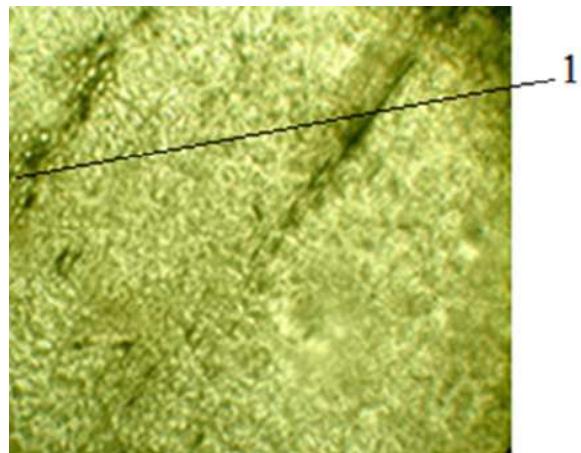
3-кестеде *Rhodiola rosea* L. тамырсабағының көлденең кесіндісінің морфометриялық көрсеткіштері көрсетілген: қабық немесе ритидом қалындығы 162,4 мкм, ал соңғы қабық қалындығы 459,01 мкм, 3 есеге артық. Ксилема бірі-біріне жақын орналасқандықтан оның мөлшері 147,70 мкм. Тамыр қабатындағы клеткалар жаңаған сайын ескі клеткалар сыртқы қабатты түзіп перидерма клеткалары арқылы ығыстырылып отырады.

3-кесте – *Rhodiola rosea* L. тамырының морфометриялық мәліметі

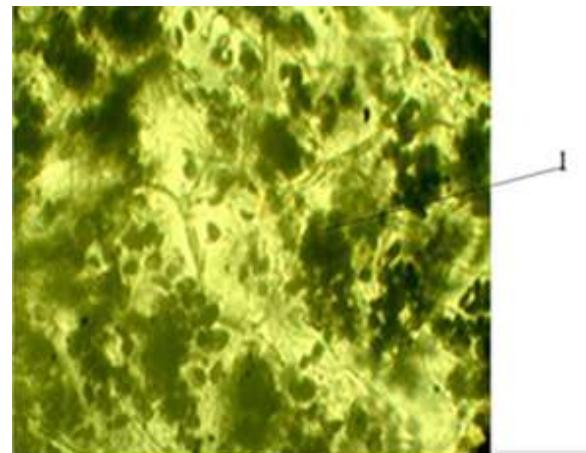
Қабық не- месе ритидом қалындығы, мкм	Соңғы қабық қалындығы, мкм	Ксилема, мкм
162,4±4,2	459,01±54,51	147,70±0,85

Ескерту: Үлгайтылуы 100 есе

Алтын тамыр өсімдігінің жер асты бөлігі крахмал дәндеріне бай, ал тамырсабағынан анықталған крахмалды дәндері эллипс пішінге ие екені анықталды. Тамырсабақтың борпылдақ өзек паренхимасында, ксилема сәулелері айқын байқалады. Ксилема сәулелерінің саны бірнеше, радиус бойлай орналасқан (6-сурет).



А



Б

6-сурет – *R. rosea* L. тамырсабағының ксилема сәулелері орналасуы (А), 1-өткізгіш шок және өзектік паренхимасындағы крахмал дәндерінің орналасуы (Б), 1 – крахмал дәндері

*Rhodiola rosea* L. өсімдігінің анатомиялық-морфологиялық құрылымын зерттеу нәтижесін талқылау келесідей диагностикалық белгілерді айқындағы:

*R. rosea* L. өсімдігі тамырында көбірек жинаялатын биологиялық белсенді заттардың орны айқындалды. Биологиялық белсенді заттар – таниндер тамырдың органды болімінде

флоэмалың тәменгі жағында шоғырланған. Сонымен қатар *R. rosea* L. өсімдігі сабагының ішкі құрылышында, флоэмалың үстінгі бөлігінде де көп мөлшерде таниндердің шоғырлануы және идиобластардың болуымен ерекшеленеді. *Rhodiola rosea* L. өсімдігінің жапырағындағы басты ерекшелік, эпидермисте ірі моторлы клеткалары кездесті. Тамырының ортасына қарай бағаналы мезофилл клеткалары дөңгелек пішінге ие. *Rhodiola rosea* L. тамырсағының көлденең кесіндісінде үшінші жабындық ұлпа ритидом дамыған. Аталған аймақтарда паренхималық жасушалардың дөңгелек пішінді орналасқаны белгіленді. Откізгіш шоқтары тамырының қалындауына сәйкес 2 немесе 3 қатар орналасқан өткізгіш шоқтар сәулелері шашыраңқы орналасып, крахмал кристаллдарына өте бай өзектік паренхималың болуы айқындалды. Ксилема радиалды пішінде бірі-біріне жақын орналасқан флоема сопакталған клеткалардан түзілген. Паренхималық клеткалардың орналасу орны тамыр қабығына жақындаған сайын пішіні өзгерген. Тамыр қабығының айналасында сопақша пішін де кездесті. Тамыр қабатындағы жасушалар жаңаған сайын ескі клеткалар сыртқы қабатты түзіп, перицерма жасушалары арқылы ығыстырылып отырады. Жалпы *Rhodiola rosea* L. өсімдігінің анатомиялық құрылышы әдеби деректердегі мәліметтерге сәйкес келеді. Айырмашылығы шамалы. Биологиялық белсенді заттарының болуы микроскопиялық зерттеулер барысында клетка ішінде шоғырланып орналасқан қосылыстар түрінде жинақталған. Биологиялық белсенді заттардың құрамы ерте-ректе жарияланған мақалада толық көрсетілген. Биологиялық белсенді заттар микросуреттерден де байқалғандай өсімдіктің жапырағына қарағанда тамырының бөліктерінде көбірек жиналғандығын айта кету керек. Крахмал дәндері тамыр бөлігінің ортасына қарай көбірек шоғырланып, тамырдың сыртқы қабатына қарай азайған. Крахмалды дәндердің болуын гистологиялық кесінді жасаған кезінде, пре-

паратты луголь ерітіндісімен бояғанда препарат түсінің күлгін түске боялғандығын көрдік. Таниндердің болуын кесіндін судан ерітіндісінің тамшысымен әсерету кезінде байқадық. Идиобластарды микросуреттерден клетка ішінде шоғырланған белгілі пішінді қосылыс түрінде анықтап байқадық. Бұдан басқа да биологиялық белсенді заттарды *Rhodiola rosea* L. өсімдігінің тамырының фитохимиялық құрамын зерттеу сараптасмының нәтижесінде алдық. Алынған нәтижелер желісінде табылған биологиялық белсенді заттарды белгілі ауруларға ем ретінде әсерін жануарларға жүргізілетін эксперименталдық модельдерге сүйене отырып анықтау жоспарлануда.

## Корытынды

*Crassulaceae* тұқымдасына жататын қызығылт семізоты (*R.rosea* L.) өсімдігінің анатомиялық құрылышын зерттеу арқылы диагностикалық белгілері анықталды, клеткадағы биологиялық белсенді заттардың орны айқындалды:

-*Rhodiola rosea* L. өсімдігінің жапырағындағы басты ерекшелік, эпидермисте ірі моторлы клеткаларының кездесуі, бағаналы мезофилл клеткаларының да дөңгелек пішінді болып келуі, флоэмалың тәменгі жағында биологиялық белсенді заттар таниндердің шоғырлануы;

-*R. rosea* L. өсімдігі сабагының ішкі құрылышында, флоэмалың үстінгі бөлігінде көп мөлшерде идиобластардың шоғырлануы, таниндердің болуымен ерекшеленеді;

-Қызығылт семізот тамырсағының көлденең кесіндісінде үшінші жабындық ұлпа ритидомның дамуы, 7-8 қабатпен қатпарланған суберинделген қабық перицерма қабырғаларына жанаса түзілген және ақшыл-сары қоңыр түске боялғаны, қабық паренхимасы борпылдақ, жасушалар саны көп, орталық шеңберде өткізгіш шоқтар сәулелері шашыраңқы орналасуы, крахмал кристаллдарына өте бай өзектік паренхималың болуы айқындалды.

## Әдебиеттер

- 1 Охрана окружающей среды и устойчивое развитие Казахстана // Статистический сборник / Агентство по статистике РК.– Астана, 2008.– 269 с.
- 2 Арыстангалиев С.А., Рамазанов Е.Е. Растения Казахстана. – Алматы: «Наука», 1977. – С. 112.
- 3 Кулагин О.Л., Куркин В.А., Царева А.А., Додонова Н.А. Применение фитопрепаратов родиолы розовой в качестве возможных гепатопротекторов. Коррекция экологического неблагополучия. // Продукты питания. – 2010. – С. 2065-2067.
- 4 Хапилина О.Н., Купешев Ж.С., Данилова А.Н., Календарь Р.Н. Культура родиолы розовой (*Rhodiola Rosea* L.) // In vitro – 2016 – DOI – 10.11134 – btp.4.2016.1.

- 5 Erst A.A. et al. Размножение в культуре *in vitro* редкого вида *Rhodiola rosea* с Алтая. // Turczaninowia. – 2018. – Том 21. – №4. – С. 78-86.
- 6 Флора Казахстана. – Алматы: «Ғылым», 2001. – Том 2.
- 7 Костенко А.А. Умные травы для вашего здоровья. – М.: изд-во АСТ, 2016. – 272 с.
- 8 Мазнев Н.И. 300 лучших растений-целителей. – М.: АСТ Астрель, 2014. – 441 с.
- 9 Все о лекарственных растениях: Атлас-справочник. – Вильнюс: UAB «Bestiary», Санкт-Петербург, ООО «СЗКЭО»
- 10 Сафонов Н.Н. Полный атлас лекарственных растений. – М.: Изд-во Эксмо, 2007. – 312 с.
- 11 Olsson E, Sche'le B, Panossian A. A randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study of the standardised extract SHR-5 of the roots of *Rhodiola rosea* in the treatment of subjects with stress-related fatigue. // Planta Med – 2009 – 75 – 105–112.
- 12 Chen X, Liu J, Gu X et al Salidroside attenuates glutamate-induced apoptotic cell death in primary cultured hippocampal neurons of rats.// Brain Res – 2008 – 1238 – 189–198.
- 13 Wu Y, Lian L, Jiang Y et al Hepatoprotective effects of salidroside on fulminant hepatic failure induced by d-galactosamine and lipopolysaccharide in mice.// J Pharm Pharmacol – 2009 – 61(10) – 1375–1382.
- 14 Chen X, Zhang Q, Cheng Q et al Protective effect of salidroside against H2O2-induced cell apoptosis in primary culture of rat hippocampal neurons.// Mol Cell Biochem – 2009 – 332(1-2) – 85–93.
- 15 Wang H, Ding Y, Zhou J The in vitro and in vivo antiviral effects of salidroside from *Rhodiola rosea* L. against coxsackievirus B3.// Phytomedicine – 2009 – 16(2-3) – 146–155.
- 16 Hu X, Zhang X, Qiu S Salidroside induces cell-cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells.// Biochem Biophys Res Commun – 2010 – 398(1) – 62–67
- 17 Guan S, Feng H, Song B et al Salidroside attenuates LPS-induced pro-inflammatory cytokine responses and improves survival in murine endotoxemia.// Int Immunopharmacol – 2011 – 11(12) – 2194–2199 Guan.
- 18 Chiang H, Chen H, Wu C Rhodiola plants: chemistry and biological activity.// J Food Drug Anal – 2015 – 23 – 359–369.
- 19 Bai Y, Bi H, Zhuang Y et al Production of salidroside in metabolically engineered *Escherichia coli*.// Sci Rep. doi – 2014 – 10.1038 – srep06640.
- 20 Mossberg B, Stenberg L Den nya nordiska floran. Stockholm,// Wahlström and Widstrand, – 2003 – p 928.
- 21 Cuerrier A, Archambault M, Rapinski M et al Taxonomy of *Rhodiola rosea* L., with special attention to molecular analyses of Nunavik (Quebec) populations. In: Cuerrier A, Ampong-Nyarko K (eds) *Rhodiola rosea*.// Traditional herbal medicines for modern times. //CRC Press – Taylor & Francis Group – 2015 – pp 1–34
- 22 Marchev A, Haas C, Schulz S et al Sage in vitro cultures: a promising tool for the production of bioactive terpenes and phenolic substances.// Biotechnol Lett – 2014 – 36 – 211–221
- 23 Zhumagul M.Zh. Kurmanbayeva M.S Kudrina N.O. Tolenova K.D Seilkhan A.S. Maria Hohn..GC-MS analysis of the lipophilic compounds of medicinal plant *Rhodila rosea* L. // International Journal of Biology and Chemistry – №1 – 2019 – P103-111.
- 24 Писарев Д.А., Новиков А.А., Бочаринкова М.А., Васильева Ю.Г., Малютина А.Ю. Разработка методики определения содержания сквалена в некоторых растительных жирных маслах. Научный результат. // Медицина и фармация. – 2016. – Т. 2, №4 – DOI – 10.18413 – 2313-8955-2016-2-4-43-53.
- 25 Mihael Costică, NAELEA Costică, Ovidiu Toma. Phytocoenological, histo – anatomical and biochemical aspects in *Rhodiola rosea* L. Species from Romania. Scientific Annals of the "Alexandru Ioan Cuza" University, //Genetics and Molecular Biology Section – 2010 – TOM VIII.
- 26 Куркин В.А., Рыжков В.М. Анатомо-морфологическое исследование корневищ и корней родиолы розовой. // Вестник фармации. – 2015. – №2 (68). – С. 18-21.
- 27 Daniel-Ioan Maftei, Diana-Elena Maftei Preliminary histo-anatomical research on *Rhodiola Rosea* L. in conventional and in vitro cultures. // Studies and research March Biology – 2018 – 27/1 – 58-62 – “Vasile Alecsandri” University of Bacău.
- 28 Daniel-Ioan Maftei, Diana-Elena Maftei. Several histo-anatomical aspects on the rhizome structure in *Rhodiola Rosea* L. // Studies and Research March Biology – 2015 – 24/1 – 109-111 – “Vasile Alecsandri” University of Bacău.
- 29 Байтенов М.С. Флора Казахстана. – Алматы: Ғылым, 2001. – Т. 1-2.
- 30 Пермяков А.И. Микротехника. – М.: Изд-во МГУ, 1988. – С. 3-20.
- 31 Исаченко А.Г. Методы полевых ландшафтных исследований и ландшафтно-экологическое картографирование. // СПб – 1998 -112
- 32 Эзая К. Анатомия семенных растений. – М., 1980. – Т. 1, – 580 с.
- 33 Барькина Р.П. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. – М.: МГУ, 2004. – С. 312.

## References

- 1 Environmental protection and sustainable development of Kazakhstan // Statistical collection / Agency on statistics of the Republic of Kazakhstan.– Astana, 2008.– 269 p.
- 2 Arystangaliev S.A., Ramazanov E.E. Plants of Kazakhstan // Almaty: "Science" 1977- p.-112
- 3 Kulagin O.L., Kurkin V.A., Tsareva A.A., Dodonova N.A. Application of phytopreparations of *Rhodiola rosea* as possible hepatoprotectors. Correction of environmental problems. // Food – 2010 – pp. 2065-2067.
- 4 Khapilina ON, Kupeshev Zh.S., Danilova AN, Calendar R.N. Culture of *Rhodiola Rosea* L. // In vitro – 2016 – DOI – 10.11134 – btp.4.2016.1.

- 5 Erst A.A. et al. In vitro reproduction of a rare species *Rhodiola rosea* from Altai. // Turczaninowia – 2018 – volume 21 – №4. – S. 78-86.
- 6 Flora of Kazakhstan. – Almaty: // "Gylm", – 2001. – Volume 2.
- 7 Kostenko A.A. Smart herbs for your health // M.: AST publishing house, 2016.- 272 p.
- 8 Maznev N.I. 300 best healing plants // Moscow AST Astrel 2014 – 441 p.
- 9 All about medicinal plants: Atlas-reference book. Vilnius: UAB "Bestiary", St. Petersburg, LLC "SZKEO"
- 10 Safonov N.N. Complete atlas of medicinal plants. M.: Publishing house Eksmo, 2007 – 312 p.
- 11 Olsson E, Sche'ele B, Panossian A. A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study of the standardized extract SHR-5 of the roots of *Rhodiola rosea* in the treatment of subjects with stress-related fatigue. // Planta Med – 2009 – 75 – 105–112.
- 12 Chen X, Liu J, Gu X et al Salidroside attenuates gluta-mate-induced apoptotic cell death in primary cultured hippocampal neurons of rats.// Brain Res – 2008 – 1238 – 189-198.
- 13 Wu Y, Lian L, Jiang Y et al Hepatoprotective effects of salidroside on fulminant hepatic failure induced by byd-galactosamine and lipopolysaccharide in mice // J PharmPharmacol – 2009 – 61 (10) – 1375-1382.
- 14 Chen X, Zhang Q, Cheng Q et al Protective effect of salidroside against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell apoptosis in primary culture of rat hippocampal neurons.// Mol Cell Biochem – 2009 – 332 (1-2) – 85–93.
- 15 Wang H, Ding Y, Zhou J The in vitro and in vivo antiviral effects of salidroside from *Rhodiola rosea* L.against coxsackievirus B3.// Phytomedicine – 2009-16 (2-3) – 146-155.
- 16 Hu X, Zhang X, Qiu S Salidroside induces cell-cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells.// BiochemBiophys Res Commun – 2010 – 398 (1) – 62–67
- 17 Guan S, Feng H, Song B et al Salidroside attenuates LPS-induced pro-inflammatory cytokine responses and improves survival in murine endotoxemia. // IntImmunopharmacol – 2011 – 11 (12) – 2194-2199 Guan.
- 18 Chiang H, Chen H, Wu C Rhodiola plants: chemistry and biological activity // J Food Drug Anal – 2015 – 23 – 359-369.
- 19 Bai Y, Bi H, Zhuang Y et al Production of salidroside in metabolically engineered *Escherichia coli* // Sci Rep. Doi – 2014 – 10.1038 – srep06640.
- 20 Mossberg B, Stenberg L Den nya nordiska floran. Stockholm, // Wahlström and Widstrand, – 2003 – p 928.
- 21 Cuerrier A, Archambault M, Rapinski M et al Taxonomy of *Rhodiola rosea* L., with special attention to molecular analyses of Nunavik (Quebec) populations. In: Cuerrier A, Ampong-Nyarko K (eds) *Rhodiola rosea*. // Traditionalherbal medicines for modern times. // CRC Press – Taylor & Francis Group – 2015 – pp 1–34
- 22 Marchev A, Haas C, Schulz S et al Sage in vitrocultures: a promising tool for the production of bioactive terpenes and phenolic substances.// Biotechnol Lett – 2014 – 36 – 211–221
- 23 Zhumagul M.Zh. Kurmanbayeva M.S Kudrina N.O. Tolenova K.D Seilkhan A.S. Maria Hohn..GC-MS analysis of the lipophilic compounds of medicinal plant *Rhodiola rosea* L. // International Journal of Biology and Chemistry – №1 – 2019 – P103-111.
- 24 Pisarev D.A., Novikov A.A., Bocharinkova M.A., Vasilyeva Yu.G., Malyutina A.Yu. Development of a method for determining the content of squalene in some vegetable fatty oils. Scientific result. // Medicine and Pharmacy – 2016 -T2, №4 – DOI – 10.18413 – 2313-8955-2016-2-4-43-53.
- 25 Mihai Costică, NAE LA Costică, Ovidiu Toma. Phytocoenological, histo – anatomical and biochemical aspects in *Rhodiola rosea* L. Species from Romania. Scientific Annals of the "Alexandru Ioan Cuza" University, // Genetics and Molecular Biology Section – 2010 – TOM VIII.
- 26 Kurkin V.A., Ryzhov V.M. Anatomical and morphological study of rhizomes and roots of *Rhodiola rosea*. // Bulletin of Pharmacy – 2015 – №2 (68) – pp. 18-21
- 27 Daniel-Ioan Maftei, Diana-Elena Maftei Preliminary histo-anatomical research on *Rhodiola Rosea* L. in conventional and in vitro cultures. // Studies and research March Biology – 2018 – 27/1 – 58-62 – “Vasile Alecsandri” University of Bacău.
- 28 Daniel-Ioan Maftei, Diana-Elena Maftei. Several histo-anatomical aspects on the rhizome structure in *Rhodiola Rosea* L. // Studies and Research March Biology – 2015 – 24/1 – 109-111 – “Vasile Alecsandri” University of Bacău.
- 29 Baytenov M.S. Flora of Kazakhstan. – Almaty: // Gylm, 2001 .– T. 1-2.
- 30 Permyakov A.I. Microtechnics. – M. // Publishing house of Moscow State University – 1988.3-20 bb.
- 31 Isachenko A.G. Methods of field landscape research and landscape-ecological mapping. // SPb – 1998 -112
- 32 Esau K. Anatomy of seed plants. // Moscow, – 1980. – T. 1, – 580 p.
- 33 Barkina R.P. Handbook of botanical microtechnology. Basics and Methods. – M.: // Moscow State University, – 2004.- p.

МРНТИ 68.05.29 : 68.05.45

<https://doi.org/10.26577/eb.2020.v85.i4.02>**А.Г. Колодяжный, Н.А. Карабаев\***Кыргызский национальный аграрный университет  
им. К.И. Скрябина, Кыргызстан, г. Бишкек

\*e-mail: nuru51@mail.ru

**НАДЗЕМНАЯ ФИТОМАССА  
ПОЖНИВНЫХ СИДЕРАЛЬНЫХ КУЛЬТУР  
НА ОРОШАЕМЫХ ПАШНЯХ  
ЧУЙСКОЙ ДОЛИНЫ КЫРГЫЗСТАНА**

Рассматриваются перспективы внедрения пожнивных сидеральных культур, таких как горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной, на орошаемых пашнях Центральной части Чуйской долины Кыргызстана после уборки урожая озимой пшеницы, что отвечает основам органического ведения орошаемого земледелия. При внедрении пожнивных сидератов первостепенное значение имеет организация безперебойного полива растений во время вегетации. В аридном, жарком климате Чуйской долины возделывание пожнивных сидератов в компании Кирби сопровождается с использованием регулярного полива при помощи дождевальных установок. Только так можно обеспечить выращивание сидератов и получение полноценной зеленой массы в конце вегетации сидератов. Исследуются вопросы накопления надземной и корневой масс сидеральных культур – горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной и их влияние на увеличение урожайности картофеля. Устанавливается порядок увеличения надземной массы сидератов: горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной в вариантах опыта. Рассматривается преимущество совместной минерализации трудно разлагаемых форм растительных остатков предыдущей культуры – озимой пшеницы и зеленой фитомассы пожнивных сидератов для восполнения органического вещества почвы и при получении экологически чистой продукции растениеводства. Полученные материалы научно-исследовательской работы позволяют рекомендовать на орошаемых пашнях Центральной части Чуйской долины КР пожнивные сидеральные культуры: горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной в качестве зеленых удобрений.

**Ключевые слова:** сидераты, пожнивные, растения, предшественник, озимая пшеница, плодородие, почва, орошаемая пашня, урожайность, зеленое удобрение.

A.G. Kolodyazhny, N.A. Karabaev\*

Kyrgyz National Agrarian University named after K.I. Skryabin,  
Kyrgyzstan, Bishkek  
\*e-mail: nuru51@mail.ru

**Aboveground phytomass of green manure stubble crops  
on irrigated arable land in the Chui valley of Kyrgyzstan**

The article discusses the prospects for the introduction of crop sideral crops – white mustard, white clover, spring barley, Rowan-leaved phacelia, oilseed radish on irrigated arable land in the Central part of the Chui valley of Kyrgyzstan after harvesting winter wheat, which corresponds to the basics of organic management of irrigated agriculture. When introducing stubble green manures, the organization of uninterrupted watering of plants during the growing season is of paramount importance. In the arid, hot summer climate of the Chui of the company Kirbi valley, the cultivation of crop siderates is accompanied by the use of regular irrigation using sprinklers. This is the only way to ensure the cultivation of green manure and obtain a full-fledged green mass at the end of the growing season of the manure. The issues of accumulation of aboveground and root mass of sideral crops – white mustard, white clover, spring barley, Rowan-leaved phacelia, oilseed radish and their influence on increasing potato yield are studied. The procedure for increasing the aboveground mass of green manure is established: white mustard, white melilot, spring barley, rowan-leaved phacelia, oil radish in the variants of the experiment. The article considers the advantage of joint mineralization of hard – to-decompose forms of plant residues of the previous crop-winter wheat and green phytomass of crop siderates to replenish the organic matter of the soil and to obtain environmentally friendly crop production. The materials of the research work allow us to recommend crop sideral crops on the irrigated arable lands of the Central part of the Chui valley

of the KYRGYZ Republic: white mustard, white clover, spring barley, Rowan-leaved phacelia, oilseed radish as green fertilizers.

**Key words:** green manure, crop crops, plants, precursor, winter wheat, fertility, soil, irrigated arable land, yield, green fertilizer.

А.Г. Колодяжный, Н.А. Карабаев\*

К.И. Скрябин атындағы Қырғыз ұлттық аграрлық университеті, Қырғызстан, Бішкек қ.

\*e-mail: nuru51@mail.ru

### Қырғызстанның Шу алқабындағы суармалы егістіктердегі аңыздық сидерат дақылдардың жер үсті фитомассасы

Күздік бидай жинағаннан кейін Қырғызстанның Шу алқабының орталық, бөлігінің суармалы егістіктерінде: ак, қыша, ак түйежонышқа, жаздық, арпа, фацелия, майлар шалғам сияқты аңыздық сидералдық дақылдарды енгізу перспектиналары қарастырылған, бұл суармалы егіншілікті органикалық жүргізу негіздеріне жауап береді. Қопсытылған жасыл тыңайтқыштарды енгізу кезінде өсімдіктерді өсіп-өну кезеңінде үздіксіз суаруды ұйымдастыру маңызды болып табылады. Шу алқабының жазының құрғақ, ыстық, климатында өсімдік сидераттарын Кірбі компаниясында өсіру бүріккіш қондырығылармен үнемі суаруды қолданумен бірге жүреді. Бұл жасыл сидералдық дақылдарды өсіруді қамтамасыз етуің және жасыл сидералдық дақылдардың вегетациялық кезеңінде сонында толықанды жасыл масса алуың жалғыз әдісі.

Сидеральды дақылдардың жер үсті және тамыр массасының жинақталуы – ак, қыша, ак түйежонышқа, жаздық, арпа, фацелия, майлар шалғам және олардың картоп өнімділігінің артуына әсері зерттеледі. Жасыл сидералдық дақылдардың: ак, қыша, ак түйежонышқа, жаздық, арпа, фацелия, майлар шалғам сияқты тәжірибе нұсқаларында жер үсті фитомассасының көбейу процедурасы белгіленген. Алдыңғы дақылдың өсімдік қалдықтарының қыын ыдырайтын нысандарын – топырактың органикалық заттарын толтыру үшін және өсімдік шаруашылығының экологиялық таза өнімдерін алу кезінде күздік бидай мен сидерат жасыл фитомассасын бірлесіп минералданырудың артықшылығы қарастырылады. Ғылыми-зерттеу жұмыстарының алынған материалдары КР Шу алқабының орталық, бөлігіндегі суармалы егістіктерде жасыл сидерат: ак, қыша, ак түйежонышқа, жаздық, арпа, фацелия, майлар шалғам фитомассасын ұсынуға мүмкіндік береді.

**Түйін сөздер:** сидераттар, аңшыдағы өсімдіктер, мурда өсірілген өсімдіктер, күздік бидай, құнарлылық, топырак, суармалы егістік, өнімділік, жасыл тыңайтқыш.

## Введение

Как отмечают почвоведы, несмотря на существенную роль, которую играет почва в жизни людей, во всем мире уменьшается площади земель сельскохозяйственных угодий, возрастает деградация почвенных ресурсов из-за неправильных методов управления, антропогенного и демографического давления, и это особенно заметно в развивающихся странах, в том числе в Кыргызстане.

В настоящее время эксплуатация орошающейся пашни Кыргызской Республики (КР) основывается на максимальном использовании потенциального плодородия почв, и ведется с грубым нарушением научно-обоснованных рекомендаций систем земледелия, что сопровождается падением уровня плодородия почв и снижением урожайности сельскохозяйственных культур. Так, многолетний вынос большого количества питательных веществ из почвы с урожаем агроценозов без их восполнения, привели к заметному снижению органического вещества почв и

утраты ценных агрофизических и агрохимических свойств пашни.

Утрата плодородия почв орошающего земледелия создает угрозу продовольственной безопасности страны. Мы должны всегда помнить о том, что наша нынешняя и будущая продовольственная безопасность напрямую зависит от нашей способности и ответственности рационального и бережного отношения почвенным ресурсам и в этом направлении в земледелии КР накопились много проблем.

Решение этих задач должно сопровождаться научными исследованиями почв страны и в первую очередь необходим сбор информации и материалов по состоянию плодородия почв, используемые для разработки мер политики, направленных на повышение продовольственной безопасности и улучшение питания населения. Сегодня наши почвы сельскохозяйственного назначения как никогда нуждаются в заботе руководителей государства и общественности.

И чем мы раньше об этом заботимся, тем лучше.

Остановить процесс снижения плодородия почв и увеличить производство сельскохозяйственной продукции в условиях дефицита органических (навоза) и дороговизны минеральных удобрений можно за счет освоения научно-обоснованных систем севооборотов, рационального использования биологических приемов повышения плодородия почв, в том числе внедрением пожнивных сидеральных культур в сельскохозяйственное производство.

В этом контексте возделывание пожнивных промежуточных культур на поле, предназначенное для посадки клубней картофеля, является почвозащитной и энергосберегающей и экологически чистой технологией возделывания картофеля.

Сегодня картофель играет важную роль в продовольственном обеспечении населения КР, и экспортне на внешние рынки стран Центральной Азии.

К сожалению, в настоящее время у нас в Республике урожайность и качество картофеля остается на низком уровне, так как многие площади заняты монокультурой картофеля, что способствует ухудшению плодородия орошающей пашни и снижения урожайности и качества клубней картофеля. Так, в последние годы средняя урожайность картофеля по Республике составляет около 170,0 ц/га и клубни подвержены воздействию болезней и вредителей.

Поэтому повышение продуктивности и качества картофеля, а также внедрение инновационных агротехнических приемов повышения урожайности и качества продукции становится одной из приоритетных задач отрасли картофелеводства. И здесь одной из важных задач интенсификации картофелеводства является размещение плантаций картофеля после пожнивных сидеральных культур, фитомасса которых выполняют роль зеленых удобрений.

Пожнивные сидеральные культуры на орошаемых пашнях Кыргызстана до настоящего времени не получили широкого распространения. Одной из основных причин этого является слабая изученность элементов технологии возделывания и подбор сидеральных культур для каждого почвенно-климатического региона страны.

В компании Кирби сидераты используют как промежуточную культуру, между основными сельскохозяйственными растениями, т.е. их размещение не требует дополнительных площадей орошающей пашни. При этом они эффективно вступают в роли фитосанитаров и зеленых удо-

брений, препятствуют развитию водной и ветровой эрозии, улучшают ее агрохимические, водно-физические свойства и структуру почвы.

Поэтому проводимая нами научно-исследовательская работа по изучению влияния пожнивных сидеральных культур: горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной на почвенное плодородие и урожайность картофеля, представляет теоретический и практический интерес для агропромышленного комплекса Кыргызстана.

## Материал и методы исследований

На орошаемых сероземно-луговых почвах Центральной части Чуйской долины Кыргызской Республики в рамках государственно-частного партнерства: компании Кирби и Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина (КНАУ) проводятся научно-исследовательские работы по совместному изучению влияния сидеральных культур – горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной на урожайность и качество продукции картофеля и на показатели плодородия почв на фоне орошения дождеванием.

Вышеназванные сидераты используют как промежуточную культуру между основным сельскохозяйственным растениями, и они выполняют роль зеленых удобрений.

Полевые опыты пожнивных сидеральных культур размещаемые после озимой пшеницы проведены по следующей схеме:

1\*. Контроль – 50% NPK

2\*. Сидерат (донник белый однолетний) + Картофель -50 % NPK

3\*. Сидерат (горчица белая) + Картофель -50 % NPK

4\*. Сидерат (редька масличная) + Картофель -50 % NPK

5\*. Сидерат (фацелия рябинолистная) + Картофель -50 % NPK

6\*. Сидерат (ячмень) + Картофель -50 % NPK  
где\*: контроль и варианты опыта имеет агрохимический фон – 50 % NPK, т.е.

$N = 120 \text{ кг/га}$  действующего вещества,  
 $P = 90 \text{ кг/га}$  действующего вещества,  
 $K = 90 \text{ кг/га}$  действующего вещества.

Ведь по исследованиям многих ученых мира совместное внесение зеленого и минерального удобрений более эффективно, чем их раздельное применение [1, 2, 3]. Кроме того, запашка сидератов совместно с соломой на фоне мине-

ральных удобрений (от 50 до 200 кг/га действующего вещества) в севообороте с сидеральным паром увеличивало питательную ценность сиcosa кукурузы на 0,02 – 0,03 кормовых единиц по сравнению с занятым паром [4].

В нашем опыте предшествующей культурой является озимая пшеница, урожай которой убирается в третьей декаде июля, и агроклиматический потенциал Центральной части Чуйской долины, последующего периода развития растений, позволяет размещать пожнивные сидераты на фоне орошения (полив дождевальными установками).

Методика полевых работ на опытном участке, и лабораторные исследования растительных и почвенных образцов выполнены по общепринятым методикам КР.

Так, отбор надземной массы сидеральных культур (поздней осенью перед вспашкой) произведен на площади 1 м<sup>2</sup> в четырех кратной повторности, располагая их по диагонали каждой делянки опыта и в каждом варианте опыта по 3 повторности, т.е. отбираются

4 x 3 = 12 образцов надземной массы на каждом варианте опыта по методу Гришиной Л.А., Самойловой Е.М. [5] и Левина Ф.И. [6]. И там же отбираются корневые образцы из пахотного слоя (0-25 см) и подпахотного слоя (25-50 см) почвы, методом монолита из площади 25 см x 25 см и на глубину 25 см по методу Качинского Н.А. [7], т.е. 4 x 3 = 12 образцов из пахотного и 4 x 3 = 12 образцов из подпахотного слоев почвы, и пока корни не утратили тurgора отмывали водой используя сито диаметром 0,25 мм и разделяли корни сидератов от почвы.

Свежая надземная и корневая масса сидератов взвешиваются на аналитических весах и высушиваются до воздушно-сухого состояния и взвешиваются, и по разницам (свежих и сухих образцов) вычисляется процент влажности фитомассы. Из образцов фитомассы сидератов отобранные из всей делянок каждого варианта опыта вычисляется среднее количество фитомассы и из средних образцов фитомассы сидератов отбираются образцы для лабораторных анализов.

### Результаты исследований и их обсуждение

Рациональное использование и управление земельными ресурсами остается главным вопросом на фоне прироста населения и обеспечения продовольственной безопасности и экономического роста страны. В Кыргызстане

сегодня можно с уверенностью констатировать, что экстенсивное ведение земледелия мелкими собственниками (крестьянские хозяйства) из-за ограниченных финансовых возможностей, малых земельных наделов и отсталого технологического развития, привело к снижению плодородия почв и деградации пахотных земель и уменьшении урожайности сельскохозяйственных культур [8, 9]. И отсюда вытекает бедность сельского населения, порождающая внутренней и внешней миграции граждан.

В настоящее время наши обрабатываемые почвы хищнически эксплуатируются и со стороны субъектов хозяйствования не проводятся инновационные агротехнические мероприятия по сохранению и воспроизводству почвенно-плодородия. Под влиянием антропогенных факторов наблюдается потеря органического вещества, валового и подвижного азота, фосфора, калия, а также агрономически ценной и водопрочной структуры почвы, что в конечном счете отрицательно влияет на урожайность сельскохозяйственных культур и качество продукции.

Пандемия коронавируса (2020) заставила нас осознать нашу уязвимость в области продовольственной и биологической безопасности страны, и ставит на повестку дня интенсификацию и экологизацию земледелия. Всем вышеназванным негативным явлениям землепользователь должен противопоставить почвозащитные и энергосберегающие системы земледелия для повышения урожайности и качества пищевых продуктов, и без этого ему не противостоять жесткой внешней и внутренней конкуренции.

Только защищая и целенаправленно используя те почвы, которые мы эксплуатируем сейчас, можем оставить их в достаточно высоком плодородном состоянии будущему поколению. Это наш гражданский долг.

Работы в этом направлении могут быть успешными только в том случае, если у землепользователей есть необходимые финансовые и технические средства, а также готовность и контроль за восстановлением, сохранением и улучшением плодородия почвы.

Поэтому при выполнении этих задач, надо поддерживать и развивать опыт тех субъектов хозяйствования, где с каждым годом увеличивается объемы переработанной и экспорт ориентированной продукции, и повышается плодородие почв. В этом отношении представляет интерес опыт ведения почвозащитного земледелия в компании Кирби, где успешно возделывается

картофель – предназначенная для промышленной переработки и на экспорт.

У нас будущее за хозяйствами, как компания Кирби, где создаются приемлемые условия для внедрения инновационных технологий по выращиванию и переработке картофеля, и есть возможность поднять сельскохозяйственное производство на более высокий технологический уровень.

Поскольку тема ухудшения плодородия почв и рационального использования почвенных ресурсов является эколого-экономической и продовольственной проблемой, она должна решаться совместно с учеными почвоведами и практиками страны, где приоритетдается государственно-частному партнерству. В этом отношении актуальным является государственно-частное научно-производственное партнерство компаний Кирби и Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина.

В этом контексте компания Кирби внедрила в аграрное производство пожнивные сидеральные культуры – горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной с целью получения выгоды от устойчивого управления плодородием орошающей пашни.

В деятельности агрономической службы вышеназванной компании существует целый ряд доступных стратегических инструментов биологизации земледелия, в т.ч. использование вышеназванных сидератов в качестве зеленых удобрений на фоне орошения дождеванием, которые могут в долгосрочной перспективе обеспечить внедрение и реализацию устойчивого управления плодородием земельных ресурсов компаний.

До настоящего времени пожнивные сидеральные культуры широкое распространение на орошаемых пашнях Кыргызстана не получили. Одной из основных причин этого является слабая изученность элементов технологии возделывания и подбор сидеральных культур для каждого почвенно-климатического региона страны, а также организация бесперебойной системы орошения.

В этом отношении внедрение пожнивных промежуточных культур – горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной на полях компании Кирби, предназначенные для посадки клубней картофеля, является почвозащитной и энергосберегающей и экологически чистой техно-

логией возделывания картофеля и безусловно, результаты научных исследований будут широко использоваться в аграрном производстве страны.

Здесь при выборе пожнивных сидеральных культур учитывалась их агроэкологические потребности, климатические, почвенные, экономические и хозяйствственные условия возделывания, особенно бесперебойное обеспечение поливной водой (орошение дождевальными агрегатами) и внедрение инновационной технологии обработки почв и посева семян сидератов.

Особенности почвенно-климатических условий Центральной части Чуйской долины Кыргызской Республики заключается присутствием горно-долинного рельефа местности, высоких температур летом, недостаточным количеством атмосферных осадков, повышенной испаряемости влаги из почвы и лимитирующим запасом поливной воды – предопределили ведение как орошаемого земледелия, так и внедрения пожнивных промежуточных культур – горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной на фоне полива дождеванием.

Благоприятный агроклиматический потенциал земледельческой территории вышеназванной компании и бесперебойное обеспечение поливной водой (орошение дождевальными установками) позволяют размещать пожнивных сидератов: горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной после раноубираемой озимой пшеницы и эффективно использовать коэффициент полезного действия (КПД) фотосинтетической активной радиации (ФАР) во время вегетации пожнивных сидеральных культур.

На этом агротехническом фоне орошаемого земледелия получают богатую фитомассу сидератов, и целенаправленно используют их в виде зеленых удобрений.

Такой постановке вопроса способствуют благоприятные метеорологические данные района исследования (таблица 1).

Температурные ресурсы теплого периода региона исследований характеризуются достаточной суммой активных температур выше  $10^{\circ}\text{C}$ , которая составляет  $3500^{\circ}$ , что свидетельствует о высокой теплообеспеченности.

Продолжительность теплого периода равняется 250 дней.

Среднегодовая температура воздуха равна  $+9,6^{\circ}\text{C}$  (табл. 1).

**Таблица 1 – Метеорологическая характеристика климатических показателей земледельческих территорий компании Кирби**

Характеристика	Значение
Температура воздуха, °С самого теплого месяца (июля)	9,5°C
самого холодного месяца (января)	23,9°C
Годовое количество осадков, мм	-5,1°C
Продолжительность теплого периода, дни	400 мм
Продолжительность безморозного периода, дни	250 дней
Сумма температур выше 10°C, °	185
	3500

Вышенназванные метеорологические показатели земледельческой территории компании Кирби дают возможность размещать пожнивные и озимые промежуточные культуры после уборки зерновых колосовых культур и раноубираемых овощей. Здесь целесообразно размещать пожнивные сидеральные культуры, предназначенные на зеленые удобрения, когда после них размещается картофель.

Внедренные на полях этой компании сидеральные культуры: горчица белая, донник белый, ячмень яровой, фацелия рябинолистной, редька масличная – интенсивно накапливают растительную массу, и они имеют короткий вегетационный период развития, высокие адаптив-

ные возможности к условиям возделывания при орошении.

Основная фитомасса пожнивных сидеральных культур – горчица белая, донник белый, ячмень яровой, фацелия рябинолистная, редька масличная, возделываемых на полях компании Кирби, со- средоточена в надземной массе (77,6 – 83,1 %).

Здесь эффект обогащения орошаемой пашни органическим веществом достигается внедренными в сельскохозяйственное производство сидератами, особенно богатой надземной массы, выполняющими роль зеленых удобрений.

Поэтому используя всю надземную фитомассу сидеральных культур в качестве зеленых удобрений можно добиться весомых результатов в биологизации орошаемого земледелия.

Это видно из материалов исследований, приведенные в таблице 2.

По материалам многочисленных исследований в основе биологических факторов сохранения и преумножения плодородия пашни, основная роль принадлежит приему сидерации, позволяющий почти удвоить коэффициент полезного действия (КПД) фотосинтетической активной радиации [10, 11]. Это самый эффективный и экологически дешевый прием обогащения почвы богатым биоэнергетическим материалом при повышении плодородия почв.

**Таблица 2 – Показатели надземной фитомассы промежуточных пожнивных культур возделываемые на полях компании Кирби Аламединского района Чуйской области**

№	Варианты	Общая фитомасса сидератов, кг/га	Показатели надземной фитомассы, кг/га		
			свежая, зеленая	сухая	% влажности
1	Контроль с N, P, K	-	-	-	-
2	Горчица белая	12349,8	47760	8310,0	82,5
3	Донник белый	6308,9	15923	3566,7	77,6
4	Ячмень яровой	5912,4	15544	3233,3	79,2
5	Фацелия рябинолистная	8719,9	21974	3933,3	82,1
6	Редька масличная	12140,3	49309	8333,3	83,1

Кроме того, богатая надземная фитомасса пожнивных сидеральных культур на полях компании Кирби подавляет развитие сорной растительности, быстро набирая богатую зеленую массу и не оставляют пространства для солнечного света при развитии сорной растительности, а также улучшает фитосанитарное состояние полей.

Итак, внедрением в производство сидератов затушевывается негативное влияние повторных посевов сельскохозяйственных растений.

Как известно, пожнивные сидеральные культуры, распахиваемые осенью во время вегетации, оставляет в орошаемой пашне компании Кирби свежие, вегетирующие корни и зеленые пожнивные остатки. Так зеленая фитомасса си-

дератов: горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной состоит из 77,6-83,1 % влажности и они в таком свежем состоянии распахиваются в пашню. Такая зеленая фитомасса оптимально минерализуется почвенными микроорганизмами и повышает микробиологическую активность пашни.

Проведенные в Евроазиатском континенте многочисленные научно-исследовательские работы доказали, что сидеральные культуры самый эффективный и дешевый прием воспроизводство плодородия почв, т.е. они являются источником пополнения элементов питания и органического вещества почвы и имеет большое агроэкологическое, энергосберегающее и экономическое значение, составляя основы ведения органического сельского хозяйства [12-29].

Для почвенно-климатических условий Центральной части Чуйской долины весьма перспективным является агротехнический подход, основанный на рациональном использовании биоклиматического потенциала (БКП), и с каждого гектара поливной пашни во второй половине лета получат дополнительный урожай зеленой массы (зеленое удобрение) путем расширения посевов пожнивных культур после уборки урожая рано убираемых сельскохозяйственных культур, т.е. размещение сидератов не требуют ввода дополнительной площади орошаемой пашни.

По оставляемой на поле надземной фитомассы лидирует сидеральная культура – редька масличная (49309 кг/га), а во втором месте стоит – горчица белая (47760 кг/га).

Как известно, основным источником поступления органического вещества в почву являются остатки зеленых растений (корни и надземная фитомасса), а также остатки отмерших микроорганизмов и почвообитающих животных. Эти поступающие в почву органические вещества подвергаются биохимическим процессам под воздействием микроорганизмов и происходит процесс их гумификации и минерализации. При этом питательные элементы становятся доступными для растений.

В нашем случае зеленая надземная фитомасса сидератов: горчица белая, донник белый, ячмень яровой, фацелия рябинолистной, редька масличная является хорошим биоэнергетическим материалом для почвенных микроорганизмов и при их запашке повышается биологическая активность почвы.

Малое количество надземной массы оставляет пожнивная культура – яровой ячмень (15544 кг/га) и донник белый (15923 кг/га).

Свежая надземная фитомасса фацелии рябинолистной составляет -21974 кг/га.

Если после распашки богатой фитомассы сидеральных культур – горчица белая, донник белый, ячмень яровой, фацелия рябинолистной, редька масличная (поздняя осень) наступить холодные климатические условия, тогда минерализация растительных остатков консервируются до весны и бурное микробиологическая активность почвы приходиться во время вегетации картофеля. Агрономическая служба компании Кирби старается создать такое условие.

Таким образом, фитомасса сидератов в почвенно-климатических условиях центральной части Чуйской долины при создании весной оптимальных условий для разложения микроорганизмами почвы, могут максимально сыграть роль зеленых удобрений.

Итак, осенью, в первой декаде октября на полях пожнивных сидеральных культур- горчица белая, донник белый, ячмень яровой, фацелия рябинолистной, редька масличная для лучшей разделки богатой надземной массы сидератов проводят обработку тяжелыми дисковыми боронами. Затем проводят зяблевую вспашку обычными плугами на глубину 25-27 см.

В таких благоприятных условиях почвообразования (природные и антропогенные факторы) и при поступлении в почву богатой свежей надземной фитомассы сидеральных культур, весной при вегетации картофеля резко повышается микробиологическая активность почвы. Вследствие чего, обеспечивается лучшая минерализация поступающих в почву растительных остатков зеленых сидеральных культур, что оказывает положительное воздействие на почвенное плодородие и питания картофеля.

Внедренные на орошаемой пашне компании Кирби сидеральные культуры- горчица белая, донник белый, ячмень яровой, фацелия рябинолистной, редька масличная, после распашки в почву зеленой растительной массы, обогащают почву свежим органическим веществом и выполняют роли источников питательных элементов – азота, фосфора, калия и других веществ.

Кроме того, весной при бурном разложении фитомассы в приземный воздух атмосферы выделяется углекислый газ, что способствует активизации процесса фотосинтеза и увеличению урожая картофеля. Итак, оставляемые в почве зеленые послеуборочные растительные остат-

ки сидеральных культур хорошо обеспечивают питательными элементами основную сельскохозяйственную культуру (картофель) вовремя ее вегетации.

Вышеназванный почвообразовательный процесс позволяет, улучшать питательный режим орошающей пашни и создает предпосылки для увеличения урожайности и качества продукции картофеля.

Изучаемые сидераты представляют экологически чистые, экономически выгодные зеленые удобрения, которые базируются на использовании ресурсов солнечной энергии для производства органических удобрений. Внедрение в сельскохозяйственное производство пожнивных сидератов – горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной повышает плодородие орошающей пашни и урожайность, и качество клубня картофеля, вследствие чего, поднимается экономическая эффективность и рентабельность ведения отрасли картофелеводства. При этом, неоспоримым преимуществом вышеназванной агротехники производства картофеля является получение экологически чистой продукции, т.е. клубни картофеля, полученные по принципу биологического земледелия.

Агарная отрасль компании Кирби старается сохранять этот тренд, чтобы за ними осталась и развивалась репутация поставщика высококачественной, экологически чистой сельскохозяйственной продукции.

## Выводы

Полученные результаты научно-исследовательской работы на основе государственно-частного партнерства Кыргызского национального аграрного университета имени К.И. Скрябина и компании Кирби Аламединского района Чуйской области позволяют сделать следующие выводы:

– агроклиматические условия Центральной части Чуйской долины Кыргызстана при обеспечении бесперебойного орошения позволяют размещать после рано убираемых сельскохозяйственных культур пожнивные сидераты, которых можно использовать в качестве зеленых удобрений;

– из общего количества фитомассы пожнивных сидеральных культур основная часть со-

ставляет надземная фитомасса, на долю которых приходиться 77,6-83,1 % от общей фитомассы и они выполняют роль зеленых удобрений;

– развитая надземная фитомасса пожнивных сидеральных культур – горчицы белой, донника белого, ячменя ярового, фацелии рябинолистной, редьки масличной является хорошим подспорьем против сорной растительности и улучшает фитосанитарное состояние полей;

– накопленную фитомассу пожнивных сидеральных культур необходимо использовать по назначению – для повышения плодородия почв, как зеленое удобрение и не стоит отчуждать с поля, использовать на хозяйственные нужды (сено, сенаж и др.) ;

– при проведении зяблевой вспашки на полях сидеральных культур нужно осуществить полную заделку богатой надземной фитомассы в почву;

– весной на вспаханных полях сидератов нужно создать оптимальный водный, воздушный и температурный режимы, необходимые для оптимального протекания процесса минерализации растительных остатков сидератов, что важно при пополнении органического вещества, режима питания почв, усилинию фотосинтетической деятельности и для повышения урожайности и качество продукции картофеля.

## Конфликт интересов

Авторы совместно работали, прочитали и ознакомлены с содержанием статьи и не имеют конфликта интересов.

## Благодарности

Авторы статьи благодарны ректорату КНАУ и дирекции компании Кирбы за предоставленную возможность выполнения научно-исследовательской работы в рамках государственно-частного партнерства.

## Источник финансирования

Настоящая работа была выполнена в Кыргызском национальном аграрном университете им. К.И. Скрябина как аспирантская научно-исследовательская работа и поддержана Департаментом науки Министерства образования и науки Кыргызской Республики в 2015- 2018 годы.

## Литература

- 1 Бердников А.М. Научное обоснование применения зеленых удобрений в современном земледелии на дерново-подзолистых почвах Полесья УССР : Автографат диссертации доктора сельскохозяйственных наук. 1990. – 38 с.
- 2 Schieder E., W. Breunig Ergebnisse eines 15 Jarigen Dauerungsversuches mit Stroh und Stallmist / Archiv-Acker und Pflanzenbau und Bodenkunde. 1978. – Bd 22. – N10. – S.653-687.
- 3 Vetter H. Einfluss der strohdungeng auf Boden und Pflanze / Deutsch Landwirtsch. -1959. N 100. – S. 347.)
- 4 Сотников Б.А. Влияние приемов биологизации на динамику лабильных форм органического вещества и урожайность культур: на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук. – Воронеж, 2004. 06.02.01 Общее земледелие
- 5 Гришина Л.А., Самойлова Е.М. Учет биомассы и химический анализ растений. – М.: Изд-во МГУ, 1971. – 99 с.
- 6 Левин Ф.И. Методические указания по определению показателей биопродуктивности почв в целях разработки практических рекомендаций по увеличению выхода продукции сельскохозяйственных культур с единицы площади. – М., 1973.
- 7 Качинский Н.А. Корневая система растений в почвах подзолистого типа // Труды Московской областной сельскохозяйственной опытной станции. – М., 1925, ч. 1, вып. 7
- 8 Карабаев Н.А. Проблемы почвенных ресурсов и агроэкологии Кыргызской Республики // Материалы международной научно-практической конференции: Система создания кормовой базы животноводства на основе интенсификации растениеводства и использования природных кормовых угодий. РК. – Алмалыбак, 2016. – С. 498-504.
- 9 Карабаев Н.А., Ажыбеков А.С. и др. Внедрение инноваций хозяйствования в агропромышленном комплексе Кыргызстана // Материалы Международной научно-практической конференции : Современные аспекты развития сельского хозяйства Юго-Западного региона Казахстана. – Чымкент, 2018. – С. 360-369.
- 10 Берzin А.М. Зеленое удобрение в Средней Сибири. – Красноярск, 2002. – 395 с.
- 11 Довбан К.И. Зеленое удобрение в современном земледелии. Вопросы теории и практики. – Минск: Белорусская наука, 2009. – 404
- 12 Абдурагимов П.А. Правильное сочетание основных и промежуточных посевов залог продуктивного использования орошаемых земель Дагестана. В кн.: Два урожая кормовых культур в год. – М.: "Колос", 1968 – С. 99-105.
- 13 Азикова С.Г. Структура смешанных пожнивных посевов яровых культур в предгорной зоне КБР // Материалы юбилейной конференции КБГСХА. Серия «Агрономические науки». – Нальчик: КБГСХА. 2001. – С. 69-71.
- 14 Асхабов Р. Ю. Роль пожнивной сидерации в повышении продуктивности насыщенных зерновыми севооборотов // Земледелие: РЖ / ВНИИТЭИ-Агропром. 1986. – № 11. – С. 7.
- 15 Бабичев, А. Н., Монастырский В.А. Эффективность применения сидератов на орошаемых землях Ростовской области / Пути повышения эффективности орошаемого земледелия: сб. ст. ФГНУ «РосНИИПМ» // под ред. В. Н. Щедрина. – Новочеркасск: Геликон, 2010. – Вып. 43. – С. 88-93.
- 16 Благовещенская З. К., Тришина Т. А. Сидераты в современном земледелии // Земледелие. 1987. – № 5. – С. 36-37.
- 17 Дедов А. В. Биологизация земледелия основа сохранения плодородия черноземов / Земледелие. – 2002. – N 2. – С. 10.
- 18 Монастырский, В. А. Особенности роста и развития сидератов на орошаемых землях Ростовской области / Пути повышения эффективности орошаемого земледелия: сб. ст. ФГБНУ «РосНИИПМ» / под ред. В. Н. Щедрина. – Новочеркасск: Геликон, 2011. – Вып. 45. – С. 133-135.
- 19 Постников П.А. Агроэкологический мониторинг при применении зеленых удобрений // Плодородие. 2014. – № 1. – С. 42-43.
- 20 Стемальщук В. Т. Большие выгоды пожнивной сидерации // Земледелие. 1989. – №7. – С. 47-48.
- 21 Шакиров Р.С. Сидераты и солома дополнительные источники почвенной органики // Земледелие. – 1999. – N4. – С. 38.
- 22 Atakulov T., Erzhanova K., Alkenov Y. I Increasing the productivity of irrigated land by sowing of catch crops in the south-east of Kazakhstan // International scientific conference "European Applied Sciences: modern approaches in scientific researches". Germany. 2012
- 23 Lacicowa B. Rola niektórych roslin uprawnych w polepsza-niu fitosanitarnego stanu gleby. Ochrana roslin, 1975, N 10-11.
- 24 Loschakov V.G. Einfluss der langjährigen Stoppelfruchtgrün- und Strohdüngung auf die Fruchtbarkeit von Rasenpodsolböden und den Kornerertrag. Archiv für Acker- und Pflanzenbau und Bodenkunde. 2002. Vol. 48. N. 6. pp. 593-602.
- 25 Schnitzer, M. Recent advances in humic acid research [Текст] / – Proc. Int. Peat. Symp. Bemidji, Minn, Oct.21-23, 1982, P.17-43.
- 26 Spielhaus G. Bewährte Stoppelsaaten zur Gründüng. Top agrar, 1973, 7: 3
- 27 Steinbrenner K., Smukalski LI. Willibald N. Untersuchungen über den Einfluss der Strohbeseitigung, Gründüngung und Bodenbearbeitung bei Weizen-Monokultur. Diss Hohenheim, 1975. 977, 18,10:475-47
- 28 Vetter H. Sommerfrchte und Gründüngung in getreidereichen Fruchtfolgen,, -Zeitschrift für Acker- und Pflanzenbau, 1971, 12:1-9.
- 29 Willibald N. Untersuchungen über den Einfluss der Strohbeseitigung, Gründüngung und Bodenbearbeitung bei Weizen-Monokultur. Diss Hohenheim, 1975.

**Н.К. Корбозова<sup>1,2\*</sup>, Н.В. Терлецкая<sup>1,2</sup>,  
Н.О. Кудрина<sup>1,2</sup>, Н.З. Ахтаева<sup>1</sup>**



<sup>1</sup>Казахский национальный университет им аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы  
<sup>2</sup>РГП на ПХВ «Центральная лаборатория биоконтроля, сертификации и предклинических испытаний»  
 Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, Казахстан, г. Алматы  
 \*e-mail: Naz-ik@mail.ru

## **АНАТОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОРНЕВИЩА И КОРНЯ *RHODIOLA SEMENOWII***

Для расширения номенклатуры отечественного лекарственного растительного сырья и получения новых фитопрепаратов актуально привлечение дикорастущей флоры. Одним из новых представителей является *Rhodiola semenovii* Boriss. Первым этапом фармакогностического анализа свойств *Rhodiola semenovii* (Regel & Herder) Boriss. является анализ корневища и корня, в которых, по данным литературы, содержатся фенольные гликозиды, флавоноиды, дубильные вещества, эфирные масла, макро- и микроэлементы, и др. Целью настоящего исследования является гистохимический анализ и оценка анатомических особенностей подземных органов *Rhodiola semenovii* Boriss. Результаты показывают что *Rhodiola semenovii* Boriss имеет кору корневища светло-желтого цвета, который можно увидеть при соксабливании наружного слоя коры. Изучение микропрепараторов корневища *Rhodiola semenovii* Boriss показала что коравая часть паренхимы рыхлая, не ровная, в некоторых участках крупная. Проводящая система корневища пучкового строения расположены в центре корня в несколько рядов. Своеобразное расположение флоэмы в виде удлиненных участков. Радиальное строение ксилемы корня и одиночное расположение сосудов в центре осевого цилиндра. Наличие простых крахмальных зерен в паренхимных тканях корневища и корня. Паренхимные клетки различного строения. Данный анализ необходим нам для более детального изучения скопления БАВ в клетках различных органов на данном этапе корня *Rhodiola semenovii*.

**Ключевые слова:** лекарственные растения, гистохимия, ксилема, флоэма, корень.

N.K. Korbozova<sup>1,2\*</sup>, N.V. Terletskaya<sup>1,2</sup>, N.O. Kudrina<sup>1,2</sup>, N.Z. Ahtaeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>Republican state enterprise on the right of economic management "Central Laboratory of Biocontrol, Certification and Preclinical Trials" of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: Naz-ik@mail.ru

### **Anatomical analysis of root and rhizome *Rhodiola semenowii***

To expand the range of domestic medicinal plant materials and obtain new herbal remedies, it is important to attract wild flora. One of the newest representatives is *Rhodiola semenovii* Boriss. The first stage of the pharmacognostic analysis of the properties of *Rhodiola semenovii* (Regel & Herder) Boriss. is the analysis of the rhizome and root, which, according to the literature, contain phenolic glycosides, flavonoids, tannins, essential oils, macro- and microelements, etc. The aim of this study is histochemical analysis and assessment of the anatomical features of the underground organs of *Rhodiola semenovii* Boriss. The results show that *Rhodiola semenovii* Boriss has a light yellow rhizome bark which can be seen when the outer bark is scraped off. The study of micropreparations of the rhizome of *Rhodiola semenovii* Boriss showed that the crust of the parenchyma is loose, uneven, in some areas large. The conducting system of the rhizomes of the bundle structure are located in the center of the root in several rows. A peculiar arrangement of phloem in the form of elongated sections. Radial structure of the root xylem and a single arrangement of vessels in the center of the axial cylinder. The presence of simple starch grains in the parenchymal tissues of the rhizome and root. Parenchymal cells of various structures. We need this analysis for a more detailed study of the accumulation of biologically active substances in the cells of various organs at this stage of the root *Rhodiola semenovii*.

**Key words:** medicinal plants, histochemistry, xylem, phloem, root.

Н.К. Корбозова<sup>1,2\*</sup>, Н.В. Терлецкая<sup>1,2</sup>, Н.О. Кудрина<sup>1,2</sup>, Н.З.Ахтаева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі ғылым Комитетінің «Биобақылау, сертификаттау және клиникага дейінгі зерттеулердің орталық зертханасы» шаруашылық жүргізу құқығындағы Республикалық Мемлекеттік кәсіпорны, Қазақстан, Алматы қ. \*e-mail: Naz-ik@mail.ru

### *Rhodiola semenovii* тамыры мен тамыршасының анатомиялық сараптамасы

Отандық дәрілік өсімдік наменклатурасының санын арттыру және жаңа дәрілік препараторды алу үшін жабайы өсімдіктерді зерттеп қосу қажет. Осындай өсімдіктердің жаңа өкілдерінің бірі *Rhodiola Semenovii* Boriss. *Rhodiola Semenovii* (Regel & Herder) Boriss өсімдігінің фармакологиялық қасиеттерін талдаудың бірінші кезеңі болып әдебиет көздерінің деректеріне сәйкес, тамыр мен тамыршаны талдау кезінде бөлінген фенолды гликозидтер, флавоноидтер, дубилді заттар, эфир майлары, макро- және микроэлементтер, және т.б. Бұл зерттеудің маңызы – *Rhodiola semenovii* Boriss өсімдігінің жер асты мүшелерінің анатомиялық ерекшеліктерін гистохимиялық талдау және бағалау. Зерттеулер көрсеткендегі *Rhodiola semenovii* Boriss өсімдігінің тамырының микропрепарат кесіндісінен байқалғандай тамыр қабығының паренхимасы борпылдақ және бір тегіс емес, кейбір аймақтарында ірі болып келеді. Шоғырлы құрылымды тамыр жүйесінің өткізгіш шоқтары тамырдың ортасында бірнеше қатарда орналасқан. Флоэманның созылған қима түрінде ерекше орналасуы байқалады. Түбір ксилемасының радиалды құрылымы және осьтік цилиндрдің ортасындағы тамырлар біркелкі орналасқан. Тамыр мен тамырдың паренхималық тіндерінде қарапайым крахмал дәндереі болады. Паренхималық жасушалар әртүрлі құрылымды. Аталған сараптама бізге *Rhodiola semenovii* Boriss өсімдігінің түрлі мүшелерінде жиналған ББЗ мөлшері мен кездесуін мүқият фитохимиялық сараптама жүргізу кезінде қажет болады.

**Түйін сөздер:** дәрілік өсімдіктер, гистохимия, ксилема, флоэма, тамыр.

## Введение

В настоящее время, несмотря на значительное количество современных лекарственных препаратов, полученных синтетическим путем, интерес к лекарственным средствам, основанным на природных биологически активных веществах, стремительно возрастает. Это объясняется частыми побочными эффектами синтетических лекарственных препаратов, в том числе негативным влиянием на печень, почки, ЦНС и возрастанием числа аллергических реакций [1]. Лекарственные средства растительного происхождения, воздействуя системно на организм, регулируют функции различных взаимосвязанных систем и органов, почти не имеют побочных эффектов, и могут применяться как для лечения, так и для профилактики самых различных заболеваний [2]. Значительную долю среди них составляют растительные бронхолегочные, слабительные, желчегонные, седативные и другие лекарственные средства [3].

Для расширения номенклатуры отечественного лекарственного растительного сырья и получения новых фитопрепаратов актуально привлечение дикорастущей флоры. Одним из новых представителей является родиола Семёнова (*Rhodiola Semenovii* (Boriss)). Это многолетнее дикорастущее травянистое растение семейства

толстянковых – *Crassulaceae*, произрастающее по берегам горных рек, высотой до 60 см, листья зеленые, мягкие, корневище толстое, ветвистое [4]. Растения семейства толстянковые (*Crassulaceae* DC.), к которому относится и *Rhodiola semenovii* (Regel & Herder) Boriss., являются аккумуляторами органических кислот, что связано с особенностями их метаболизма как суккулентов[5].

По сравнению с хорошо известным адаптогенным растением *Rhodiola rosea* фитохимические составляющие двух других видов *Rhodiola* (*R. heterodonta* и *R. semenovii*) были выяснены и охарактеризованы. Две основные фитохимические группы входящие в состав растения фенольные и цианогенные гликозиды и проантокинидины были выделены и идентифицированы у трех видов. Химическое сходство среди трех видов не наблюдалось; однако, у каждого вида были различия в фитохимических составляющих. *R. heterodonta* содержала недавно обнаруженный фенилэтаноидный гликозид, гетеродонтозид, в дополнение к известным соединениям тирозол, виридозид, салидрозид и родиоцианозид A. Оба *R. heterodonta* и *R. rosea* содержали соединения фенилэтаноид, пропаноид, которые не были обнаружены в *R. Semenovii* [6]. Адаптогены являются модификаторами реакции на стресс, которые, как считается, оказывают важ-

ное влияние на активность цитокинов и иммунный ответ [7]. Все больше доказательств показывает положительное влияние видов родиолы на метаболические нарушения. *Rhodiola crenulata*, один из видов *Rhodiola*, традиционно использовался в Китае, целое растение использовалось перорально или местно для лечения заболеваний легких, кровотечений, ожогов, травм мягких тканей, импотенции и так далее [8].

Современные фармацевтические исследования выявили более 140 соединений, выделенных из видов родиолы, включая флавоны, кумарины, летучие вещества, антрахинон и органические кислоты. Кроме того, исследователи обнаружили, что салидрозид присутствует во всех видах рода *Rhodiola*. Фармакологические исследователи показали, что в клинической практике и экспериментальных исследованиях препараты *Rhodiola rosea* L., экстракты и активные соединения выполняют множество биологических функций, включая иммунную регуляцию, антиоксидантное и ингибирование пролиферации раковых клеток. Поскольку воспалительный ответ играет важную роль в патологическом процессе различных заболеваний, противовоспалительная терапия стала жизненно важным методом лечения различных заболеваний, таких как сепсис, эндотоксемия, сердечно-сосудистые заболевания, диабет, нейродегенеративные заболевания и рак [9]. В связи с этим возрастает актуальность всестороннего изучения лекарственных свойств других представителей рода *Rhodiola* и, в частности, *Rhodiola semenovii* (Regel&Herder) Boriss. Возможно, такой подход позволит выявить альтернативные возможности получения новых ценных фитопрепаратов [5].

В настоящее время, даже в странах с высокоразвитыми технологиями (США, Канада, Россия, Корея и др.) в различных областях геронтологии широко используются анти-эйджинговые препараты на основе лекарственных растений. Системный характер их действия и применение, в случае их доказанной безопасности, обуславливает их высокую эффективность практического использования в самых различных областях медицины [10-13]. Предыдущие исследования показали, что *Rhodiola semenovii* Boriss. оказывает превосходный иммунорегуляторный эффект и ослабляет воспалительные повреждения при различных заболеваниях посредством регуляции дифференцировки иммунных клеток, активации путей воспалительной передачи сигналов и секреции воспалительных факторов [9].

По данным литературы в клетках корневища и корня содержатся фенольные гликозиды, флавоноиды, дубильные вещества, эфирные масла, макро- и микроэлементы, и др. [14]. Первым этапом фармакогностического анализа свойств корневища и корня *Rhodiola Semenovii* (Regel & Herder) Boriss. является их анатомический анализ, который по данным литературы не был ранее исследован у данного вида. Поэтому целью настоящего исследования является гистохимический анализ и оценка анатомических особенностей подземных органов *Rhodiola semenovii* Boriss.

## Материалы и методы исследования

Объектом исследования являются собранные в фазу цветения и плодоношения, очищенные от земли, разделенные на фрагменты и высушенные корневища и корни многолетнего дикорастущего травянистого растения родиолы –*Rhodiola semenovii* Boriss., сем. толстянковых –*Crassulaceae*. Растительный материал отбирали в фазе плодоношения в 20 км к юго-востоку от г. Алматы в районе Большого Алматинского озера. Для приготовления препаратов использовали свежее и высушенное сырье.

Для изготовления микропрепаратов предварительно проводили нагревание сырья в воде [15]. В термостойкую колбу вместимостью 50 мл помещали до 10 г корней родиолы, заливали «до зеркала» очищенной водой и кипятили на водяной бане в течение 10 мин [16]. Затем колбу охлаждали, сырье переносили в чашку Петри, заливали спирто-водно-глицериновой смесью (1:1:1) и выдерживали при комнатной температуре в течение 2 ч для набухания [17, 18, 19]. Просветление микропрепарата проводили двумя способами: а) несколько кусочков сырья помещали в колбу или пробирку, добавляли 5% водный раствор натрия гидроксида (1:1) и кипятили в течение 1-2 мин. Затем содержимое выливали в чашку Петри (или фарфоровую чашку), жидкость сливали и сырье тщательно промывали водой очищенной (от интенсивно окрашенных антраценпроизводных). Вынимали кусочки сырья скальпелем или лопаточкой, делали тонкие срезы и помещали на предметное стекло в каплю раствора хлоралгидрата или глицерина; б) Кусочки сырья кипятили в растворе хлоралгидрата, разведенного водой (1:1), в течение 5-10 мин. (до просветления). Просветленные кусочки сырья

помещали на предметное стекло в каплю раствора хлоралгидрата или глицерина, разделяли скальпелем или препаровальной иглой на две части, одну из них осторожно переворачивали, делали тонкие срезы. Объекты для микроскопии накрывали покровным стеклом, слегка подогревали до удаления пузырьков воздуха и после охлаждения рассматривали с обеих сторон под микроскопом сначала при малом ( $\times 40$ ), затем при большом ( $\times 100$ ) увеличении с помощью микроскопа MC-300 (MICROS, Austria) по технике микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья [20].

Для обнаружения диагностических признаков в тканях подземных органов растения использовали следующие гистохимические реакции:

- 1) с раствором Люголя на крахмал и крахмальные зерна (окрашиваются в синий, сине-фиолетовый цвет);
- 2) с 33% водным раствором натрия гидроксида на опробковевые оболочки (суберин) (окрашиваются в красный цвет).

### Результаты исследования и их обсуждение

*Rhodiola semenovii* (Regel&Herder) Boriss. растет на увлажненных, каменистых почвах и по берегам рек, в альпийском поясе до 3500 м выс. Встречается в 25 Заилийский Кунгей Ала-тау [21]. Самые высокогорные виды *Rhodiola*, такие как родиола четырехмерная, родиола ярко-красная, не выносят сильной жары летом. Но родиола Семенова – *Rhodiola semenovii* – предпочитает солнечное местоположение. Этот вид *Rhodiola* требователен к влажности почвы, предпочитает почву хорошо дренированную, питательную. Размножается семенами и вегетативно – делением корневищ и черенкованием отрастающих побегов весной [22]. Сеянцы не капризны, но требуют достаточного освещения и ровного умеренного полива. [23]. Растения *Rhodiola semenovii* – вегетативно неподвижные стержне-корневые короткокорневищные многолетники [24]. Хотя в период роста растения довольно влаголюбивы, после цветения их переувлажнение недопустимо. Цветение наступает на 3-4 год после посева [23]. Соцветие длинная, густая колосовидная кисть. Цвет лепестков от светло-зеленого до белого [25]. На одном месте растения *Rhodiola semenovii* способны без пересадки жить долго, но пересадку, если она необходима, переносят легко [23].

### Внешние признаки цельного сырья *Rhodiola semenovii* Boriss.

Как следует из данных литературы, корневище Родиолы Семенова толстое и ветвистое [23], на поперечном срезе можно увидеть, что корневище покрыто многорядной перидермой, после которой расположена 2-3 рядная гиподерма. Клетки гиподермы толстостенные, тангенциально вытянутые [22]. В верхней части растение покрыто чешуйчатыми, треугольными листьями около 5 мм длиной и 4 мм шириной, постепенно переходящими в зеленые стеблевые листья [24].

В нашем исследовании были представлены фрагменты корневищ и корней разнообразной формы – цилиндрические с многочисленными короткими ответвлениями, клубневидные с неровной бугристой поверхностью из-за множества почек возобновления и следов отмерших стеблей.

Как показано на рисунке 1, поверхность корневищ была покрыта гладкой перидермой. Перидерма прочная, снималась с корневища пластами и кольцами. При соскабливании наружного слоя пробки обнаруживались ее внутренние слои светло-желтого цвета. Части корневищ длиной до 7-12 см, диаметр 1,5-4,5 см, твердые, морщинистые, со следами отмерших стеблей и остатками чешуевидных листьев. У корневищ имелись немногочисленные корни длиной 3-6 см, толщиной 1-1,5 см. Цвет на изломе был беловатый или светло-коричневый. Запах специфический. Вкус горьковато-вязкий.

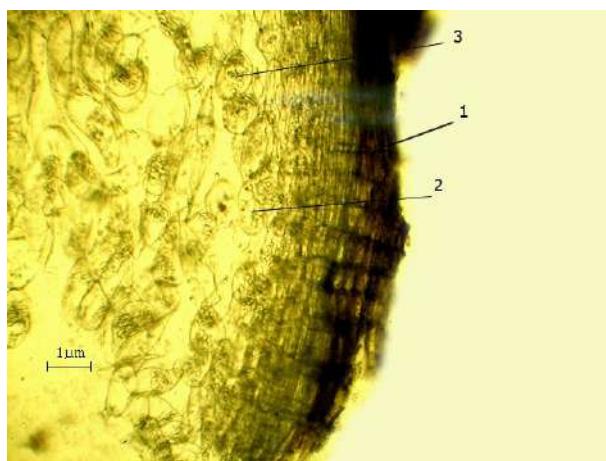


Рисунок 1 – Морфология корня

Микроскопия корневища *Rhodiola semenovii* Boriss.

Изучение микропрепараторов корневища *Rhodiola semenovii* Boriss показала что коравая часть паренхимы рыхлая не ровная, в некоторых участках крупная. Проводящая система корневища пучкового строения. Как следует из ри-

сунка 2, на поперечном срезе корневища видна слоистая корка, состоящая из 3-4 параллельных слоев перицермы и лежащих между ними тонких слоев паренхимы.



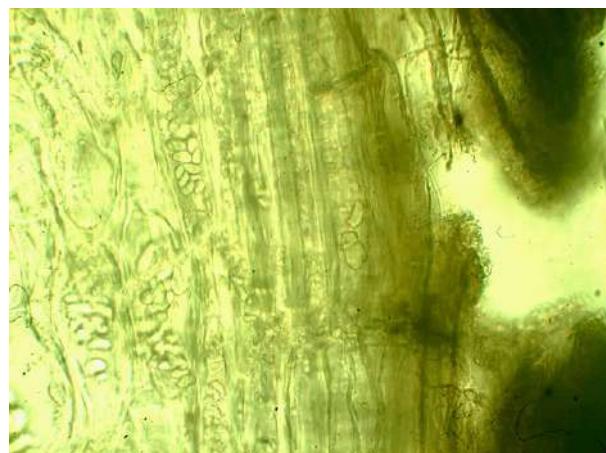
1 – перицерма, 2 – паренхима коры, 3 – крахмальные зерна

**Рисунок 2** – Периферическая часть корневища *Rhodiola semenowii*, ув. x180

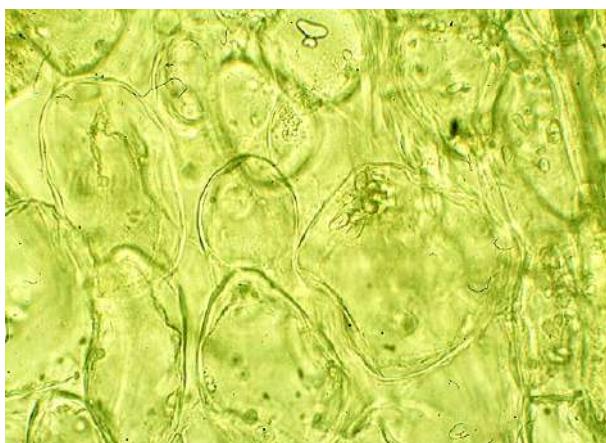
В проводящих пучках каждый пучок состоит из нескольких сосудов и клеток флоемы. Пространство между сосудами широкий, на поперечном срезе корневища форма округлая. Сосуды в некоторых местах расположены группами в некоторых по отдельности. На рисунке 3 показано, что внутренний слой перицермы – феллодерма – имеет четко видимые утолщенные оболочки клеток. Клетки удлиненной овальной формы.

Форма не однородная. Границы видны не четко. Клетки рыхлые. Можно увидеть новообразованные клетки вторичной коры.

Радиальные лучи широкие, можно сразу отличить от других клеток. Паренхимные клетки коры крупные, в них содержаться крахмальные зерна. Перицерма состоит из нескольких рядов тонкой новообразованной стенки. За ними наблюдается первичная кора, клетки её расположены друг за другом в ряд. Клетки не одинаковые. Дальше располагается флоема. Камби также хорошо виден на срезе. Основная ткань корневища представлена рыхлой паренхимой, состоящей из округлых клеток с толстыми оболочками и обильным зернистым содержимым. Крахмальные зерна простые, округлые или овальные, 5-20 мкм в диаметре (рис. 4, 6).



**Рисунок 3** – Перицерма корневища *Rhodiola semenowii*, ув. x720 –



а)периферийная часть, б) участок возле проводящего пучка



**Рисунок 4** – Паренхимные клетки коры с крахмальными зернами, ув. x720

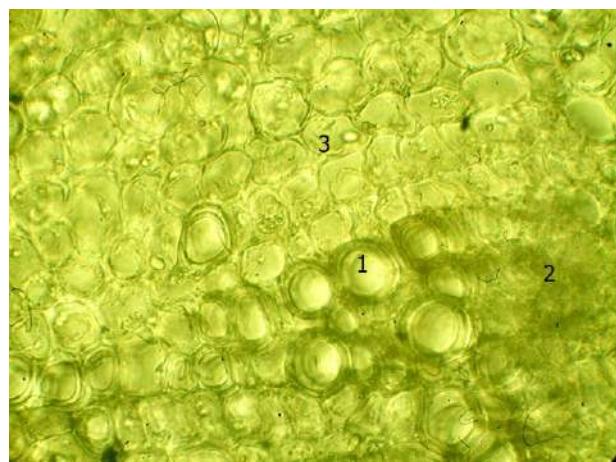
Как следует из рисунка 5, корневище *Rhodiola Semenovii* имеет пучковый тип строения. Проводящие пучки открытые, коллатеральные, веретеновидные, расположены кольцом, ориентированы к периферии корневища флоэмой и к центру – ксилемой. Наиболее крупные проводящие пучки образуют в периферической части кольцо. Возможно наличие второго неполного кольца более мелких проводящих пучков, в которых флоэма малоразвита и ориентирована к центру, а ксилема – к периферии. Для корневища радиолы характерно слабое развитие флоэмы, в

более крупных пучках она подвергается облитерации, а в мелких пучках нередко отсутствует. Сосуды ксилемы узкие, с кольчатым и лестнично-спиральным утолщением, что хорошо видно на продольных срезах, где проходят анастомозы пучков или разветвления (рис. 5)

На рисунках 6, 7 показано, что паренхима сердцевины корневища состоит из крупных клеток, заполненных крахмалом. В клетках паренхимы средней части корня крахмальных зерен больше чем у паренхимных клеток расположенных ближе к коре.



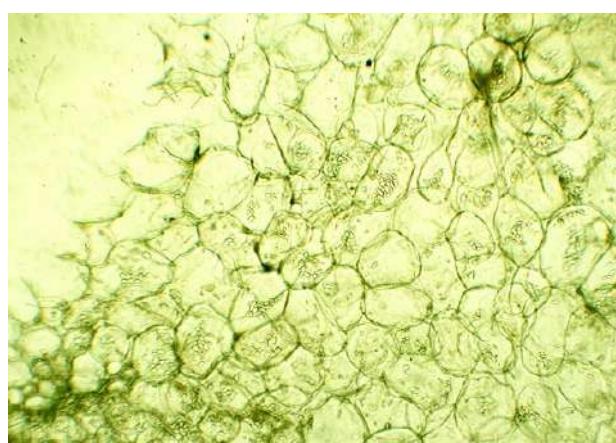
а



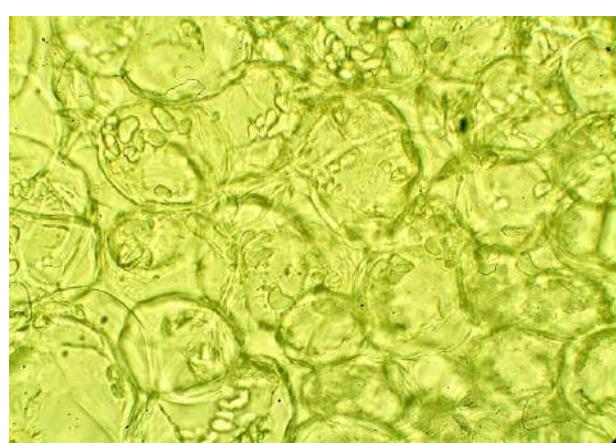
б

а) периферийная часть, б) участок возле проводящего пучка  
1 – ксилема, 2 – флоэма, 3 – паренхимные клетки

Рисунок 5 – Проводящие пучки, ув. х720



а



б

а) ув. х 180, б) ув. х 720

Рисунок 6– Сердцевинная часть корневища, паренхимные клетки с крахмальными зернами

Как видно из рисунка 7 крахмальные зерна различной формы, расположены в разброс. В средней части корня крахмальные зерна расположены больше чем ближе к коре.



Рисунок 7 – Крахмальные зерна (x720)

На поперечном срезе корневище покрыто многорядной перидермой, за ними располагаются 2-3 рядная гиподерма. Клетки гиподермы толстые, вытянутые. Коравая паренхима рыхлая.

## Заключение

Таким образом, было проведено гистохимические исследования *Rhodiola semenowii* Boriss, показаны особенности гистоструктуры корней и корневищ, выявлены микроструктуры характерные для данного вида, произрастающего в горной местности в окрестностях 20 км к юго-востоку от г. Алматы в районе Большого Алматинского озера.

Как следует из данных представленного эксперимента, диагностическими анатомическими признаками для подземной части *Rhodiola semenowii* Boriss. является наличие корки светло-желтого цвета, обнаруживаемой при соскабливании наружного слоя коры. Своеобразное расположение флоэмы в виде удлиненных участков. Радиальное строение ксилемы корня и одиночное расположение сосудов в центре осевого цилиндра. Наличие простых крахмальных зерен в паренхимных тканях корневища и корня.

Результаты данного анализа будут использованы для более детального изучения скопления БАВ в клетках различных органов растения *Rhodiola semenowii* Boriss.

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

## Литература

- 1 Валиева Н.Г. Лекарственные растения – источник биологический активных веществ // Казанская академия ветеринарной медицины. –2010. –№4. – С. 306-311.- Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/>
- 2 Решетников В.Н. Государственная народнохозяйственная программа развития сырьевой базы и переработки лекарственных и пряно-ароматических растений на 2005-2010 годы «Фитопрепараты» – инновации в действии //ГНУ «Центральный бот.сад НАН Беларусь». – Минск: Республика Беларусь, 2010. – С.10-15.
- 3 Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов. – Самара: СамГМУ, 2004. –1180 с.
- 4 Наниева Л.Б. Хозяйственно-биологические показатели представителей семейства Crassulaceae DC. (толстянковые), рода *Sedum* s.l.: *S. spectabile*, *S. caucasicum*, *S. oppositifolium* и *S. lineare* в условиях РСО-Алания // Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук: 03.02.14 Линда Ботазовна Наниева. – В., 2014. – 142 с.
- 5 Kittredge, J. S. Behavioral bioassays and biologically active compounds // Marine Technology Society In: Food-drugs from the sea, Proceedings. Ed. by H. H. Webber and G. D. Ruggieri. 1974. pp 467–475
- 6 Gad G. Yousef, Mary H. Grace, Diana M. Cheng, Igor V. Belolipov, Ilya Raskin, Mary Ann Lila Comparative phytochemical characterization of three *Rhodiola* species// Phytochemistry. Volume 67, Issue 21, November 2006, Pages 2380-2391
- 7 Yingying Liua, Lili Maa, Xiaomeng Maa, Zhaoyu Chena, Hao Chena, Lei Sia, Xueying Maa, ZhilingYub, Xiaohong Chena. Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by *Rhodiola rosea*, a natural adaptogen.// Biomedicine & Pharmacotherapy Volume 125, May 2020, 109960
- 8 Yuan C, Jin Y, Yao L, Liu L, Li J, Li H, Lai Y, Chen Z, Pan Z, Han T, Ke D, Li C, Wang S, Wang M, Yamahara J, Wang J. *Rhodiola crenulata* root extract ameliorates fructose-induced hepatic steatosis in rats: Association with activating autophagy.// Biomed Pharmacother. 2020 May;125:109836. doi: 10.1016/j.biopha.2020.109836. Epub 2020 Jan 30.
- 9 Chen, L. Yao, D. Ke, W. Cao, G. Zuo, L. Zhou, J. Jiang, J. Yamahara, Y. Li, J. Wang Treatment with *Rhodiola crenulata* root extract ameliorates insulin resistance in fructose-fed rats by modulating sarcolemmal and intracellular fatty acid translocase/CD36 redistribution in skeletal muscle// Biomedicine & Pharmacotherapy, Volume 121, January 2020, 109552
- 10 Geroprotectors: A Unified Concept and Screening Approaches Alexey Moskalev, Elizaveta Chernyagina, Anna Kudryavtseva and Mikhail Shaposhnikov3 Aging Dis. 2017 May; 8(3): 354–363. Published online 2017 May 2.

- 11 Developing criteria for evaluation of geroprotectors as a key stage toward translation to the clinic Alexey Moskalev, Elizaveta Chernyagina, Vasily Tsvetkov, Alexander Fedintsev, Mikhail Shaposhnikov, Vyacheslav Krut'ko, Alex Zhavoronkov and Brian K. Kennedy. *Aging Cell*. Volume 15, Issue 3, Version of Record online: 11 MAR 2016
- 12 Six plant extracts delay yeast chronological aging through different signaling pathways Vicky Lutchman,<sup>1</sup> Pamela Dakik,<sup>1</sup> Mélissa McAuley,<sup>1</sup> Berly Cortes,<sup>1</sup> George Ferraye,<sup>1</sup> Leonid Gontmacher,<sup>1</sup> David Graziano,<sup>1</sup> Fatima-Zohra Moukhariq,<sup>1</sup> Éric Simard,<sup>2</sup> and Vladimir I. Titorenko<sup>1</sup> *Oncotarget*. 2016 Aug 9; 7(32): 50845–50863. Published online 2016 Jul 18.
- 13 Discovery of plant extracts that greatly delay yeast chronological aging and have different effects on longevity-defining cellular processes, Vicky Lutchman, *Oncotarget*. 2016 Mar 29; 7(13): 16542–16566.
- 14 Mohandes F., Particle size and shape modification of hydroxyapatite nanostructures synthesized via a complexing agent-assisted route // Salavati-Niasari M., (PMID:24857496), *Materials for Biological Applications* 13 Apr – Materials Science & Engineering. C, 2014, 40:pp 288-298.
- 15 Вехов В.Н., Лотова Л.И., Филин В.Р. Практикум по анатомии и морфологии высших растений. – М., 1980. – 196 с.
- 16 16. Прозина М.Н. Ботаническая микротехника. – М.: Высшая школа, 1960. – 208 с.
- 17 17. Кулиев Р.З., Анатомическая диагностика корневищ и корней родиолы Семенова// Фармацевтический журнал , №2, 2004.- С.32-34.
- 18 18. Brown. W. Variation in anatomy associations and origins of Kranztissue tner // J. Bot. – 1975. – Vol. 62, № 4. – P. 395-402
- 19 19. Барыкина Р.П., Чубатова Н.В. Большой практикум по ботанике. Экологическая анатомия цветковых растений. – М.: Тов-во науч.зд. КМК, 2005. – 77 с.
- 20 Государственная фармакопея Республики Казахстан Т.І. – Алматы: Жибек жолы; 2008
- 21 Кулиев Р.З. Анатомическая диагностика корневищ и корней родиолы Семенова // Фармацевтический журнал –2004. –№2. – С. 32-34.
- 22 Мазуренко М. А.Андреева Суккуленты на Колыме //В мире растений. – 2002. – №12. 14 с.
- 23 Борисова А.Г. Конспект системы семейства Crassulaceae DC. флоры СССР (добавления и изменения) // Новости систематики высших растений. – Л.: 1969. – Т.6. – С. 112–121
- 24 Алексеева В.А., Голотова Т.П., Михайлова Г.С. Государственная фармакопея, // Медицина. – 11-е изд. вып. 2. – М., 1990. – С. 143-159.
- 25 КрасновЕ.А., Саратикова.С., Суров Ю.П.. Флора Западной Сибири // Растения семейства Толстянковых. – 1964. – Т. 12.– 327 с.

### References

- 1 Valieva N.G. (2010) Lekarstvennye rastenia – istochnik biologicheskii aktivnykh veshchestv [Medicinal plants – a source of biological active substances] Kazanskaia akademia veterinarnoi meditsiny4, pp. 306-311 – Retrieved from <https://cyberleninka.ru/>.
- 2 Reshetnikov V.N., Gapanovich V.N., & Volodko I.K. (2010). Gosudarstvennaia narodnokhoziaistvennaia programma razvitiia syrevoi bazy i pererabotki lekarstvennykh i priano-aromaticeskikh rastenii na 2005-2010 gody «Fitopreparaty» -innovatsii v deistvii [State National Economic Program for the Development of the Raw Material Base and Processing of Medicinal and Spicy Aromatic Plants for 2005-2010 “Phytopreparations” – innovations in action] // GNU «Tsentralnyi bot.sad NAN Belarusi».– Minsk: pp.10-15.
- 3 Kurkin V.A. (2004) Farmakognosija: Uchebnik dlia studentov farm.vuzov [Pharmacognosy: A book for Pharmaceutical Students].-Samara: SamGMU.
- 4 Nanieva L.B. (2014). Khoziaistvenno-biologicheskie pokazateli predstavitelei semeistva Crassulaceae DC. (tolstiankovye), roda Sedum s.l.: S. spectabile, S. caucasicum, S. oppositifolium i S. lineare v usloviakh RSO-Alaniia [Economic and biological indicators of representatives of the Crassulaceae DC family. (Crassulaceae), genus Sedum s.l.: S. spectabile, S. caucasicum, S. oppositifolium and S. lineare under conditions of North Ossetia-Alania]. Candidates thesis. Vladikavkaz.
- 5 Kittredge, J. S. Behavioral bioassays and biologically active compounds // Marine Technology Society In: Food-drugs from the sea, Proceedings. Ed. by H. H. Webber and G. D. Ruggieri. 1974. pp 467–475
- 6 Gad G. Yousef, Mary H. Grace, Diana M. Cheng, Igor V. Belolipov, Ilya Raskin, Mary AnnLila Comparative phytochemical characterization of three Rhodiola species// *Phytochemistry*. Volume 67, Issue 21, November 2006, Pages 2380-2391
- 7 Yingying Liua, Lili Maa, Xiaomeng Maa, Zhaoyu Chena, Hao Chena, Lei Sia, Xueying Maa, Zhiling Yub, Xiaohong Chena. Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by Rhodiola rosea, a natural adaptogen.// *Biomedicine & Pharmacotherapy* Volume 125, May 2020, 109960
- 8 Yuan C, Jin Y, Yao L, Liu L, Li J, Li H, Lai Y, Chen Z, Pan Z, Han T, Ke D, Li C, Wang S, Wang M, Yamahara J, Wang J.Rhodiola crenulata root extract ameliorates fructose-induced hepatic steatosis in rats: Association with activating autophagy.// *Biomed Pharmacother*. 2020 May;125:109836. doi: 10.1016/j.biopha.2020.109836. Epub 2020 Jan 30.
- 9 Chen, L. Yao, D. Ke, W. Cao, G. Zuo, L. Zhou, J. Jiang, J. Yamahara, Y. Li, J. Wang Treatment with Rhodiola crenulata root extract ameliorates insulin resistance in fructose-fed rats by modulating sarcolemmal and intracellular fatty acid translocase/CD36 redistribution in skeletal muscle// *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Volume 121, January 2020, 109552
- 10 Geroprotectors: A Unified Concept and Screening Approaches Alexey Moskalev, Elizaveta Chernyagina, Anna Kudryavtseva and Mikhail Shaposhnikov3 Aging Dis. 2017 May; 8(3): 354–363. Published online 2017 May 2.

- 11 Developing criteria for evaluation of geroprotectors as a key stage toward translation to the clinic Alexey Moskalev, Elizaveta Chernyagina, Vasily Tsvetkov, Alexander Fedintsev, Mikhail Shaposhnikov, Vyacheslav Krut'ko, Alex Zhavoronkov and Brian K. Kennedy. Aging Cell. Volume 15, Issue 3, Version of Record online: 11 MAR 2016
- 12 Six plant extracts delay yeast chronological aging through different signaling pathways Vicky Lutchman,<sup>1</sup> Pamela Dakik,<sup>1</sup> Mélissa McAuley,<sup>1</sup> Berly Cortes,<sup>1</sup> George Ferraye,<sup>1</sup> Leonid Gontmacher,<sup>1</sup> David Graziano,<sup>1</sup> Fatima-Zohra Moukhariq,<sup>1</sup> Éric Sismard,<sup>2</sup> and Vladimir I. Titorenko<sup>1</sup> Oncotarget. 2016 Aug 9; 7(32): 50845–50863. Published online 2016 Jul 18.
- 13 Discovery of plant extracts that greatly delay yeast chronological aging and have different effects on longevity-defining cellular processes, Vicky Lutchman, Oncotarget. 2016 Mar 29; 7(13): 16542–16566.
- 14 Mohandes F., Particle size and shape modification of hydroxyapatite nanostructures synthesized via a complexing agent-assisted route // Salavati-Niasari M., (PMID:24857496), Materials for Biological Applications 13 Apr – Materials Science & Engineering. C, 2014, 40:pp 288-298.
- 15 Vekhov V.N., Lotova L.I., Filin V.R. Praktikum po anatomii i morfologii vysshikh rastenii (1980) [Workshop on the anatomy and morphology of higher plants].- Moskva,. – 196 P.
- 16 Prozina M.N. Botanicheskaya mikrotekhnika (1960) [Botanical Microtechnology]. – M.: Vysshaia shkola, 208p.
- 17 Kuliev R.Z. Anatomicheskaya diagnostika kornevish i kornej rodioly semenova (2004) [Anatomical diagnostics of rhizomes and roots of Rhodiola Semenov] farmacevticheskij zhurnal №2-S.32-34-18.
- 18 Brown. W. (1975) Variation in anatomy associations and origins of Kranztissue tner. J. Bot. –Vol. 62, № 4. –pp. 395-402
- 19 Barykina R.P. Chubatova N.V. Bolshoj praktikum po botanike (2005) [Big workshop in botany. Ecological anatomy of flowering plants] Ekhologicheskaya anatomiya cvetkovykh rastenij.- M.: Tov-vo nauch .zd. KMK..- 77s.
- 20 Gosudarstvennaia farmakopeia Respubliki Kazakhstan [State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan] T.I. Almaty: Zhibek zholy; 2008
- 21 Kuliev R.Z. (2004). Anatomicheskaya diagnostika kornevishch i kornei rodioly Semenova [Anatomical diagnosis of rhizomes and roots of Rhodiola Semenov] Farmatsevticheskii zhurnal 2, pp. 32-34.
- 22 Mazurenko M. (2002) Sukkulenty na Kolyme [Succulents in Kolyma] V mire rastenii 2,12, 14 P.
- 23 Borisova A.G. (1969) Konspekt sistemy sem. Crassulaceae DC. flory SSSR (dobavleniia i izmeneniia) [Abstract of the Crassulaceae DC family system. Flora of the USSR (additions and changes)] Novosti sistematiki vysshikh rastenii – Systematics news of higher plants Leningrad, 6, pp.112–121.
- 24 Alekseeva V.A., Golotova T.P., Mikhailova G.S. (1990) Gosudarstvennaia farmakopeia [State Pharmacopoeia] Meditsina – Medicine 11, 2, Moskva, pp.143-159.
- 25 Krasnov E.A., Saratikov A.S., & Surov Iu.P. (1964) Flora Zapadnoi Sibiri [Flora of Western Siberia] Rasteniiia semeistva Tolstiankovykh – Plants of the Crassulaceae 12, 327 P.

МРНТИ 34.05.17

<https://doi.org/10.26577/eb.2020.v85.i4.04>

**Ж.Ш. Рахимбердиева<sup>1\*</sup>, Ж.Ж. Каржаубекова<sup>2</sup>,  
Н.Г. Гемеджиева<sup>2</sup>, А.Н. Калиева<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Казахский Национальный женский педагогический университет, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>РГП на ПХВ «Институт ботаники и фитоинтродукции» КЛХЖМ МЭГПР РК, Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: Rakhymberdieva80@mail.ru

## **СОДЕРЖАНИЕ И КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ЭНДЕМИЧНЫХ ВИДОВ ПОЛЫНИ ЮЖНОГО КАЗАХСТАНА**

Выявление и комплексное изучение перспективных хозяйствственно ценных видов является частью оценки природных ресурсов страны. В этом отношении научный и практический интерес представляют казахстанские виды р. *Artemisia L.* (сем. Asteraceae Dumort.) как перспективные источники биологически активных соединений – эфирных масел, органических, жирных кислот, дубильных веществ и т.д., обладающих различной биологической активностью. В настоящей статье приведены результаты исследований содержания и компонентного состава эфирных масел у некоторых эндемичных и имеющих ограниченный ареал видов р. полынь *Artemisia L.* (*Artemisia cina Berg. ex Poljak.*, *A. karatavica Krasch. et Abolin ex Poljakov*, *A. porrecta Krasch. ex Poljakov*), произрастающих в Южном Казахстане. Извлечение эфирных масел осуществляли гидродистилляционным методом на аппарате Клевенджера. Компонентный состав эфирных масел у впервые исследуемых образцов р. *Artemisia L.* из Южного Казахстана определяли в центральной лаборатории ароматических растений Университета Акдениз (Турция, Анталья, 2019 г.) на хромато-масс-спектрометре Agilent 5975T LTM GC/MS/FID. Установлено, что в эфирном масле *A. cina* обнаружено и идентифицировано 15 соединений, из которых преобладают: 1,8-цинеол (более 60%) и производные туйона (8–14%). Компонентный состав эфирного масла *A. karatavica* представлен 25 соединениями, из которых преобладают: 1,8-цинеол (50%) и камфора (22%). В эфирном масле *A. porrecta* обнаружено 12 соединений, из которых преобладают производные туйона (более 75%), 1,8-цинеола (8,2%) и камфора (7,6%). Большая часть идентифицированных компонентов относится к монотерпенам, девять соединений (сабинен, β-мирцен, α-терпинен, 1,8-цинеол, γ-терпинен, π-цимен, α- и β-туйон, терпинен-4-ол) обнаружены во всех образцах. Высокое содержание 1,8-цинеола (61,7 и 50,2%) наблюдается для образцов *A. cina* и *A. karatavica*, что согласуется с литературными данными.

К индикаторам эфирных масел исследуемых объектов можно отнести 1,8-цинеол, производные туйона и камфору, общее содержание которых в эфирном масле составляет более 70%, что позволяет рекомендовать исследованные виды полыней для последующего изучения в качестве потенциальных источников растительного сырья для создания препаратов антибактериального, антивандального и противоопухолевого действия.

**Ключевые слова:** *Artemisia L.*, эфирное масло, компонентный состав, Южный Казахстан.

J.Sh. Rakhimberdieva<sup>1\*</sup>, Z.Z. Karzhaubekova<sup>2</sup>, N.G. Gemedjiyeva<sup>2</sup>, A.N. Kaliyeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kazakh National Women's Teacher Training University, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>REU REU "Institute of botany and phytointroduction" CFW MEGNR of the RK, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: Rakhymberdieva80@mail.ru

### **Content and essential oil constituents of endemic species wormwoods from South Kazakhstan**

*Artemisia L.* (family Asteraceae Dumort.) have scientific and practical interest as a source of biologically active compounds – essential oils, organic, fatty acids, tannins and etc. This article presents the results of studies on the content and composition of essential oils in some endemic and limited range species of g. *Artemisia L.* (*A. cina Berg.ex Poljak.*, *A. karatavica Krasch. et Abolin.ex Poljakov*, *A. porrecta Krasch.ex Poljakov*) which growing in South Kazakhstan. The extraction of essential oils carried out by hydrodistillation method on a Clevenger apparatus. Chemical constituents of essential oils in for the first time studied plant species belong to g. *Artemisia L.* from South Kazakhstan determined on an Agilent 5975T LTM GC / MS / FID at the central laboratory of aromatic plants at Akdeniz University (Turkey, Antalya, 2019). Fifteen compounds were found and identified in essential oil of *A. cina* where 1,8-cineole (more than 60%) and thujone derivatives (8-14%) predominate. *A. karatavica* essential oil

represented by 25 compounds where 1,8-cineole (50%) and camphor (22%) prevail. In the essential oil of *A. porrecta* 12 compounds were found where thujone derivatives (more than 75%), 1,8-cineole (8.2%) and camphor (7.6%) predominate. Most of the identified components belong to monoterpenes and nine compounds (sabinene,  $\beta$ -myrcene,  $\alpha$ -terpinene, 1,8-cineole,  $\gamma$ -terpinene,  $\rho$ -cymene,  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone, terpinen-4-ol) were found in all studied samples. A high content of 1,8-cineole (61.7 and 50.2%) is observed for the *A. cina* and *A. karatavica* samples which is consistent with the literature data.

The indicators of essential oils of the studied plants may play 1,8-cineole, thujone derivatives and camphor the total content of them in the essential oils is more than 70% which makes possible to recommend the studied species of wormwood for further investigation as a potential sources of plant raw materials for creating preparations with antibacterial, antifungal and antitumor activities.

**Key words.** *Artemisia L.*, essential oil, component constituents, South Kazakhstan.

Ж.Ш. Рахимбердиева<sup>1\*</sup>, Ж.Ж. Каржаубекова<sup>2</sup>, Н.Г. Гемеджиева<sup>2</sup>, А.Н. Калиева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Қазақ ұлттық қыздар педагогикалық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>ҚР ЭГТРМ ОШЖДК «Ботаника және фитоинтродукция институты» ШЖК РМК, Қазақстан, Алматы қ.

\*e-mail: Rakhyimberdieva80@mail.ru

### Оңтүстік Қазақстандағы жусанның эндемдік түрлеріндегі эфир майының мөлшері мен компоненттік құрамы

Шаруашылық бағалы түрлерін анықтау және кешенді зерделеу елдің табиғи ресустарды бағалаудың бөлігі болып табылады. Бұл салада ғылыми және тәжірибелік қызығушылығы биологиялық белсенділігі бар эфир майлары, органикалық, май қышқылдары бар өсімдік *Artemisia L.* түрлерін ұсынуға болады. Бұл мақалада Оңтүстік Қазақстанда өсетін кейбір эндемикалық, және шектеу түрлері бар эфир майларының мазмұны мен компоненттік құрамын зерттеу корытындылары көрсетілген. Эфир майларын алуды Клевендер жер аппаратында гидродистилляциялық әдіспен жүзеге асырған. Оңтүстік Қазақстанның алғашқы зерттеленетін үлгілерінің эфир майларының компоненттік құрамын Акденіз Университетінің хош иісті өсімдіктердің орталық зертханасында анықтаған. (Түркия, Антalia, 2019 ж.) хромато-масс-спектрометр Agilent 5975T LTM GC/MS/FID. *A. cina* эфир майында 15 компоненттік құрамы анықталды, оның ішінде 1,8-цинеол (60% жоғары) және туйон туындылары (8-14%) басым болды. *A. karatavica* эфир майының компоненттік құрамы 25 құрамамен анықталды, оның ішінде 1,8-цинеол (50%) және камфора (22%). *A. porrecta* эфир майында 12 компоненттік құрама анықталды, оның туйон туындылары (75% жоғары) 1,8-цинеол (8,2%) және камфора (7,6%). Анықталған компоненттердің басым бөлігі монотерпендерге жатады, ішіндегі тоғыз құрамы (сабинен, В-мирцен,  $\alpha$ -терпинен, 1,8-цинеол,  $\gamma$ -терпинен,  $\rho$ -цимен, а и В-туйон, терпинен-4-ол) барлық, үлгілерде анықталған. 1,8-цинеол (61,7-50,2%) жоғары мөлшері *A. cina* және *A. karatavica* үлгілерінде байқалды.

Зерттелінетін нысандардың эфир майларының индикаторына 1,8-цинеолды, туйон және камфора туындыларын жатқызуға болады, себебі олардың эфир майының жалпы құрамының 70% құрайды. Сондықтан жусанның осы зерттелген түрлерін антибактериалдық, антифунгальдік және ісікке қарсы іс-әрекеті бар препараттарды жасау үшін өсімдік шикізат көз қайнары ретінде зерделеу мақсатында ұсынуға болады.

**Түйін сөздер:** *Artemisia L.*, эфир майы, компоненттік құрамы, Оңтүстік Қазақстан.

## Сокращения и обозначения

Agilent 5975T LTM GC/MS/FID – хромато-масс-спектрометр, Innowax HP – капиллярная колонка с гелием.

## Введение

Выявление и комплексное изучение перспективных хозяйствственно ценных видов является частью оценки природных ресурсов страны.

В этом отношении научный и практический интерес представляют казахстанские виды полыни, произрастающие в различных экологических условиях, играющие важную роль в пустынной

и степной зонах в качестве естественного корма на осенних и зимних пастбищах, характеризующиеся значительными запасами сырья.

Виды р. *Artemisia L.* (сем. Asteraceae Dumort.) весьма перспективны как источники биологически активных соединений – эфирных масел, органических, жирных кислот, дубильных веществ и т.д., обладающих различной биологической активностью. Эфирные масла и экстракти, полученные из полыни, обладают антибактериальными, антивирусными, противовоспалительными, антигельминтными, противопаразитарными, антиоксидантными, антифунгальными, противоопухолевыми, противотуберкулезными свойствами [1–4].

Род полынь *Artemisia* L. насчитывает свыше 500 видов, встречающихся, преимущественно, в умеренной зоне Евразии и Северной Америки. Во флоре Казахстана по разным источникам встречается от 55 [5] до 86 видов р. *Artemisia* L., среди которых 16 эндемичных [6; 7], в том числе, редкий вид – полынь цитварная *Artemisia cina* Berg ex Poljakov [8].

Аналитический обзор имеющихся сведений о типах биологической активности, выявленных у растений флоры Казахстана, показал, что антифунгальной активностью характеризуются 13 видов р. *Artemisia* L., антибактериальной – 12, противоопухолевой – 10 видов полыни [9]. Не менее 42 казахстанских видов полыни применяются в народной медицине и только 6 видов (*Artemisia absinthium* L., *A. cina* Berg. ex Poljak., *A. glabella* Kar. et Kir., *A. leucodes* Schrenk, *A. taurica* Willd., *A. vulgaris* L.) – в официальной медицине [10].

Поэтому в настоящее время остается актуальным выявление новых эфиромасличных видов растений казахстанской флоры, эфирные масла которых обладают широким спектром терапевтического действия.

Основными параметрами, определяющими ценность эфиромасличных растений, является содержание в сырье эфирных масел и их компонентный состав.

**Цель наших исследований:** определить содержание и компонентный состав эфирных масел у некоторых эндемичных и имеющих ограниченный ареал видов р. полынь *Artemisia* L.

**Объекты исследований** – эндемичные виды полыни (*Artemisia cina*, *A. karatavica* Krasch. et Abolin ex Poljakov) и *A. porrecta* Krasch. ex Poljakov из южного Казахстана.

*Artemisia cina*, дәрмене жусан (каз.) – многолетнее травянистое растение высотой 18–40 см (рис. 1). Цветет в августе–сентябре. Растет в пустынной зоне на солонцеватых лессовых почвах, саях и надпойменных террасах. Встречается в Туркестанском флористическом районе, Карагату и Западном Тянь-Шане. Эндем [6, с. 133]. Занесена в Красную книгу Казахстана [8].

Сырье (надземная часть) содержит эфирное масло, циклitolы, сесквитерпеноиды, флавоноиды, азотсодержащие соединения. Используется как антигельминтное, обезболивающее, анальгезирующее, противовоспалительное, туберкулостатическое, противоопухолевое, антибактериальное, антифунгальное, гипотензивное

[11, с. 41; 12–14]. Применяется в официальной и народной медицине. Имеются давние сведения о запасах сырья на территории Арысского и Алгабасского районов Южно-Казахстанской области. Культивировалась в Главном ботаническом саду (г. Алматы) и Карагандинском ботаническом саду [10, с. 27].

*Artemisia karatavica*, қаратай жусан (каз.) – полукустарник высотой 35–60(70) см (рис. 2). Цветет в сентябре–октябре. Растет на каменистых, глинистых и мелко щебнистых склонах низкогорий. Встречается в Карагату. Эндем.

Сырье (надземная часть) содержит эфирное масло. Используется как антигельминтное, антибактериальное средство в народной медицине [10, с. 51].

*Artemisia porrecta*, үзын жусан (каз.) – многолетнее травянистое растение высотой 40–160(80) см (рис. 3). Цветет в августе–сентябре. Растет в пустынной зоне на засоленных глинистых почвах и по щебнисто–глинистым склонам предгорий и сопок. Встречается в 4-х флористических районах: Кзылординском, Туркестанском, Карагату, Западном Тянь-Шане. За пределами Казахстана встречается только в Средней Азии (Памироалтай) [6, с. 136].

Сырье (надземная часть) содержит органические кислоты, эфирное масло, сесквитерпеноиды, стероиды, алкалоиды, фенольные соединения, катехины, кумарины, флавоноиды, углеводороды. Используется как антифунгальное, антигельминтное, противоопухолевое [11, с. 58]. Применяется в народной медицине.

Виды подрода *Seriphidium* (Bess.) Rouy, к которым относятся изучаемые виды полыни, по химическому составу эфирных масел очень разнообразны и довольно хорошо изучены [15]. Еще М.И. Горяевым с соавторами [16], было предложено разделить исследованные виды полыней на 4 подгруппы по преимущественному содержанию одного из компонентов в эфирном масле (с высоким содержанием камфоры, цинеола, туйона и туйилового спирта, алифатических терpenовых спиртов и альдегидов), так и в более поздних работах исследователи подразделяют виды полыней по содержанию одного из компонентов  $\geq 10\%$  [17]. Так, в литературном обзоре Pandey A.K., Singh P. [18] указывают 8 основных компонентов (1,8-цинеол,  $\beta$ -пинен, туйон, артемизия-кетона, камфора, карифиллен, камfen и гермакрен Д), чаще всего встречающихся в эфирном масле видов р. *Artemisia* L.



а

а – цветущие экземпляры; б – популяция



б

**Рисунок 1 – *Artemisia cina* Berg ex Poljakov**



**Рисунок 2 – *Artemisia karatavica* Krasch. et Abolin ex Poljakov**



**Рисунок 3 – *Artemisia porrecta* Krasch. ex Poljakov**

Казахстанскими учеными под руководством Адекенова С.М. [19] проведены работы по изучению химического состава надземной массы *Artemisia porrecta* Krasch. ex Poljakov, из которой выделили и идентифицировали стероид – нифайол и сесквитерпеновой лактон – герболид A. Стоит отметить, что данный сесквитерпеновый лактон ранее был выделен из *A. herba-alba* subsp. *valentine* [20]. По данным Асановой Ж.К. и др. [21] отмечена высокая противоопухолевая активность, 8 – цинеола, выделенного из *Artemisia cina* Berg., который подавляет на 95,3 и 96,2% роста клеток линии Н<sub>157</sub> и НТ<sub>144</sub>.

## Материалы и методы

Материалом для исследований послужило растительное сырье эндемичных и имеющих ограниченный ареал видов р. полынь *Artemisia* L. (*Artemisia cina* Berg. ex Poljak., *A. karatavica* Krasch. et Abolin ex Poljakov, *A. porrecta* Krasch. ex Poljakov), произрастающих в южном Казахстане.

Собранное на территории трех административных районов Туркестанской области растительное сырье (надземная часть) изучаемых видов полыни было высушено в сухом, хорошо проветриваемом помещении до воздушно-сухого состояния.

*Artemisia cina* была собрана 22.09.2019 г. в фазе цветения на высоте 282 м над ур. м. в 1 км северо-восточнее пос. Дармино Арысского района Туркестанской области; *Artemisia karatavica* была собрана 22.09.2019 г. в фазе цветения на высоте 459 м над ур. м. в 4,5 км юго-восточнее пос. Шакпак Байдибекского района Туркестан-

ской области; *Artemisia porrecta* была собрана 20.09.2019 г. в фазе цветения на высоте 216 м над ур. м. в 15 км северо-восточнее пос. Комсомол Шардаринского района Туркестанской области.

Извлечение масла проводили гидродистилляционным методом в аппарате Клевенджера. Соотношение сырья и воды 1:2. Количественное определение эфирных масел проводили в двух повторностях [22].

Анализ компонентного состава выделенных эфирных масел у впервые исследуемых образцов р. *Artemisia* L. проводили на хромато-масс-спектрометре Agilent 5975T LTM GC/MS/FID [23] в центральной лаборатории ароматических растений университета Акдениз (Турция, Анталья, 2019 г.).

Условия хроматографирования: Agilent GC-MSD (марки Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA). Капиллярная колонка Innowax HP (60м x 0.25мм, 0,25мкм) с гелием. Поток газа 0,8 мл/мин. Начало температура печи 60°C в течение 10 минут, затем 220°C с шагом роста 4°C/мин в течение 10 мин и последовательно довели до 240°C с шагом 1°C/мин. Коэффициент разделение 40:1. Температура инжектора 250°C. MS измерение при 70eV.

## Результаты и обсуждение

Выход эфирного масла у исследованных образцов составляет 0,38–0,55% и 0,3–0,6 после 5 месяцев хранения в пересчете на воздушно-сухое сырье, цвет эфирного масла – от светло-зеленовато-желтого до зеленовато-желтого (табл.1). Компонентный состав выделенных эфирных масел представлен в таблице 2.

Таблица 1 – Выход эфирного масла из надземной части исследованных образцов рода *Artemisia* L.

Вид	Фенофаза, дата сбора сырья	Цвет масла	Выход эфирного масла через 1 месяц хранения, %	Выход эфирного масла после 5 месяцев хранения, %,
<i>Artemisia cina</i>	Цветение 22.09.2019 г.	светло-зеленовато-желтый	0,38	0,3–0,42
<i>A. karatavica</i>	Цветение 22.09.2019 г.	зеленовато-желтый	0,40	0,4–0,45
<i>A. porrecta</i>	Цветение 20.09.2019 г.	зеленовато-желтый	0,55	0,5–0,6

**Таблица 2** – Компонентный состав исследуемых образцов эфирных масел р. *Artemisia* L. по данным хроматомассспектрометрии\* (\* приведены компоненты с содержанием  $\geq 0,2\%$ )

Компонент	Содержание компонента в образце, %		
	<i>A. cina</i>	<i>A. karatavica</i>	<i>A. porrecta</i>
Sabinene	0,65	0,47	1,04
$\beta$ -Myrcene	0,38	0,88	0,49
$\alpha$ -terpinene	1,47	0,72	0,39
1,8-cineole	61,78	50,24	8,24
$\gamma$ -terpinene	1,91	1,13	0,67
p-cymene	5,02	3,03	1,0
$\alpha$ -terpinolene	0,36	–	–
$\alpha$ -thujone	14,69	0,4	50,39
$\beta$ -thujone	8,21	0,25	26,64
<i>Cis-p</i> -menth-2-en-1-ol	0,29	–	–
3-thujanol acetate	0,42	–	–
Terpinene-4-ol	3,65	1,79	1,07
Terpinen-4-ol acetate	0,28	–	–
$\alpha$ -terpinyl acetate	0,58	–	–
<i>Cis</i> -chrysanthenol	0,31	0,31	–
Tricyclene	–	0,35	–
$\alpha$ -pinene	–	0,70	0,25
$\beta$ -pinene	–	0,40	–
Camphepane	–	6,85	1,48
Pseudocumene	–	0,37	–
Filifolone	–	1,73	–
Chrysanthenone	–	4,56	–
Camphor	–	22,16	7,63
Pinacarvone	–	0,28	–
Isophorone	–	0,41	–
Borneol	–	0,50	–
Germacrene D	–	0,32	–
Byciclogermacrene	–	0,28	–
Carvone	–	0,29	–
5,5-dimethyl-1-ethyl-1,3-cyclopentadiene	–	0,34	–

Эфирные масла исследуемых видов характеризуются содержанием монотрепенов (циклических и ациклических), терпеноидов (кетоны, спирты) и углеводородов.

В эфирном масле *A. cina* обнаружено и идентифицировано 15 соединений, из которых более 60% составил 1,8-цинеол и 8–14% производные

туйона. Эфирное масло *A. karatavica* содержит 25 соединений, из которых более 70% занимают 1,8-цинеол (50%) и камфора (22%), тогда как для *A. porrecta* обнаружено только 12 соединений, а в эфирном масле производные туйона составляют более 75%, 1,8-цинеола (8,2%) и камфора (7,6%).

Согласно результатам ГХ-МС (табл. 2), большая часть идентифицированных компонентов относится к монотерпенам, девять соединений (сабинен,  $\beta$ -мирцен,  $\alpha$ -терпинен, 1,8-цинеол,  $\gamma$ -терпинен, п-цимен,  $\alpha$ - и  $\beta$ -туйон, терпинен-4-ол) обнаружены во всех образцах. Высокое содержание 1,8-цинеола (61,7 и 50,2%) наблюдается для образцов *A. cina* и *A. karatavica*, которое также характерно для видов *A. vulgaris*, *A. turanica*, *A. anethoides* (от 30–36%) [24–26]. Полученные нами результаты по содержанию цинеола в образцах *A. cina* и *A. karatavica* согласуются с литературными источниками [11; 16].

Камфора содержится во многих видах р. *Artemisia* (*A. herba-alba*, *A. annua*), что также характерно и для казахстанских видов [1]. Эфирное масло образца *A. karatavica* имело слабо выраженный камфорный запах, что очевидно связано со значительным содержанием камфоры (22,1%) и терпена – камфена (6,85%). В *A. porrecta* выявлено содержание камфоры (7,6%) и цинеола (8,2%).

Кислородсодержащие монотерпены ( $\alpha$ - и  $\beta$ -туйон) в исследуемом образце *A. cina* составили соответственно 14,7 и 8,2%, которые являются доминирующими компонентами эфирного масла *A. porrecta* (50,3 и 26,6%).

Высоким содержанием производных туйона характеризуется *A. herba-alba* (до 47%), произрастающая в разных уголках земного шара [27–30]. Следовательно, эфирное масло *A. porrecta* может служить источником получения производных туйона.

Высокое содержание действующих компонентов (1,8-цинеола, туйона и камфоры) в эфирных маслах исследуемых видов позволяет рекомендовать их в качестве источников сырья, обладающих фумигантной активностью, снижающей при повышении температуры [31].

## Заключение

В результате проведенных исследований получены современные данные по содержанию и компонентному составу эфирных масел у эндемичных (*A. cina* и *A. karatavica*) и имеющих

ограниченный ареал (*A. porrecta*) видов р. *Artemisia* L.

Большая часть идентифицированных компонентов относится к монотерпенам, девять соединений (сабинен,  $\beta$ -мирцен,  $\alpha$ -терпинен, 1,8-цинеол,  $\gamma$ -терпинен, п-цимен,  $\alpha$ - и  $\beta$ -туйон, терпинен-4-ол) обнаружены во всех образцах. Высокое содержание 1,8-цинеола (61,7 и 50,2%) наблюдается для образцов *A. cina* и *A. karatavica*.

К индикаторам эфирных масел исследуемых объектов можно отнести 1,8-цинеол, производные туйона и камфору, общее содержание которых в эфирном масле составляет более 70%, что позволяет рекомендовать исследованные виды полыней для последующего изучения в качестве потенциальных источников растительного сырья для создания препаратов антибактериального, антифунгального и противоопухолевого действия.

## Благодарности

Докторант Рахимбердиева Ж. выражает благодарность за рекомендации при проведении настоящих исследований зарубежному научному руководителю Ахмет Аксой – профессору, PhD, заведующему кафедрой «Биология» Акдениз Университета (Турция).

## Конфликт интересов

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

## Источник финансирования

Работа выполнена в рамках договора № 387 от 25.10.2019 г. (Казахский Национальный женский педагогический университет, г.Алматы, Казахстан с университетом Акдениз г.Анталия, Турция).

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой или какой-либо другой поддержки.

## Литература

- Егеубаева Р.А. Дикорастущие эфирномасличные растения Юго-Востока Казахстана. – Алматы, 2002. – 242 с.
- Сеняк Е.Н., Яговдик М.А., Ахметжанова А.И. Изучение анатомических структур некоторых видов полыней Казахстана // Вестник Карагандинского государственного университета. Серия Биология. Медицина. География. – 2010. – № 2 (58). – С. 16–21.

- 3 Беленовская Л.М., Буданцев А. Л., Коробков А. А. Род *Artemisia* // Раствительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.5. Семейство Asteraceae (Compositae). Часть 1. Роды Achillea – Doronicum // Отв. ред. А. Л. Буданцев. – СПб., М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. – С. 43–103.
- 4 Новикова Н. М. Противотуберкулезная активность эфирных масел, выделенных из полыней флоры Казахстана // Медицина и экология. – 2012. – № 2. – С. 104–105.
- 5 Абдулина С.А. Список сосудистых растений Казахстана / под редакцией Р. В. Камелина. – Алматы, 1999. – С. 32–34.
- 6 Флора Казахстана. – Алма-Ата, 1966. – Т. 9. – С. 132–136.
- 7 Байтенов М. С. Флора Казахстана в 2-х т. – Т.2. Родовой комплекс флоры. – Алматы: Ысым, 2001. – С. 214.
- 8 Красная книга Казахстана. Изд. 2-е, переработанное и дополненное. – Том 2: Растения (колл. авторов). – Астана, ТОО «AptPrintXXI», 2014. – С. 325.
- 9 Гемеджиева Н.Г. Биологическая активность алкалоидсодержащих растений Казахстана // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – №. 1 (277). – Алматы, 2010. – С. 24–30.
- 10 Анnotated список лекарственных растений Казахстана: Справочное издание // Л. М. Грудзинская, Н. Г. Гемеджиева, Н. В. Нелина, Ж. Ж. Каржаубекова. – Алматы, 2014. – С. 27–30.
- 11 Раствительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Сем. Asteraceae. – СПб., 1993. – С. 41; – С. 51; – С. 58.
- 12 Ушбаева Г.Г., Ряховская Т.В., Кабиева А.О., Мустафина Р.Х. Полынь – источник противоопухолевых агентов // Ботаническое ресурсоведение: достижения и перспективы развития: мат. международн. научн. конф., посвященной памяти ботаников-ресурсоведов, члена-корреспондента НАН РК, д.б.н., профессора М.К. Куценко, в связи с 60-летием со дня рождения и д.б.н. В.П. Михайловой, в связи с 90-летием со дня рождения. – Алматы, 2000. – С. 177–178.
- 13 Атажанова Г.А. Состав и биологическая активность эфирных масел эндемичных растений Казахстана // Химия природных соединений. – 2008. – №2. – С. 209–2011.
- 14 Ауельбекова А.К., Кыздарова Д.К., Нуркенова А.Т., Шорин С.С., Мусина Р.Т., Норцева М.А. Эфиромасличность видов полыни в горных регионах Центрального Казахстана // Биологические науки, 2016. – С. 7–10.
- 15 Мунгалов Е.А. Полыни горного Алтая: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Томск, 2004. – 17 с.
- 16 Горяев М.И., Базалицкая В.С., Поляков П.П. Химический состав полыней. Изд-во АН КазССР. – Алма-Ата, 1962. – 152 с.
- 17 Abad M.J., Bedoya L. M., Apaza L., Bermejo P. The *Artemisia* L. Genus: A Review of Bioactive Essential Oils // Molecules. 2012. 17(3): 2542–2566. (doi:10.3390/molecules17032542).
- 18 Pandey A.K., Singh P. The Genus *Artemisia*: a 2012–2017 Literature Review on Chemical Composition, Antimicrobial, Insecticidal and Antioxidant Activities of Essential Oils. Medicines (Basel). 2017; 4(3):68. Published 2017. Sep. 12. doi:10.3390/medicines4030068
- 19 Adekenov S. M., Kishkentaeva A.S., Al'murzin N.D., Esenbaeva A.E., Atazhanova G.A. Nymphayol and gerbolide A from *Artemisia correcta* // Chemistry of natural compounds, 2013. –Vol. 49. № 3. – P. 532.
- 20 Amri I., De Martino L., Marandino A., Lamia H., Mohsen H., Scandolera E., De Feo V., Mancini E. Chemical composition and biological activities of the essential oil from *Artemisia herba-alba* growing wild in Tunisia // Nat. Prod. Commun, 2013. – № 8.– P. 407–410.
- 21 Асанова Ж.К., Сулейменов Е.М., Атажанова Г.А., Дембицкий А.Д., Пак Р.Н., Дар А., Адекенов С.М. 1,8-цинеол из полыни цитварной и его биологическая активность // Химико-фармацевтический журнал, 2003. – Т. 37.– №1.– С. 30–32.
- 22 Государственная фармакопея СССР, XI изд., вып. 1. – М.: Наука, 1987. – С. 287–295.
- 23 Adams R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectrometri. – Carol Stream, 2006. – 804 p.
- 24 Williams J.D., Saleh A.M., Acharya D.N. Composition of the essential oil of Wild Growing *Artemisia vulgaris* from Erie, Pennsylvania // Nat. Prod. Commun, 2012. – №7. – P. 637–640.
- 25 Taherkhani M. Tyrosinase Inhibition, in vitro antimicrobial, antioxidant, cytotoxicity and anticancer activities of the essential oil from the leaves of *Artemisia turanica*, growing wild in Iran // J. Essent. Oil Bear. Plants 2016. – №19. – P.1141–1154.
- 26 Liang J.Y., Wang W.T., Zheng Y.F., Zhang D., Wang J.L., Guo S.S., Zhang W.J., Du S.S., Zhang J. Bioactivities and chemical constituents of essential oil extracted from *Artemisia anethoides* against two stored product insects // J. Oleo Sci. 2017. – Vol. 6. – P. 71–76.
- 27 Abu-Darwish M.S., Cabral C., Goncalves M.J., Cavaleiro C., Cruz M.T., Efferth T., Salgueiro L. *Artemisia herba-alba* essential oil from Buseirah (South Jordan): Chemical characterization and assessment of safe antifungal and anti-inflammatory doses // J. Ethanopharmacol, 2015. – 174. – P. 153–160.
- 28 Dahmani-Hamzaoui N., Baaliouamer A. Volatile constituents of Algerian *Artemisia herba-alba* essential oils // J. Essent. Oil Res, 2015. – № 27. – P. 437–446.
- 29 Younsi F., Trimech R., Boulila A., Ezzine O., Dhahri S., Boussaid M., Messaoud C. Essential oil and phenolic compounds of *Artemisia herba-alba* (Asso.): Composition, antioxidant, antiacetylcholinesterase, and antibacterial activities // Int. J. Food Prop, 2016. – № 19. – P. 1425–1438.
- 30 Bellili S., Jazi S., Hrira M.Y., Lamari A., Dhifi W., Diouani M.F., Araujo M.E., Cioni P.L., Flamini G., Cherif A. Phytochemical identification of volatile fraction, essential oil and screening of antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal potential from *Artemisia herba-alba* leaves // Main Group Chem, 2017. – №3 16. – P. 95–109.

31 Алексерова А.Н., Алиев Н.Н., Алиев М.И., Серкеров С.В., Рустамова Л.И., Асбагиан Ш.Ф., Ибрагимов С.И., Расулов Ф.А. Компонентный состав и фумигантная активность эфирных масел видов рода *Artemisia* L. // Химия растительного сырья, 2017. – №4. – С. 235–240.

### References

- 1 Abdulina S.A. (1999) Spisok sosudistykh rasteniy Kazakhstana [List of vascular plants in Kazakhstan] pod redaktsiyey R.V. Kamelina. – Almaty, pp. 32–34.
- 2 Annotated list of medicinal plants in Kazakhstan: Reference book // L. M. Grudzinskaya, N. G. Gemedzhieva, N. V. Nelina, Zh. Zh. Karzhaubekova. – Almaty, 2014. – p. 27-30.
- 3 Atazhanova G.A. Composition and biological activity of essential oils of endemic plants in Kazakhstan // Chemistry of natural compounds. – 2008. – No. 2. – P. 209–211
- 4 Auelbekova A.K., Kyzdarova D.K., Nurkenova A.T., Shorin S.S., Musina R.T., Nortseva M.A. Essential oil content of wormwood species in the mountainous regions of Central Kazakhstan // Biological Sciences, 2016. – P. 7–10.
- 5 Adekenov S. M., Kishkentaeva A.S., Al'murzin N.D., Esenbaeva A.E., Atazhanova G.A. Nymphaeol and gerbolide A from *Artemisia porrecta* // Chemistry of natural compounds, 2013. – Vol. 49. № 3. – P. 532.
- 6 Abad M.J., Bedoya L. M., Apaza L., Bermejo P. The *Artemisia* L. Genus: A Review of Bioactive Essential Oils // Molecules. 2012. 17(3): 2542–2566. (doi:10.3390/molecules17032542).
- 7 Asanova Zh.K., Suleimenov E.M., Atazhanova G.A., Dembitsky A.D., Pak R.N., Dar A., Adekenov S.M. 1,8-cineole from citrine wormwood and its biological activity // Chemical-Pharmaceutical Journal, 2003. – V. 37.– No. 1.– P. 30–32.
- 8 Adams R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, Carol Stream, 2006, 804 p.
- 9 Amri I., De Martino L., Marandino A., Lamia H., Mohsen H., Scandolera E., De Feo V., Mancini E. Chemical composition and biological activities of the essential oil from *Artemisia herba-alba* growing wild in Tunisia // Nat. Prod. Commun., 2013. – № 8.– P. 407–410.
- 10 Abu-Darwish M.S., Cabral C., Goncalves M.J., Cavaleiro C., Cruz M.T., Efferth T., Salgueiro L. *Artemisia herba-alba* essential oil from Buseirah (South Jordan): Chemical characterization and assessment of safe antifungal and anti-inflammatory doses // J. Ethanopharmacol, 2015. – 174. – P. 153–160.
- 11 Alekserova A.N., Aliev N.N., Aliev M.I., Serkerov S.V., Rustamova L.I., Asbagian Sh.F., Ibragimov S.I., Rasulov F.A. Component composition and fumigant activity of essential oils of *Artemisia* L. species // Chemistry of plant raw materials, 2017. – No. 4. – p. 235–240.
- 12 Belenovskaya L.M., Budantsev A.L., Korobkov A.A. *Artemisia* // Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity. V.5. Family Asteraceae (Compositae). Part 1. Genera Achillea – Doronicum // Responsible editor A. L. Budantsev. – SPb., M.: Partnership of scientific publications KMK, 2012. – P. 43–103.
- 13 Baytenov M.S. Flora of Kazakhstan in 2 volumes – V.2. Generic flora complex. – Almaty: Gylym, 2001 .– P. 214.
- 14 Bellili S., Jazi S., Hrira M.Y., Lamari A., Dhifi W., Diouani M.F., Araujo M.E., Cioni P.L., Flamini G., Cherif A. Phytochemical identification of volatile fraction, essential oil and screening of antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal potential from *Artemisia herba-alba* leaves // Main Group Chem, 2017. – №3 16. – P. 95–109.
- 15 Gemedzhieva N.G. Biological activity of alkaloid-containing plants in Kazakhstan // Bulletin of NAS RK. Biological and medical series. – No. 1 (277). – Almaty, 2010. – p. 24–30.
- 16 Goryaev M.I., Bazalitskaya V.S., Polyakov P.P. The chemical composition of wormwood. Publishing house of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR. Alma-Ata, 1962 .– p 152.
- 17 State Pharmacopoeia of the USSR, XI ed., No. 1. – M.: Nauka, 1987. – p. 287–295.
- 18 Dahmane-Hamzaoui N., Baaliouamer A. Volatile constituents of Algerian *Artemisia herba-alba* essential oils // J. Essent. Oil Res, 2015. – № 27. – P. 437–446.
- 19 Egeubaeva R.A. Wild essential oil plants of the South-East of Kazakhstan. – Almaty, 2002 .– p.242.
- 20 Red Book of Kazakhstan. Ed. 2nd, revised and enlarged. – Volume 2: Plants (collection of authors). – Astana, LLP “Art-PrintXXI”, 2014. – P. 325.
- 21 Liang J.Y., Wang W.T., Zheng Y.F., Zhang D., Wang J.L., Guo S.S., Zhang W.J., Du S.S., Zhang J. Bioactivities and chemical constituents of essential oil extracted from *Artemisia anethoides* against two stored product insects // J. Oleo Sci. 2017. – Vol. 6. – P. 71–76.
- 22 Mungalov E.A. Wormwood of the Altai Mountains: Author. diss. ... Cand. biol. sciences. – Tomsk, 2004 .– 17 p.
- 23 Novikova N.M. Antituberculous activity of essential oils isolated from the wormwood of Kazakhstan // Medicine and ecology. – 2012. – No. 2. – P. 104–105.
- 24 Pandey A.K., Singh P. The Genus *Artemisia*: a 2012–2017 Literature Review on Chemical Composition, Antimicrobial, Insecticidal and Antioxidant Activities of Essential Oils. Medicines (Basel). 2017; 4(3):68. Published 2017. Sep. 12. doi:10.3390/medicines4030068
- 25 Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, use. Asteraceae. – SPb., 1993. – P. 41; – p. 51; – p 58.

26 Senyak E.N., Yagovdik M.A., Akhmetzhanova A.I. Study of the anatomical structures of some types of wormwoods in Kazakhstan // Bulletin of the Karaganda State University. Biology series. Medicine. Geography. – 2010. – No. 2 (58). – P. 16–21.

27 Taherkhani M. Tyrosinase Inhibition, in vitro antimicrobial, antioxidant, cytotoxicity and anticancer activities of the essential oil from the leaves of *Artemisia turanica*, growing wild in Iran // J. Essent. Oil Bear. Plants 2016. – №19. – P.1141–1154.

28 Ushbaeva G.G., Ryakhovskaya T.V., Kabieva A.O., Mustafina R.Kh. Wormwood – a source of anticancer agents // Botanical resource science: achievements and development prospects: international scientific. Conf. in mathematics, dedicated to the memory of botanists-resource scientists, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, Doctor of Biological Sciences, Professor M.K. Kukenov, in connection with the 60th anniversary of the birth and Doctor of Biological Sciences V.P. Mikhailova, on the occasion of her 90th birthday. – Almaty, 2000. – p. 177-178.

29 Flora of Kazakhstan. – Alma-Ata, 1966. – V. 9. – T. 132–136.

30 Younsi F., Trimech R., Boulila A., Ezzine O., Dhahri S., Boussaid M., Messaoud C. Essential oil and phenolic compounds of *Artemisia herba-alba* (Asso.): Composition, antioxidant, antiacetylcholinesterase, and antibacterial activities // Int. J. Food Prop, 2016. – № 19. – P. 1425–1438.

31 Williams J.D., Saleh A.M., Acharya D.N. Composition of the essential oil of Wild Growing *Artemisia vulgaris* from Erie, Pennsylvania // Nat. Prod. Commun, 2012. – №7. – P. 637–640.

2-бөлім  
**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

---

Section 2  
**BIOTECHNOLOGY**

---

Раздел 2  
**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

МРНТИ 62.09.39

<https://doi.org/10.26577/eb.2020.v85.i4.05>

**М.А. Абдулжанова\*** , **И.С. Савицкая** , **А.С. Кистаубаева** 

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

\*e-mail: malika\_81@mail.ru

## МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЕ ПРОБИОТИКА В МАТРИЦУ ПРИРОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ

Микрокапсулирование представляет собой процесс, посредством которого сердцевина, то есть биологически активный или функциональный ингредиент упаковывается в материал, образующий оболочку микрокапсул. Микрокапсулирование пробиотиков позволяет избежать стрессовых воздействий, возникающих в процессе производства, хранения и потребления продукта, и обеспечивает высокий уровень выживаемости микроорганизмов в таком «контейнере». Целью работы являлось микрокапсулирование пробиотиков в полисахаридные матрицы для повышения их жизнеспособности и устойчивости, а так же результативной доставки в кишечник.

В настоящей работе изучены 3 вида пробиотических микрокапсул: альгинатные; альгинат-хитозановые; альгинат-пуллулановые. Капсулы получали путем путем процесса ввода суспензии клеток, смешанной с капсулирующим агентом, через особое дозирующее приспособление порционно строго определенного объема в специальный раствор, который содержал ионы-сшиватели. Жизнеспособность свободных и инкапсулированных бактерий в различных стрессовых условиях определяли методом предельных разведений и посева в MRS-агар.

Экспериментально установлено, что при получении микрокапсул оптимальным является соотношение биомассы пробиотического штамма и 2%-ного альгината натрия – 1:5, в качестве сшивящих ионов 1%-ного раствора хлорида кальция. Эффективность иммобилизации клеток *Lactobacillus acidophilus* AA-1 для непокрытых (альгинатных) и покрытых хитозаном и пуллуланом микрокапсул составила  $96,35 \pm 1,65$ ;  $95,28 \pm 2,31$  и  $94,43 \pm 2,31$  соответственно. Микрокапсулы представляют собой сферические частицы белого цвета с гладкой поверхностью. Размеры микрокапсул – 102–145 мкм.

**Ключевые слова:** микрокапсулирование, альгинат, пуллулан, хитозан, *Lactobacillus acidophilus* AA-1.

M.A. Abdulzhanova\*, I.S. Savitskaya, A.S. Kistaubaeva

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: malika\_81@mail.ru

### **Microencapsulation of a probiotic into a matrix of natural polymers**

Microencapsulation is a process by which the core, i.e. a biologically active or functional ingredient, is packed into a material that forms the shell of the microcapsule. Microencapsulation of probiotics helps to avoid stressful effects that occur during the production, storage and consumption of the product and provides a high level of survival of microorganisms in such a "container". The aim of this work was to microencapsulate of probiotics in the polysaccharide matrix to improve their stability, viability and effective delivery to the intestine.

In this paper, we studied 3 types of probiotic microcapsules: alginate; alginate-chitosan; alginate-pullulan. The process of forming capsules was carried out by injecting a suspension of cells mixed with a encapsulating substance through a special dosing device in portions of a strictly defined volume into a special solution containing crosslinking ions. The viability of free and encapsulated bacteria under various stress conditions was determined by the method of limit dilutions and inoculations in MRS-agar.

During research we obtained that, in microcapsule formation optimal conditions is probiotic strain biomass and 2% sodium alginate in ratio – 1:5, and usage of 1% calcium chloride solution as cross linking ions. The efficiency of immobilization of *Lactobacillus acidophilus* AA-1 cells for uncoated (alginate), chitosan and pullulan-coated microcapsules was  $96.35 \pm 1.65$ ;  $95.28 \pm 2.31$  and  $94.43 \pm 2.31$ , respectively. Microcapsules are spherical particles, with white and smooth surface. The sizes of microcapsules are 102-145 microns.

**Key words:** microencapsulation, alginate, pullulan, chitosan, *Lactobacillus acidophilus* AA-1.

М.А. Абдулжанова\*, И.С. Савицкая, А.С. Кистаубаева  
Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.  
\*e-mail: malika\_81@mail.ru

### Табиги полимерлер матрицасына пробиотиктерді микрокапсулдау

Микрокапсулдау – арнайы материалдан құрылған микрокапсула қабығының ішіне биологиялық белсенді немесе функционалдық ингредиенттерді орау процесі. Пробиотиктерді микрокапсулдау – өнімді өндіру, сақтау және тұтыну процесінде пайдаланылатын стресстік әсерлерді болдырмауға мүмкіндік береді және мұндай «контейнерде» микроорганизмдердің өмір сүруінің жоғары деңгейін қамтамасыз етеді. Жұмыстың мақсаты пробиотиктердің тұрақтылығын, тіршілікке қабілеттілігі және ішекке тиімді жеткізуі арттыру үшін полисахаридті матрицаларға микрокапсулдау болып табылады.

Осы жұмыста пробиотикалық микрокапсуланың З түрі зерттелді: альгинат; альгинат-хитозан; альгинат-пуллулан. Капсуланы қалыптастыру процесі капсула-қаптамадан тұратын арнайы ерітіндіге қатаң белгіленген көлемдегі порциялармен ерекше дозалаушы құрылғы арқылы капсула-затпен аралас жасушалардың сусpenзиясын инжекциялау жолымен жүзеге асырылды. Әр түрлі стресстік жағдайларда бос және инкапсуляцияланған бактериялардың тіршілікке қабілеттілігі шекті өсіру және MRS-агарда себу өдісімен анықталды.

Микрокапсуланы алу кезінде пробиотикалық штаммның биомассасының және 1%-дық натрий альгинатының 1%-дық, кальций хлоридінің ерітіндісінің тігү иондары ретінде 2%-дық натрий альгинатының арақатынасы оңтайлы болып табылады. *Lactobacillus acidophilus AA-1* жасушаларын иммобилизациялау тиімділігі жабылмаған (альгинатты) және хитозанмен және пуллуланмен жабылған микрокапсулалар үшін тиісінше  $96,35 \pm 1,65$ ;  $95,28 \pm 2,31$  және  $94,43 \pm 2,31$  құрады. Микрокапсулалар сфералары ақ түсті, тегіс беті бөлшектерден тұрады. Микрокапсуланың өлшемдері 102-145 мкм.

**Түйін сөздер:** микрокапсулдау, альгинат, пуллулан, хитозан, *Lactobacillus acidophilus AA-1*.

## Введение

Высокими темпами развиваются технологии производства функциональных продуктов питания. Популярность и постоянное возрастание потребительского спроса на такие продукты связано с повышением осведомленности населения об их положительном влиянии на здоровье и увеличение продолжительности жизни. Пищевые продукты, содержащие пробиотики составляют основную часть этого рынка. Поскольку пробиотические продукты составляют от 60 до 70% от общего рынка функциональных продуктов питания, их производство можно выделить в самостоятельную отрасль пищевой биотехнологии (Fernandez M., 2015: 1-13).

Количество живых и активных клеток в определенном объеме (г или мл) в момент потребления, то есть жизнеспособность пробиотических микроорганизмов, определяет их эффективность и является ключевой характеристикой качества этих продуктов (Mortazavian A.M., 2012: 121-146). В связи с этим важно обеспечить высокую выживаемость бактерий-пробиотиков как в процессе его потребления, так и во время производства и хранения продукта (Shah N.P., 2000: 894-907).

В этой связи, усовершенствование технологии и состава пробиотических продуктов, которое должно быть направлено на обеспечение благоприятных условий для бактерий при их производстве и хранении, а также при прохождении желудочно-кишечного барьера, представляется достаточно актуальным.

Многочисленные исследования показывают, что при производстве заквасок прямого внесения, при хранении продуктов, а также в процессе прохождения через желудочно-кишечный тракт, значительная часть пробиотических клеток теряет свою активность вследствие повреждения и гибели микроорганизмов (Martensson O., 2012: 775-784). Проводятся исследования, которые фокусируются на выделении кислото- и желчезустойчивых штаммов методом стрессовой адаптации (Shah N.P., 2010: 894-907); применении двухстадийной ферментации (в заквашиваемую смесь изначально вносят пробиотические культуры и дают время для их адаптации, и лишь затем вносят другие молочнокислые культуры) (Marteau P., 2017: 1031-1037); использовании стимуляторов роста и других добавок (цистеин, сывороточные белки, кислотный гидролизат казеина), активизирующих развитие пробиотических бактерий (Dave R.I., 2018: 2804-2816), с

целью увеличения стрессоустойчивости и жизнеспособности пробиотических культур.

Одним из способов решения проблемы повышения жизнеспособности пробиотиков является использование адсорбционной и пространственной иммобилизации бактерий в мягких условиях (Champagne C.P., 2014: 109-134). Новые достижения в области иммобилизации, обычно используемой только в других областях биотехнологии, делают теперь её методы, доступными и для пищевой промышленности (Ананьева Н.В., 2009: 46-47). В последние годы все больший интерес проявляется к получению микрокапсулированных форм микроорганизмов-пробиотиков как наиболее перспективного метода защиты и адаптации клеток и активных веществ в организме человека (Riaz Q.U.A., 2013: 231-144).

Под биокапсулированием понимают создание различных полимерных систем в форме гидрогелевых нано- и микрочастиц, нано- и микрокапсул или полимерных пленок с иммобилизованным биоматериалом, который может быть представлен различными БАВ (белками, в том числе ферментами, ДНК, пептидами, низкомолекулярными гормонами, антибиотиками и др.), а также микробными, растительными и животными клетками (Sri S.J., 2012: 1-23). Имеются данные о том, что инкапсулированные пробиотические культуры могут использоваться в различных ферментированных молочных продуктах, таких как йогурт, сыр, сметана, замороженных молочных десертах, для получения биомассы, а также в сухих препаратах (Morales M.E., 2016: 627-668).

Основными характеристиками инкапсулированных форм пробиотических культур является способность клеток выживать в неблагоприятных условиях желудочно-кишечного тракта. В отношении выживаемости инкапсулированных пробиотических культур в неблагоприятных условиях ученые склоняются к единому мнению: инкапсулирование обеспечивает значительное увеличение выживаемости клеток в условиях ферментированных молочных продуктов и желудочно-кишечного тракта (Riaz Q.U.A., 2013: 231-244; Anal A.K., 2017: 240-251; Ramos P.E., 2018: 1864-1877; Tomaro-Duchesneau C., 2013: 1-19; Carvalho A.S., 2013: 2538-2541).

Успешный опыт микрокапсулирования в области пробиотической биотехнологии послужил основанием для проведения настоящего исследования, направленного на создание микрокапсулированных пробиотиков для повышения их

устойчивости, жизнеспособности и эффективной доставки в кишечник.

## Материалы и методы исследования

**Объекты исследований:** культура и биомасса молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* AA-1 из коллекции микроорганизмов кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби в нативном и инкапсулированном состоянии;

3 вида пробиотических микрокапсул: альгинатные; альгинат-хитозановые; альгинат-пуллулановые.

### Подготовка бактерий для микрокапсулирования

Штамм *Lactobacillus acidophilus* AA-1 был выделен из традиционного йогурта в лаборатории прикладной микробиологии КазНУ им. аль-Фараби (Савицкая И.С., 2012: 110-114). Штамм был сохранен в глицерине (50%) и хранился при -20 ° С. Сохраненные клетки активировали дважды на чашках с агаром MRS перед использованием. После 48 ч роста отбирали одну колонию, инокулировали в 20 мл бульона MRS и инкубировали в течение 24 ч при 37 ° С. После этого культуру переносили в свежий бульон MRS и инкубировали при 37 ° С в течение 18 ч в анаэробных условиях. Клетки собирали в стационарной фазе роста центрифугированием при 6000 g в течение 15 минут при 4 ° С. Супернатант отбрасывали и клеточный осадок дважды промывали и ресуспендировали в 3 мл. в физиологического раствора. Концентрация клеток после такой обработки составляла около  $2 \times 10^{10}$  КОЕ/мл. Свежеприготовленную концентрированную клеточную суспензию количественно оценивали путем высева на агар MRS и сразу использовали.

### Получение инкапсулированных пробиотиков

Для получения инкапсулированных пробиотиков применяли следующие материалы покрытия: альгинат натрия; хитозан; пуллулан. Инкапсуляцию бактерий осуществляли путем экструзии.

Суспензию клеток сусpendировали в растворе капсулирующего вещества (2% альгинат натрия) в соотношении 1:5, чтобы получить суспензию, приблизительно содержащую  $10^{10}$  КОЕ/мл клеток. Затем эту смесь экструдировали через иглу диаметром 0,6 мм в стерильный 1% раствор хлорида кальция. Для экструзии использовали шприцевой дозатор «Agtmed MP-2003». Расстояние между иглой и раствором хлорида кальция составляло 25 см. Капли сразу же образовывали гелевые сферы. Шарикам давали

отстояться в течение 30 минут для полного затвердевания.

Для получения микрокапсул с двойным покрытием готовые альгинатные шарики с инкапсулированными бактериями помещали в 0,4% раствор хитозана или пуллулана. Далее их инкубировали в течение 40 мин на шейкере при 130 об/мин (Krasaekoort W., 2016: 177-183). Такая скорость перемешивания позволяла избежать агрегации микрокапсул. Затем капсулы помещали на 30 мин в 1% раствор  $\text{CaCl}_2$ , где происходило полное гелеобразование. Капсулы собирали из раствора с использованием стерилизованного сита (50 мкм) и промывали стерильной дистиллированной водой.

Вся процедура была выполнена с использованием автоклавированных (121°C, 15 мин) материалов и в стерильных условиях в ламинарном боксе с воздушным потоком. Капсулы хранили в стерильных флаконах с крышками при температуре 4°C и использовали в дальнейших экспериментах.

Таким образом, в конце процесса экструзии были получены три композиции частиц (матричного типа), содержащие альгинат (A) или смесь альгинат-хитозан (A-X) и альгинат-пуллулан (A-P) в качестве материала-герметика.

*Морфологическая характеристика микрочастиц методом оптической и сканирующей электронной микроскопии*

Средний диаметр частиц микрокапсул изменили с использованием лазерного анализатора размера частиц (Winner 2000ZD, Jinan Winner Particle Instruments Stock Co., Ltd., Китай).

Оптическую микроскопию влажных микрочастиц проводили с использованием микроскопа (MDL-150-TPI) и цифровой камеры (Samsung 14.2).

Морфологию замороженных высущенных микрочастиц оценивали с использованием сканирующего электронного микроскопа (JEOL, JM6360). Микрокапсулы были установлены на алюминиевые заглушки с помощью двухсторонней клейкой ленты, а затем было произведено напыление тонким слоем серебра.

*Количественная оценка жизнеспособных бактерий в капсулах*

Бактериальные клетки высвобождали из микрокапсул путем механического разрушения с использованием гомогенизатора. 1,0 г микрокапсул добавляли к смешанному раствору 0,06 моль/л цитрата натрия и 0,2 моль/л бикарбоната натрия и перемешивали в течение 1 часа при 37°C для ослабления покрытия. Жизнеспособ-

ность высвобожденных клеток определяли путем высея серийных разведений полученной суспензии на агар MRS. Колонииобразующие единицы подсчитывали после 48 ч анаэробной инкубации при 37 °C. Свободные клетки не подвергали гомогенизации, так как сравнение КОЕ свободных клеток до и после гомогенизации не показало существенной разницы.

Эффективность инкапсуляции (ЭИ) определяли по формуле (1):

$$\text{ЭИ \%} = (\text{N} \times \text{M}) / \text{N}_0 \times 100, \quad (1)$$

где N – количество жизнеспособных клеток, высвобожденных из 1,0 г микрокапсул, M – общая масса собранных микрокапсул, а  $\text{N}_0$  – количество свободных клеток перед микрокапсулированием.

#### Статистический анализ

Экспериментальные данные были проанализированы с помощью статистического программного обеспечения SPSS 13.0 (SPSS Inc., Чикаго, Иллинойс, США). Данные были собраны из трех независимых повторных экспериментов, содержащих три повторности, и результаты выражены как среднее ± стандартное отклонение. Различия между средними значениями были определены с помощью тестов Дунканна на нескольких диапазонах. Различия с Р-значением <0,05 были расценены как существенные.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Суть микрокапсулирования заключается в создании оболочки вокруг клеток микроорганизмов, следовательно, важным этапом является подбор подходящего материала для нее. От его свойств зависит эффективность защиты микроорганизмов от негативных факторов окружающей среды, а также способность к высвобождению клеток в нижних отделах желудочно-кишечного тракта. В связи с этим на первом этапе исследований проводился выбор оптимального полимера для микрокапсулирования пробиотиков.

При выборе носителя в рамках нужд промышленного производства учитываются следующие требования: отсутствие токсичности, доступность, невысокая стоимость. Так называемые «пищевые» полимеры весьма привлекательны для инкапсулирования и могут обеспечивать превосходную защиту клеток бифидобактерий и молочнокислых бактерий в неблагоприятных условиях. Как показал анализ данных литера-

туры, наиболее часто для микрокапсулирования пробиотиков в пищевой промышленности используются: альгинат натрия, пектин, хитозан, каррагинан, желатин, ксантан-желатиновая смесь, ацетофталат целлюлозы (Mary M.D., 2019: 1234-129). Альгинат натрия представляет собой полимер, широко используемый в качестве инкапсулирующего материала, поскольку он образует универсальную, биосовместимую и нетоксичную матрицу для защиты активных ингредиентов, особенно пробиотических штаммов, от факторов от неблагоприятных факторов (Rasin B. L., 2012: 130-151). Хотя альгинат натрия подходит для капсулирования, образовавшийся гель чувствителен к экстремальным значениям pH, которые могут влиять как на высвобождение, так и на защиту инкапсулированного материала (Tian W., 2015: 73352-73362). Материал для капсулирования может быть модифицирован физическими или химическими способами для укрепления матрицы. Одним из таких способов является покрытие микрокапсул дополнительным слоем (layer-by-layer) из других природных полимеров, например, хитозана или пуллулана. Эта стратегия и была использована в работе.

Живые пробиотические бактерии рода *Lactobacillus* наиболее часто используются в пробиотических кисломолочных продуктах. Штамм *L. acidophilus* AA-1, имеющийся в коллекции микроорганизмов кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби, обладает всеми необходимыми пробиотическими характеристиками: высоким уровнем кислотообразования, адгезивной и антагонистической активности. Он не обладает патогенностью и токсичностью, т.е. имеет необходимый уровень биологической безопасности (Савицкая И.С., 2012: 114-119). В связи с этим, именно этот штамм был использован в работе.

Одной из популярных стратегий инкапсуляции клеток пробиотиков является процесс экструзии, поскольку для этого не требуются высокие температуры и использование органических растворителей (Araújo E. M., 2016: 321-329). Поэтому для получения микрокапсул был выбран способ экструзии.

Этот метод заключается в смешивании пробиотического инокулята в гидроколлоидном растворе с последующей экструзией через сопло, а затем образовавшиеся капли собираются в растворе гелеобразователя. При получении альгинатных капсул в качестве гельформирующего вещества был отобран альгинат марки «MANUCOL DH» при концентрации 2%, соот-

ношение биомассы пробиотических культур и альгината натрия – 1:5; в качестве сшивающих ионов применяли 1%-ный раствор хлорида кальция (Chen H., 2017: 248-255).

Микрокапсулы оставляли для формирования устойчивой сферической формы, отделяли от раствора и использовали в дальнейших экспериментах. В результате экструзии в гидроколлоидном растворе альгината пробиотики образовали микрокапсулу матричного типа. В связи с тем, что пробиотики присутствуют во всей структуре частиц, они могут подвергаться воздействию условий окружающей среды, что может снизить их жизнеспособность при хранении и использовании.

Для покрытия альгинатных микрокапсул дополнительным слоем их выдерживали в течение 30-40 мин в 0,4% растворе хитозана или пуллулана. На рисунке 1 представлены 3 типа микрокапсул, полученных вышеописанным способом.

Микрокапсулы представляют собой сферические частицы белого цвета, с гладкой поверхностью. По внешнему виду все 3 вида капсул не отличались друг от друга. Отсутствие внешних различий было подтверждено и при анализе на сканирующем электронном микроскопе (рисунок 2).

Альгинатные микрокапсулы и микрокапсулы с покрытием имели схожую овальную форму. При этом комбинация полимеров в качестве дополнительной стенки не меняет типичной сферической формы. Компактная, устойчивая к проникновению поверхность может служить сильным физическим барьером, который защищает пробиотические клетки во время прохождения через желудочно-кишечный тракт.

СЭМ-исследование обнаружило включенные в матрицу капсул бактерии. Они присутствуют во всех 3-х типах микрокапсул (рисунок 3).

В ходе проведенных исследований было выявлено, что благодаря использованию материалов природного происхождения, не оказывающих токсический эффект, и отсутствию сильных механических, физических и химических воздействий гибели клеток в процессе инкапсулирования не происходило.

В таблице 2 приведены данные, полученные в экспериментах по определению эффективности инкапсулирования (%). Для непокрытых (альгинатных) и покрытых хитозаном и пуллуланом микрокапсул она составила  $96,35 \pm 1,65$ ;  $95,28 \pm 2,31$  и  $94,43 \pm 2,31$  соответственно. Разница не была статистически значимой ( $P > 0,5$ ).

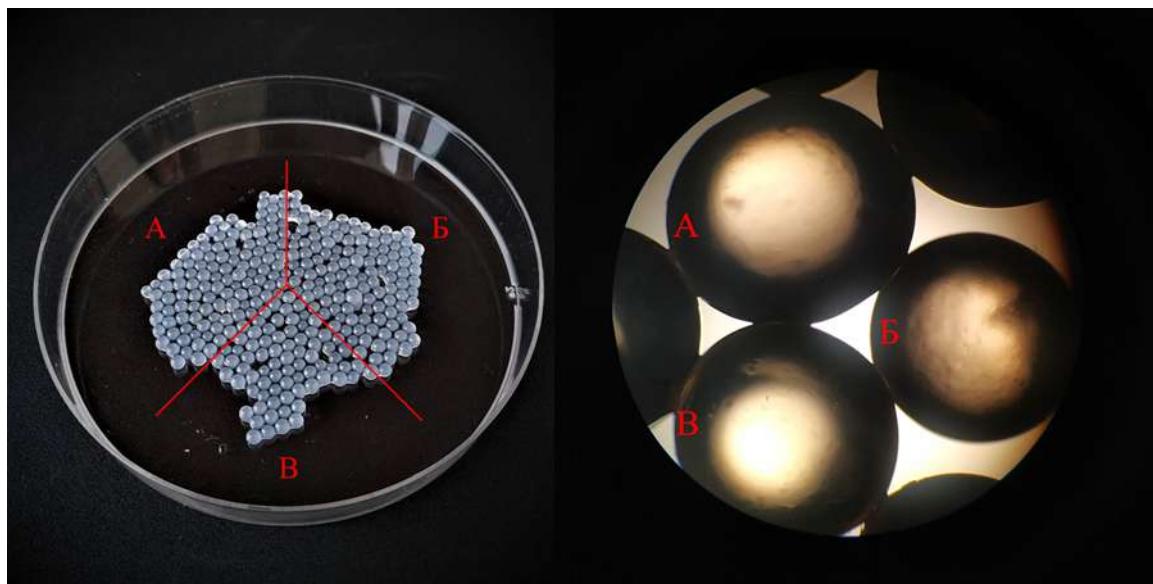


Рисунок 1 – Внешний вид микрокапсул на основе альгината (А),  
альгинат-хитозана (Б) и альгинат-пуллулана (В)

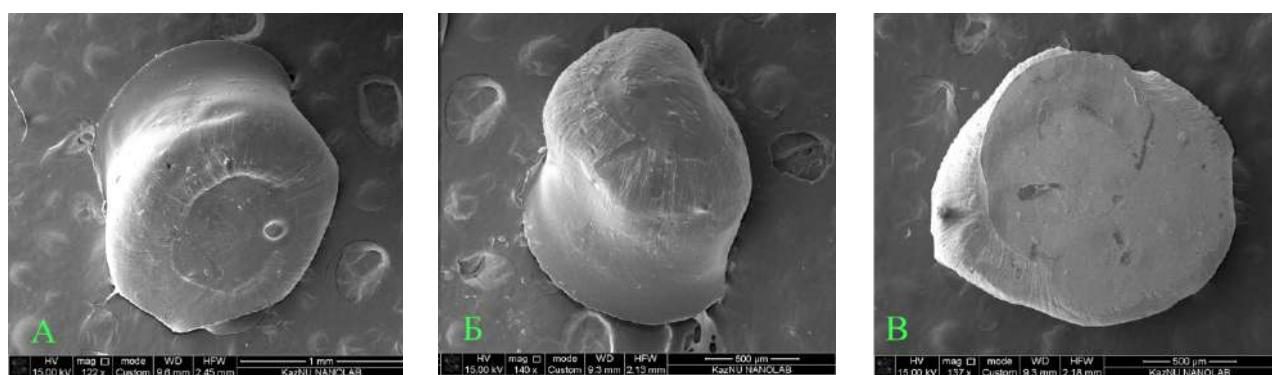


Рисунок 2 – СЭМ-изображение внешнего вида микрокапсул на основе альгината (А),  
альгинат-хитозана (Б) и альгинат-пуллулана (В)

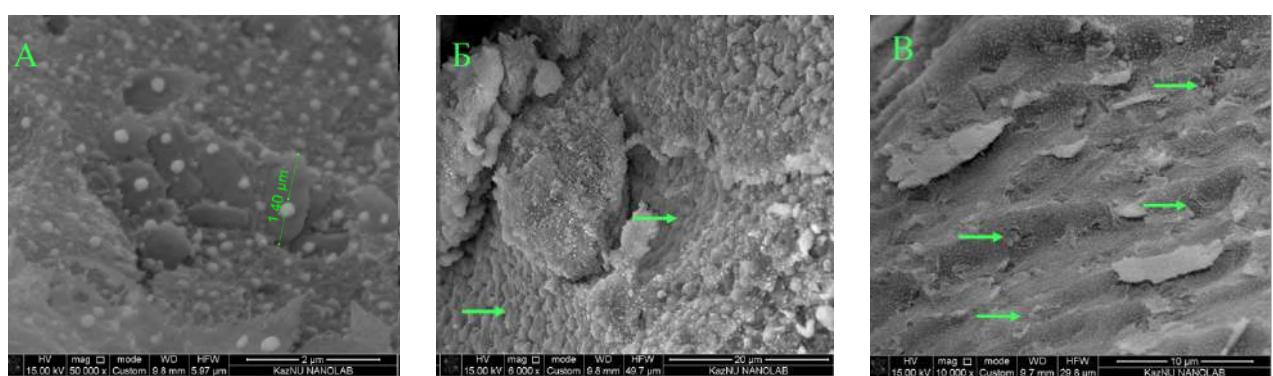


Рисунок 3 – Включение бактерий (обозначено стрелками) в микрокапсулы альгината (А),  
альгинат-хитозана (Б) и альгинат-пуллулана (В)

**Таблица 1 – Эффективность инкапсулирования и размер пробиотических микрокапсул, содержащих клетки *Lactobacillus acidophilus* AA-1**

Тип микрокапсул	Эффективность инкапсулирования, %	Размер микрокапсул, мкм
Альгинат	96,35±1,65	102,35±4,31
Альгинат-хитозан	95,28±2,31	136,42±5,73
Альгинат-пуллулан	94,43±2,31	145,37±6,25

Размер микрокапсул оказывает важное влияние на жизнеспособность пробиотиков и сенсорное воздействие на продукты питания. Как правило, более крупные микрокапсулы обеспечивают лучшую защиту от пробиотиков (Lee K., 2010: 869-873), но продукт может иметь нежелательные сенсорные свойства (Rajam R., 2015:4029-4041). Показано, что микрокапсулы в диапазоне размеров 100–200 мкм обеспечивают оптимальный баланс между этими двумя противоречивыми требованиями (Nag A., 2011: 247-253). В нашем исследовании размер всех микрокапсул попадает в этот оптимальный диапазон. После покрытия хитозаном и пуллуланом средний размер микрокапсул увеличился на 34 и 43 мкм соответственно. Отчасти это связано с толщиной слоя покрытия и частично с агрегацией микрокапсул.

Взаимодействия между бактериями и материалами стенок имеют решающее значение для определения эффективности инкапсуляции. Высокая эффективность инкапсуляции, полученная в нашей работе, показала, что процесс инкапсуляции был мягким и материалы стенок были совместимы с пробиотическим штаммом. Кроме того, незначительная разница в эффективности капсулирования между непокрытыми и покрытыми хитозаном и пуллуланом микрокапсулами показывает, что процесс покрытия не оказывал неблагоприятного влияния на повторный сбор

микрокапсул. Показано, что макромолекулы на поверхности бактерий могут взаимодействовать с материалами стенки различными способами, включая силы Ван-дер-Ваальса, электростатические и гидрофобные взаимодействия (Burgain J., 2013: 153-162). Эти же механизмы могут способствовать высокой эффективности инкапсуляции, полученной в этой работе.

### Заключение

Получены альгинатные, альгинат-хитозановые, альгинат-пуллулановые пробиотические микрокапсулы. Оптимальным является соотношение биомассы пробиотического штамма и 2%-ного альгината натрия – 1:5, в качестве сшивящих ионов 1%-ного раствора хлорида кальция. Эффективность иммобилизации клеток *L. acidophilus* AA-1 для непокрытых (альгинатных) и покрытых хитозаном и пуллуланом микрокапсул составила 96,35±1,65; 95,28±2,31 и 94,43±2,31 соответственно. Микрокапсулы представляют собой сферические частицы, белого цвета, с гладкой поверхностью. Размеры микрокапсул 102–145 мкм.

Разработанные на основе полисахаридных матриц пробиотические микрокапсулы могут быть использованы в промышленной технологии для создания обогащенных пробиотиками продуктов питания.

### Литература

- 1 Fernandez M., Hudson J.A., Korpela R., Reyes-Gavilan C.G. Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: an overview // Bio Med Research International. – 2015. – № 13. – P. 1-13.
- 2 Mortazavian A.M., Mohammadi R., Sohrabvandi S. Delivery of probiotic microorganisms into gastrointestinal tract by food products // New Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology // InTech. – 2012. – № 61. – P. 121-146.
- 3 Shah N.P. Probiotic bacteria: selective and enumeration and survival in dairy foods // Journal dairy science. – 2000. – Vol. 83. – P. 894-907.
- 4 Martensson O. The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products // Food research international. – 2012. – № 35. – P. 775-784.
- 5 Marteau P. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile // J. Dairy Sci. – 2017. – № 80. – P. 1031-1037.
- 6 Dave R.I. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt // Journal dairy science. – 2018. – № 81. – P. 2804-2816.

- 7 Champagne C.P. Immobilized cells technologies for the dairy industry // Critical reviews in biotechnology. – 2014. – № 14. – P. 109-134.
- 8 Ананьева Н.В., Ганина В.И., Нефедова Н.В., Габрильян Г.Р. Перспективы применения иммобилизованных форм пробиотических бактерий в производстве молочных продуктов // Молочная промышленность. – 2009. – № 11. – С. 46-47.
- 9 Riaz Q.U.A., Masud T. Recent trends and applications of encapsulating materials for probiotic stability // Food Science and Nutrition. – 2013. – № 53. – P. 231–244.
- 10 Sri S.J., Seethadevi A., Prabha K.S., Muthuprasanna P., Pavitra P. Microencapsulation: A Review // International Journal of Pharma and Bio Sciences. – 2012. – № 3. – P. 1-23.
- 11 Morales M.E., Ruiz M.A. Microencapsulation of probiotic cells: applications in nutraceutic and food industry // In Nutraceuticals. – 2016. – № 1. – P. 627–668.
- 12 Anal A.K., Singh H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery // Trends in Food Science and Technology. – 2017. – P. 240–251.
- 13 Ramos P.E., Cerquera M.A., Teixeira J.A., Vecente A.A. Physiological protection of probiotic microcapsules by coatings // Crit.rev. Food Sci. Nutr. – 2018. – P. 1864-1877.
- 14 Tomaro-Duchesneau C., Saha S., Malhotra M., Kahouli I., Prakash S. Microencapsulation for the therapeutic delivery of drugs, live mammalian and bacterial cells, and other biopharmaceutics: current status and future directions // Journal of pharmaceutics. – 2013. – № 55. – P. 1-19.
- 15 Carvalho A.S. Microcapsulation as a method of new technologies // Journal of food science. – 2013. – № 68. – P. 2538-2541.
- 16 Савицкая И.С., Нигметова К., Воронова Н.В., Кистаубаева А.С. Исследование антагонистической активности и жизнеспособности клеток лактобацилл, иммобилизованных на карбонизованном сорбенте // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2012. – №4 (56) – С. 110-114.
- 17 Krasaecko W.; Bhandari B.; Deeth H.C. Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage // LWT Food Sci. Technol. – 2016. – № 39. – P. 177–183.
- 18 Mary M.D. Chitosan-alginate complex coacervate capsules: effects of calcium chloride, plasticizers and polyelectrolytes on mechanical stability // Biotechnolgy progress. – 2019. – № 2. – P. 1234-129.
- 19 Pasin B. L., Azón C. G. & Garriga A. M. Microencapsulación con alginato en alimentos // Técnicas y aplicaciones. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. – 2012. – № 3. – P. 130–151.
- 20 Tian W., Song J., Wang Y., Yue L., Wang J., Dan T., Zhang H. Effect of different calcium salts and methods for triggering gelation on the characteristics of microencapsulated Lactobacillus plantarum LIP-1 // RSC Advances. – 2015. – № 5. – P. 73352–73362.
- 21 Савицкая И.С., Абдулжанова М., Жумагалиева Ж., Кистаубаева А.С. Принципы отбора штаммов для нового лакто-содержащего пробиотика // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2012. – №4 (56) – С. 114-119.
- 22 Araújo E. M., Raddatz G., Cichoski A. Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of Lactobacillus acidophilus microencapsulated with sodium alginate // Journal of Functional foods. – 2016. – № 21. – P.321-329.
- 23 Chen H., Li X. Microencapsulation of Lactobacillus bulgaricus and survival assays under simulated gastrointestinal conditions // Journal of Functional foods. – 2017. – № 29. – P. 248-255.
- 24 Lee K., & Heo, T. Survival of Bifidobacterium longum immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salt solution // Applied and Environmental Microbiology. – 2010. – № 66. – P. 869–873.
- 25 Rajam R., Kumar, S. B., Prabhasankar P., & Anandharamakrishnan C. Microencapsulation of Lactobacillus plantarum MTCC 5422 in fructooligosaccharide and whey protein wall systems and its impact on noodle quality // Journal of Food Science and Technology. – 2015. – № 52. – P. 4029–4041.
- 26 Nag A., Han K. S. & Singh H. Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum // International Dairy Journal. – 2011. – № 21. – P. 247–253.
- 27 Burgain J., Gaiani C., Francius G., Revol-Junelles A. M., Cailliez-Grimal C., Lebeer S. In vitro interactions between probiotic bacteria and milk proteins probed by atomic force microscopy // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2013. – № 104. – P. 153–162.

## References

- 1 Fernandez M., Hudson J.A., Korpela R., Reyes-Gavilan C.G. (2015) Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: an overview. Bio Med Research International, no. 13, pp. 1-13.
- 2 Mortazavian A.M., Mohammadi R., Sohrabvandi S. (2012) Delivery of probiotic microorganisms into gastrointestinal tract by food products. New Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology. InTech, no. 61, pp. 121-146.
- 3 Shah N.P. (2000) Probiotic bacteria: selective and enumeration and survival in dairy foods. Journal dairy science, vol. 83, pp. 894-907.
- 4 Martensson O. (2012) The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products, Food research international, no. 35, pp. 775-784.
- 5 Marteau P. (2017) Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile. J. Dairy Sci., no. 80, pp. 1031-1037.
- 6 Dave R.I. (2018) Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. Journal dairy science, no. 81, pp. 2804-2816.

- 7 Champagne C.P. (2014) Immobilized cells technologies for the dairy industry. Critical reviews in biotechnology, no. 14, pp. 109-134.
- 8 Anan'eva N.V., Ganina V.I., Nefedova N.V., Gabril'yan G.R. (2009) Perspektivy primeneniya immobilizovannyh form probioticheskikh bakterij v proizvodstve molochnyh produktov [Prospects for the use of immobilized forms of probiotic bacteria in the production of dairy products]. Molochnaya promyshlennost', no. 11, pp. 46-47.
- 9 Riaz Q.U.A., Masud T. (2013) Recent trends and applications of encapsulating materials for probiotic stability. Food Science and Nutrition, no. 53, pp. 231–244.
- 10 Sri S.J., Seethadevi A., Prabha K.S., Muthuprasanna P., Pavitra P. (2012) Microencapsulation: A Review. International Journal of Pharma and Bio Sciences, no. 3, pp. 1-23.
- 11 Morales M.E., Ruiz M.A. (2016) Microencapsulation of probiotic cells: applications in nutraceutic and food industry. In Nutraceuticals, no. 1, pp. 627–668.
- 12 Anal A.K., Singh H. (2017) Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends in Food Science and Technology, pp. 240–251.
- 13 Ramos P.E., Cerquera M.A., Teixeira J.A., Vecente A.A. (2018) Physiological protection of probiotic microcapsules by coatings. Crit.rev. Food Sci. Nutr., pp. 1864-1877.
- 14 Tomaro-Duchesneau C., Saha S., Malhotra M., Kahouli I., Prakash S. (2013) Microencapsulation for the therapeutic delivery of drugs, live mammalian and bacterial cells, and other biopharmaceutics: current status and future directions. Journal of pharmaceuticals, no. 55, pp. 1-19.
- 15 Carvalho A.S. (2013) Microcapsulation as a method of new technologies. Journal of food science, no. 68, pp. 2538-2541.
- 16 Savickaya I.S., Nigmatova K., Voronova N.V., Kistaubaeva A.S. (2012) Issledovanie antagonisticeskoy aktivnosti i zhiznesposobnosti kletok laktobacill, immobilizovannyh na karbonizovannom sorbente [Study of antagonistic activity and viability of Lactobacillus cells immobilized on a carbonized sorbent]. Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya, no. 4 (56), pp. 110-114.
- 17 Krasaeko W.; Bhandari B.; Deeth H.C. (2016) Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage. LWT Food Sci. Technol., no. 39, pp. 177–183.
- 18 Mary M.D. (2019) Chitosan-alginate complex coacervate capsules: effects of calcium chloride, plasticizers and polyelectrolytes on mechanical stability. Biotechnolgy progress, no. 2, pp. 1234-129.
- 19 Pasin B. L., Azón C. G. & Garriga A. M. (2012) Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos, no. 3, pp. 130–151.
- 20 Tian W., Song J., Wang Y., Yue L., Wang J., Dan T., Zhang H. (2015) Effect of different calcium salts and methods for triggering gelation on the characteristics of microencapsulated Lactobacillus plantarum LIP-1. RSC Advances, no. 5, pp. 73352–73362.
- 21 Savickaya I.S., Abdulzhanova M., ZHumagalieva ZH., Kistaubaeva A.S. (2012) Principy otbora shtammov dlya novogo laktosoderzhchego probiotika [Principles for selecting strains for a new lactose -containing probiotic]. Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya, no. 4 (56), pp. 114-119.
- 22 Araújo E. M., Raddatz G., Cichoski A. (2016) Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of Lactobacillus acidophilus microencapsulated with sodium alginate. Journal of Functional foods, no. 21, pp. 321-329.
- 23 Chen H., Li X. (2017) Microencapsulation of Lactobacillus bulgaricus and survival assays under simulated gastrointestinal conditions. Journal of Functional foods, no. 29, pp. 248-255.
- 24 Lee K., & Heo, T. (2010) Survival of Bifidobacterium longum immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salt solution. Applied and Environmental Microbiology, no. 66, pp. 869–873.
- 25 Rajam R., Kumar, S. B., Prabhakar P., & Anandharamakrishnan C. (2015) Microencapsulation of Lactobacillus plantarum MTCC 5422 in fructooligosaccharide and whey protein wall systems and its impact on noodle quality. Journal of Food Science and Technology, no. 52, pp. 4029–4041.
- 26 Nag A., Han K. S. & Singh H. (2011) Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum. International Dairy Journal, no. 21, pp. 247–253.
- 27 Burgain J., Gaiani C., Francius G., Revol-Junelles A. M., Cailliez-Grimal C., Lebeer S. (2013) In vitro interactions between probiotic bacteria and milk proteins probed by atomic force microscopy. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, no. 104, pp. 153–162.

**D. Kairat, A. Smagulova, V. Kiyan\***

Research Platform of Agricultural Biotechnology,  
S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Kazakhstan, Nur-Sultan  
\*e-mail: vskiyana@gmail.com

## **INVESTIGATION OF *GALLERIA MELLONELLA* MICROBIOME TO DETERMINE ITS SPECIES COMPOSITION**

Microbiome research is a key important method of microbiological research that can be beneficial in solving modern problems. Organisms with a normal microbiome are less susceptible to pathogens, as well as, probiotic features of symbiotic bacteria in the microbiome positively act in their sustainable development and survival. The current study aimed to characterize the gut microbiome of greater wax moth larvae – *Galleria mellonella* and its species composition. A total of 38 bacterial isolates from the gut microbiome of greater wax moth larvae were identified by using 16S rRNA gene analysis. Isolates of microorganism from *G. mellonella* larvae could be grouped into three phyla: *Bacillus* (60%), *Rhizobium* (20%), and *Pseudomonas* (20%). Morphological and phylogenetic analysis showed that bacterial strains belonging to *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus subtilis*, *Rhizobium pusense* and *Pseudomonas parafulva* and were dominant in the gut microbiome *Galleria mellonella*. Bacterial strains isolated from larvae gut separately can be used in biotechnology, agriculture, and ecology.

**Key words:** *Galleria mellonella*, gut microbiome, 16S rRNA sequencing.

Д. Қайрат, А. Смағұлова, В. Киян\*

Ауылшаруашылық биотехнологиясының ғылыми платформасы,  
С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.  
\*e-mail: vskiyana@gmail.com

### ***Galleria mellonella* баланқұрттының микробиомын зерттеу және оның құрамын анықтау**

Микробиомды зерттеу – заманауи мәселелерді шешуде пайдалы болуы мүмкін микробиологиялық зерттеулердің негізгі әдісі. Қалыпты микробиомы бар ағзалар патогендерге аз сезімтал, ал микробиомдағы симбиотикалық бактериялардың пробиотикалық қасиеттері олардың тұрақты дамуы мен өмір сүруіне он әсер етеді. Баланқұрттардың симбиотикалық ішек микроагзалары бейтансыс микроагзаларды және токсinderді жоюға көмектеседі, сондай-ақ, жәндіктің иммундық жүйесінің жұмысын арттырады. Ішек микроагзалары баланқұрттардың метаболизміне қатысып ферменттивті белсенділігін арттырады, осыған орай ішек микроагзаларының және жәндіктің ферменттерінің синергизмі пластикалық полимерлерді биологиялық ыдырату мүмкіншілігі зерттелуде. Осы зерттеу *Galleria mellonella* балауыз қебелегі дернәсілдерінің ішек микробиомын және оның түрлік құрамын сипаттауға бағытталған. Балауыз қебелегі дернәсілдерінің ішек микробиомынан барлығы 38 бактериялық изолят 16S rRNA гендерін анализімен анықталды. *G. mellonella* дернәсілдерінен оқшауланған микробиомдердің үш негізгі тұқымға бөлуге болады: *Bacillus* (60%), *Rhizobium* (20%) және *Pseudomonas* (20%). Морфологиялық және филогенетикалық талдау көрсеткендегі, *Galleria mellonella* ішек микробиомында *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus subtilis*, *Rhizobium pusense* және *Pseudomonas parafulva* түрлеріне жататын бактериялық штамдар басым болған. Баланқұрттардың ішектерінен бөлек оқшауланған бактериялық штамдарды биотехнологияда, ауыл шаруашылығында және экологияда қолдануға болады.

**Түйін сөздер:** *Galleria mellonella*, ішек микробиомы, 16S рРНК, секвенирлеу.

Д. Қайрат, А. Смағулова, В. Киян\*

Исследовательская платформа сельскохозяйственной биотехнологии,  
Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, Казахстан, г. Нур-Султан  
\*e-mail: vskiyana@gmail.com

### **Исследование микробиома *Galleria mellonella* для определения его видового состава**

Исследование микробиома – это ключевой метод микробиологического исследования, который может быть полезен при решении современных проблем. Организмы с нормальным микробиомом менее восприимчивы к патогенам, а пробиотические свойства симбиотических

бактерий в микробиоме положительно влияют на их устойчивое развитие и выживание. Симбиотические кишечные микроорганизмы личинок способствуют нейтрализации инородных патогенных микроорганизмов и их токсинов, а также повышают активность иммунной системы насекомого. Кишечные микроорганизмы участвуют в метаболизме личинок и повышают их ферментативную активность, в связи с чем изучается синергизм кишечных микроорганизмов и ферментов насекомых для определения возможности биоразложения пластичных полимеров. Настоящее исследование направлено на характеристику микробиома кишечника личинок восковой моли – *Galleria mellonella* и его видовой состав. Всего 38 бактериальных изолятов из микробиома кишечника личинок восковой моли было идентифицировано с помощью анализа гена 16S рРНК. Выделенные избличинок *G. mellonella* микроорганизмы микроорганизмов можно разделить на три основных рода: *Bacillus* (60%), *Rhizobium* (20%) и *Pseudomonas* (20%). Морфологический и филогенетический анализ показал, что штаммы бактерий, принадлежащие к видам *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus subtilis*, *Rhizobium pusense* и *Pseudomonas parafulva*, доминировали в микробиоме кишечника *Galleria mellonella*. Штаммы бактерий, выделенные отдельно из кишечника личинок, могут быть использованы в биотехнологии, сельском хозяйстве и экологии.

**Ключевые слова:** *Galleria mellonella*, микробиом кишечника, секвенирование 16S рРНК.

## Introduction

Microorganisms are ubiquitous organisms found almost everywhere on our planet; further more, they can be found in living organisms. The community of microorganisms living in and on bodies of living organisms is called “microbiome”. The definition of the term “microbiome” first given by Joshua Lederberg, states: “the ecological community of commensal, symbiotic and pathogenic microorganisms that share our body space” [1]. Microorganisms not only present in the gut, moreover, but they also found on the body surface of different plants and animals, including humans, and are capable of carrying out several metabolic tasks, which ordinary body cells do not perform [2].

Microbiome research of insects is increasing importance in understanding their vital functions and communication with other branches of life; hence, an enormous number of insects are involved in symbiotic, parasitic or commensal interactions. For instance, *Drosophila melanogaster* gut microbiome research, carried out by Angela E. Douglas illustrates that insects and their microbiome have undeniable value as a model organism for microbiome research, including genetic and genomic investigations in microbiome manipulations accomplished in different conditions [3].

Microbial interactions occur not only within one organism but also in natural communities, involved in synergism and antagonism between different species. Microbiomes of insects, in case, represent uninvestigated interactions that can be used in different areas of biotechnology and medicine, for example, in antimicrobial drug discovery. Recent scientific research that was done by Marc G. Chevrette et al. showed insect microbiome-derived *Streptomyces*

antimicrobial metabolites tend to be more active than soil-derived *Streptomyces* strains [4]. Exploration of the insect microbiome compositions has great potential as a valuable source of new substances and interactions with other species in the environment.

Several usages of *Galleria mellonella* in biology and medicine had been reported [5-8]. For the past two decades, microbiologists have searched alternatives to mammals for studying the molecular basis of virulence and for testing antimicrobial drugs. Tsai et al. Made a literature review which reported the value of *G. mellonella* larvae as a model for investigating bacterial pathogens. The authors highlight many of the attractive features of this model: when compared with mammals, *G. mellonella* larvae are cheaper and easier to maintain, they do not require specialized laboratories or equipment and work with *G. mellonella* does not require ethical approval. Unlike many alternative models, *G. mellonella* can be maintained at 37°C. It can be an essential feature of this model is the ease with which the larvae can be injected with precise doses of a pathogen, allowing the relative virulence of strains and mutants to be compared [9].

In a limited number of studies done by Péchy-Tarr M. et al. showed that preparations from either bacteria or fungi that have been injected into *G. mellonella* to study their toxicity were less virulent to the larvae. In many cases, the toxins studied are known to be insecticidal, and *G. mellonella* larvae provide an excellent model to investigate toxicity [10].

Wojda et al. made researches about *G. mellonella* immunity, describing anatomical and physiological barriers of insects, protecting them against invasion by microorganisms [11]. While *D. melanogaster* is used to study the genetic aspect of insect immunity,

*G. mellonella* can serve as a good model for biochemical research [12]. According to the size of the insect, it is possible to easily obtain hemolymph and other tissues as a source of many immune-relevant polypeptides. Therefore, larvae serve as a model to study the virulence mechanisms of human pathogens. Besides, Wojda et al. affirm that antibacterial and antifungal peptides derived from insects and proteins can be considered and applied as alternatives to antibiotics according to their potential [13].

According to the research done by Paolo Bombelli et al. biodegradation of polyethylene is possible by larvae of the wax moth *G. mellonella*, producing ethylene glycol [14]. However, the question that whether the hydrocarbon-digesting activity of *G. mellonella* derives from the organism itself, or enzymatic activity of larval gut microbiome remains unsolved.

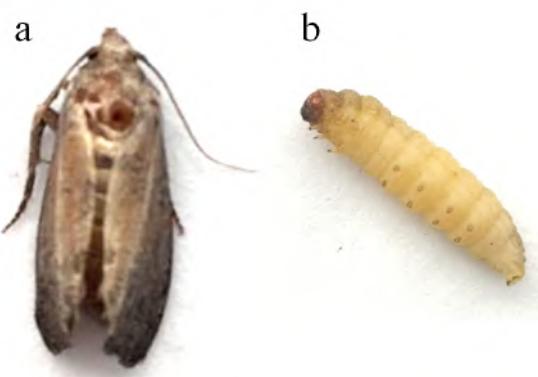
A recent scientific study carried out by Mélyssa Cambronelet et al. describes a successful implementation of *G. mellonella* larvae as a model for the *P. aeruginosa* H103 virulence demonstration that had been treated with epinephrine [15].

*G. mellonella* is one of the common testing organisms in the investigation of several pesticides, insect pathogens, and biologically active substances. However, most properties of this organism remain unstudied. Immunity and highsurviving abilities of organisms closely related to their microbiome and symbiosis. Digestive tract (gut) of *G. mellonella* had been studied to obtain knowledge about its microbiological composition via microbiology and molecular genetic analysis techniques.

## Materials and methods

### Sample collection and microbiome isolation

The samples of *G. mellonella* larvae were collected from the family apiary in the Akmola region, Kazakhstan (Fig.1). Honeycombs contaminated with larvae were used for further larvae proliferation in laboratory conditions. A larvae sample was treated with 70% ethanol for 2-3 min, to avoid contamination from the caterpillar surface. Thereafter larvae samples were treated with sterile 1<sup>x</sup> PBS (pH 7.2-7.4) and moved them to a glass slide for the preparation, isolating the insect intestine. The isolated intestine then was moved to a 1 ml sterile tube with 1<sup>x</sup> PBS with 0.9% sodium chloride and centrifuged at 3000 RPM for 5 min. After the centrifugation, larvae gut tissues were carefully removed from the tube, remained suspension was vortexed and used as inoculum.



**Figure 1 – Wax moth *G. mellonella*:** a – adult moth, b – larva

Luria-Bertani (LB) broth (Sigma-Aldrich, USA) (10 g/L tryptone, 5 g/L yeast extract, 5 g/L NaCl, 2.2 g/L inert binding agents, and pH 7.2) was used for the isolation and culture of bacteria present in larvae gut tissues. Isolated gut bacteria were inoculated to culture media under sterile conditions and cultivated at 37°C in an incubator for 24 hours under 150 RPM on a laboratory shaker. After the 24-hour cultivation of gut bacteria, we made a smear, to carry out microscopy of cells via Gram staining. After the 24-hour cultivation of gut bacteria, did a smear and carry out microscopy of cells via Gram staining. Serial dilutions ( $10^{-1}$ – $10^{-10}$ ) were made for larvae gut tissue samples. The dilutions from  $10^{-3}$  to  $10^{-6}$  were inoculated on LB agar plates to isolate single colonies. Plates were incubated at 37°C until the appearance of bacterial colonies. Bacterial colonies were studied by morphological properties and using microscopy. The bacteria were purified by repeated sub-culturing of single colonies.

### DNA extraction and molecular characterization

The genomic DNA of separate colonies of the microorganisms was isolated using the bacterial DNA isolation kit (“Biosilica”). The isolation was performed according to the kit instructions. The quality of genomic DNA was monitored by electrophoresis on a 1 % agarose gel. Electrophoresis was carried out in a Max Fill HU10 horizontal electrophoresis chamber and a Consort EV 243 current source. 1<sup>x</sup> TAE buffer was used as an electrode buffer. The 16S rRNA was amplified using the primer pair: forward 16SrRNA-8F (5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3') and reverse 16SrRNA-806R (5'- GGACTACCAGGGTATCTAAT-3') (Sigma-Aldrich, USA). For all used primers, we prepared 20 µl mixture that contained 25 ng of each target DNA. The mixture also contained Taq DNA

Polymerase (Fermentas), 0.2 mM of each dNTP, 1<sup>x</sup> PCR buffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, and 10 pmol of each primer. The PCR program was run on a Master cycler Gradient, (Eppendorf) amplifier.

#### PCR samples purification

PCR samples were purified from oligonucleotide residues by dephosphorylation using alkaline phosphatase (SAP – shrimp alkaline phosphatase) and endonuclease. A mixture was prepared in a total volume of 10 µl for each sample – dH<sub>2</sub>O – 7.25 µL, 10<sup>x</sup> PCR Buffer – 1.0 µl, MgCl<sub>2</sub> – 1.0 µl, SAP (5 mM) – 2.5 µl, Exonuclease I (5 units/µL) – 0.125 µl. The resulting mixture was added to each PCR product, placed in a thermal cycler under the following conditions: 37°C – 30 min, 85°C – 15 min, 4°C – ∞. Sample preparation for sequencing carried out by precipitation with an alcohol-acetate mixture.

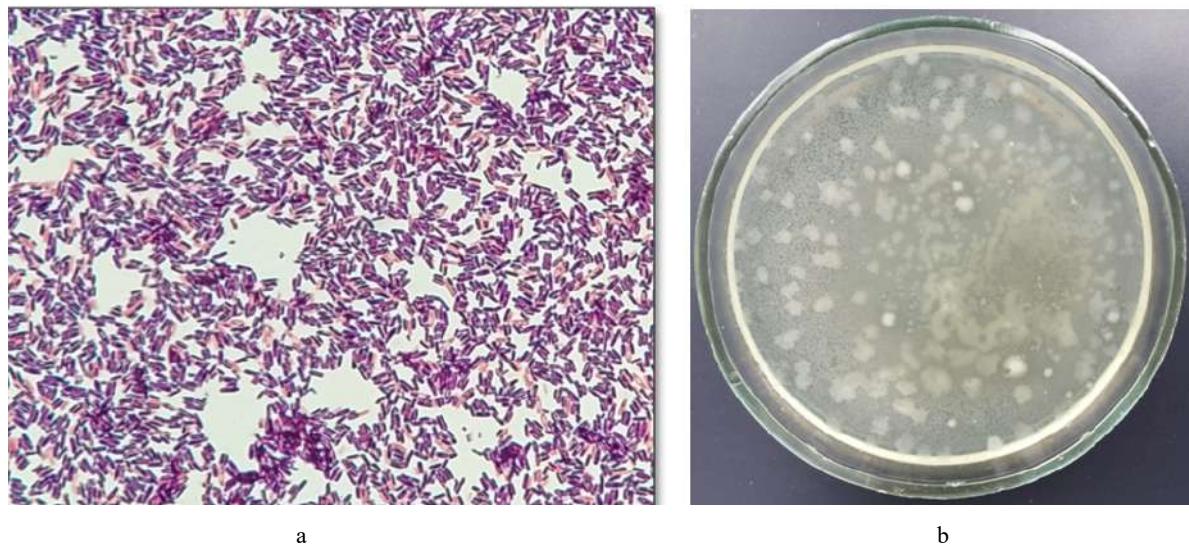
#### DNA sequencing

The components of a standard set of reagents for the sequencing reaction were prepared in a 0.2-ml thin-walled thermocycler tube. A standard set of reagents for cyclic sequencing using *CEQ WellRED* terminator dyes (partially mixed). The following

thermal cycle program was chosen: 96°C – 20 sec, 50°C – 20 sec, 60°C – 4 min for 30 cycles and followed by aging at 4°C. The sequencing was done by using BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), and the sequence was deposited in GenBank. These sequences were compared with other sequences in the GenBank by using the BLAST analysis. The phylogenetic analysis was carried out with MEGA 6 software.

## Results

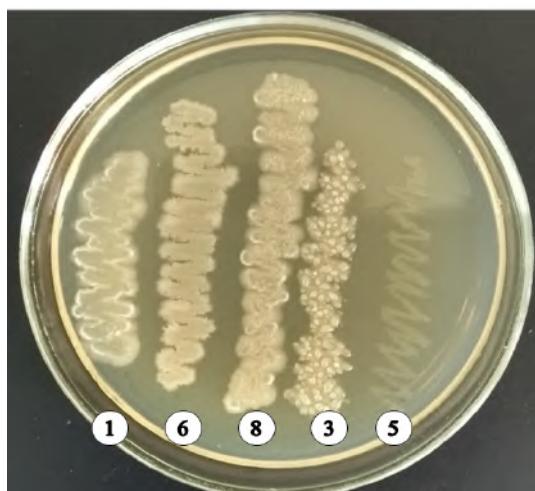
**The phenotypic characteristics of the isolated bacterial strains.** Microorganisms obtained from the *Galleria mellonella* intestine showed a multitude of different strains of microorganisms. The total culture samples containing various types of microorganisms having morphological and microscopic characteristics (Fig. 2). The nature of the growth of colonies on LB broth nutrient medium and the results of staining total culture samples showed that their microorganisms belong to bacterial strains.



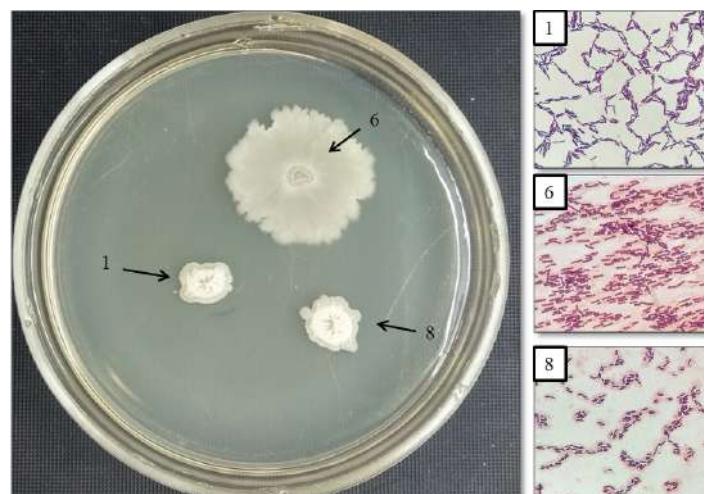
**Figure 2** – Microscopy of the sample from larvae gut tissues

The intestinal microbiome of wax moth larvae showed a great many species of microorganisms, which subsequently were divided into five groups according to their main properties and characteristics. Each group is distinguished by the features of culture growth and data of microscopic analysis (Fig. 3). The most common bacterial species included *Bacillus* strains. Three of five groups (strain

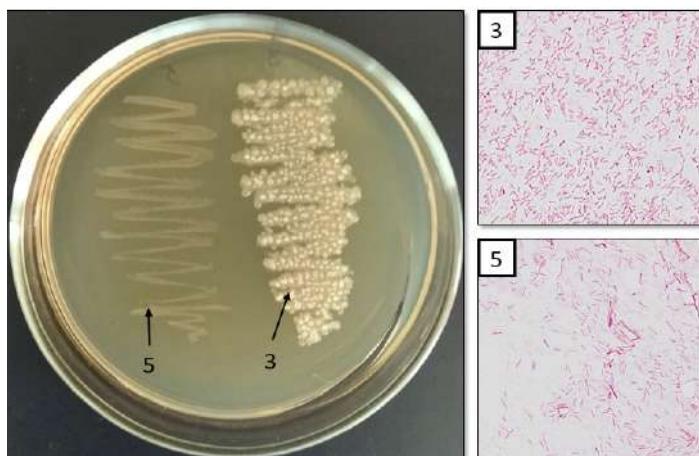
#1, 6, 8) were characterized by spore formation and similar growth patterns, which allowed these strains of microorganisms to be classified as *Bacillus* spp. (Fig. 4). The fourth and fifth groups of bacteria were characterized by the presence of pronounced properties for bacteria of the genus *Rhizobium* spp. (strain #3) and *Pseudomonas* spp., (strain #5) respectively (Fig. 3, 5).



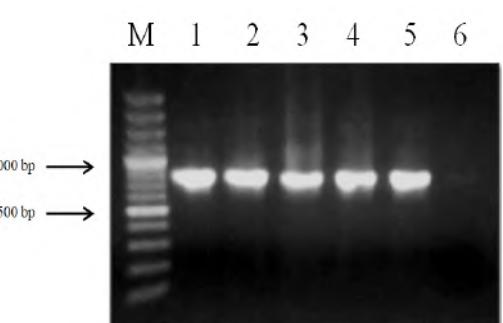
**Figure 3** – The growth of colonies of microorganisms in the LB medium



**Figure 4** – The growth of colonies and microscopy analysis the strains of *Bacillus* spp.



**Figure 5** – The *Rhizobium* spp. and *Pseudomonas* spp. strain growth patterns in LB agar medium



**Figure 6** – Electrophoretic analysis of PCR products obtained with DNA of the bacterial strains: Lane M, DNA ladder (bp); lane 1-3, *Bacillus* spp. DNA; lane 4, *Pseudomonas* spp. DNA; lane 5, *Rhizobium* spp. DNA; lane 6, negative control.

**The phylogenetic analysis of the bacterial strains by gene sequences.** The amplification of the genome DNA from the bacterial strains allowed obtaining products of approximately 800-900 bp when using species-specific primers (Fig. 6).

The PCR products of bacterial strains were subjected to sequence analysis. The nucleotide sequences of the studied species were deposited in NCBI GenBank database (*B. amyloliquefaciens* isolate MT015597.1, *B. velezensis* isolate MT022411.1, *B. subtilis* isolate MT498848.1 and *R. pusense* isolate MT022412.1. The phylogenetic analysis showed that isolates from *G. mellonella* larvae could be grouped into three phyla: *Bacillus* (60%), *Rhizobium* (20%), and *Pseudomonas* (20%).

## Discussion

Historically, microbiome researches have always been not sufficient enough to investigate it more deeply. Methods based on ordinary cultivation are not capable of growing different communities of bacteria from a variety of different taxonomic groups; certain types of bacteria are unable to cultivate either. However, with the development of Sanger's sequencing technology, bacterial identification in the microbiome became easier and cost-effective. This scientific breakthrough, with the support of bioinformatics, has unveiled several new frontiers in the analysis of microbiome, including its community structure, pathogenic microorganisms detection in the microbiome with their virulence

mechanisms and whole bacterial community interactions, like commensalism, mutualism, and amensalism [16].

Insects are the most diversified and plentiful life form on our planet, found almost in every ecological niche. Widespread success and evolutionary progress of insects are connected with their close communication and cooperation with beneficial bacteria. As a result, microorganisms facilitate the digestion of nutrient-poor food sources, protect from pathogens and parasites, take part in intraspecific communication, and regulate their reproductive processes. Microorganisms, primarily located in the gut, also contribute to certain relevant functions that are connected with medicine, ecology, and agriculture. Besides, several species of insects can be implemented as laboratory models for microbial interactions investigation between different bacteria or with their hosts in metabolic or immunity cases [17].

Recent microbiome studies of the *Galleria mellonella* microbiome in the investigation of polyethylene and polystyrene revealed *Bacillus* and *Pseudomonas* strains contributing to larvae in the digestion of represented plastic polymers [18]. Isolated *Bacillus* and *Pseudomonas* strains can colonize and partly degrade polystyrene and polyethylene, causing plastic weight loss in the range of 0.5-1.5 percent for *Bacillus* [19] and 23 percent HIPS (High Impact Polystyrene) film degradation for *Pseudomonas* after treatment with bromine-containing compounds respectively [20]. In our studies, we were also able to isolate and identify these two types of bacteria (Fig. 3-4). In addition, by species sequencing via 16S rRNA primers, the species affiliation with *B. amyloliquefaciens*, *B. velezensis*, *B. subtilis*, and *Pseudomonas* was shown.

Isolated *Bacillus amyloliquefaciens* strains are commonly used in the production of amylases and proteases in industrial scales; further more current bacteria also have specific probiotic properties with no harmful effect for humans or animals [21, 22]. Besides, *Bacillus* genus bacteria often act as a plant growth-promoting bacteria (PGPR) found in soil, simultaneously acting as a biocontrol agent regarding several phytopathogenic fungi that cause plant diseases. Recent studies have shown that *Bacillus amyloliquefaciens* strain has antagonistic activity against *Fusarium graminearum* phytopathogenic fungus, commonly recognized as Fusarium Head Blight (FHB) inducing agent [23]. Furthermore, *Bacillus* species can be a struggle factor for pathogenic fungi nutrition.

*Bacillus subtilis* is a ubiquitous organism that can be found and isolated from soil, air, water,

and dead plant matter. Bacteria belonging to the genus *Bacillus* are grampositive, rod-shaped, straight cells often arranged in chains ranging in size from 0.5 to  $2.5 \times 1.2\text{-}10 \mu\text{m}$ . According to the Bergey Manual of Systematic Bacteriology, strains belonging to the genus *Bacillus* are chemo-organotrophs, express respiratory or enzymatic metabolism, ferment glucose, leading to acid production, are positive in the catalase test and do not reduce sulfates until sulfides. Several biochemical features of the genus, for example, nitrate reduction and oxidase formation, can vary as well as species-dependent [24]. Numerous *Bacillus subtilis* species have also been found in the gastrointestinal tract of animals and insects, possibly, as an indirect result of the consumption of plants [25]. The *Bacillus* strain spores impact by which, especially those of *B. subtilis* species, act as probiotics, is not entirely understood. *Bacillus subtilis* thought to have beneficial probiotic effects, including antimicrobial production, stimulation of the immune system, and an overall improvement in intestinal microflora [26].

Bacterial strains isolated from the *Galleria mellonella* intestine have a tremendous biotechnological implementation, for further commercial goods production in agriculture or healthcare purposes.

## Conclusion

The scientific study of *Galleria mellonella* gut microbiome strains and their morphological and molecular genetic properties. The gut microbiome of wax moth larvae showed a great multitude. Different metabolic pathways of gut microorganisms and their enzymatic differences give an ability to degrade several molecular complex substances like honeycomb wax. Microbial species multiplicity also helps host organisms to counter internal invasions by extracting antimicrobial metabolites and maintaining conditions in an interior of the organism, which is harmful to others. Such properties of wax moth larvae microbiome can act as valuable tools for the study of host and pathogen interactions. Using insect larvae can facilitate the identification of bacterial pathogens and give possibilities to discover new components that are involved in host innate immune responses and bacterial interactions.

Bacterial strains isolated from larvae gut separately can be used in biotechnology, agriculture, and ecology. Further investigations of bacterial properties must be performed. Our results show that wax moth larvae gut composition characteristics included a variety of microorganisms. Using 16

s rRNA sequencing, we obtained a result that the *Galleria mellonella* microbiome consists of the following microorganisms: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas parafulva*, *Rhizobium pusense*.

More detailed studies of *Galleria mellonella* gut microbiome and possibly useful properties of

microorganisms and the whole organism itself need further investigations.

### Acknowledgments

We are highly thankful to the staff of the Research Platform of Agricultural Biotechnology, as well as Nurila Bessenova for technical support.

### References

- 1 Lederberg J (2000) Infectious history. *Science* 288(5464):287-93. <https://doi.org/10.1126/science.288.5464.287>
- 2 Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, Schlegel ML, Tucker TA, Schrenzel MD, Knight R, Gordon JI (2008) Evolution of mammals and their gut microbes. *Science* 320(5883):1647-51. <https://doi.org/10.1126/science.1155725>
- 3 Douglas AE (2018) The Drosophila model for microbiome research. *LabAnim (NY)* 47(6):157-164. <https://doi.org/10.1038/s41684-018-0065-0>
- 4 Chevrette MG, Carlson CM, Ortega HE, Thomas C, Ananiev GE, Barns KJ, Book AJ, Cagnazzo J, Carlos C, Flanigan W, Grubbs KJ, Horn HA, Hoffmann FM, Klassen JL, Knack JJ, Lewin GR, McDonald BR, MullerL, Melo WGP, Pinto-Tomás AA, Schmitz A, Wendt-Pienkowski E, Wildman S, Zhao M, Zhang F, Bugni TS, Andes DR, Pupo MT, Currie CR (2019) The antimicrobial potential of Streptomyces from insectmicrobiomes. *Nat Commun* 10(1):516. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08438-0>
- 5 Kavanagh K, Sheehan G (2018) The Use of *Galleria mellonella* Larvae to Identify Novel Antimicrobial Agents against Fungal Species of MedicalInterest. *J Fungi (Basel)* 4(3):pii: E113. <https://doi.org/10.3390/jof4030113>
- 6 Browne N, Heelan M, Kavanagh K (2013) An analysis of the structural and functional similarities of insect hemocytes and mammalian phagocytes. *Virulence* 4:597-603. <https://doi.org/10.4161/viru.25906>
- 7 Maguire R, Kunc M, Hyrsł P, Kavanagh K (2017) Caffeine administrationalters the behavior and development of *Galleria mellonella* larvae. *Neurotoxicol Teratol* 64:37-44. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2017.10.002>
- 8 Cook SM, McArthur JD (2013) Developing *Galleria mellonella* as a model host for human pathogens. *Virulence* 4:350-353. <https://doi.org/10.4161/viru.25240>
- 9 Olivia L Champion, Sariqa W, Richard WT (2016) *Galleria mellonella* as a model host for microbiological and toxin research. *Virulence* 7(7):840-845. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1203486>
- 10 Péchy-Tarr M, Bruck DJ, Maurhofer M, Fischer E, Vogné C, Henkels MD, Donahue KM, Grunder J, Loper JE, Keel C (2008) Molecular analysis of a novel gene cluster encoding an insect toxin in plant-associated strains of *Pseudomonas fluorescens*. *Environ Microbiol* 10(9):2368-86. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01662.x>
- 11 Wojda I (2017) Immunity of the greater wax moth *Galleria mellonella*. *Insect Sci* 24(3):342-357. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12325>
- 12 Aggarwal K, Silverman N (2008) Positive and negative regulation of the *Drosophila* immune response. *Biochemistry and Molecular Biology Reports* 41:267-277. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2008.41.4.267>
- 13 Vilcinskas A (2011) Anti-infective therapeutics from the Lepidopteran model host *Galleria mellonella*. *Current Pharmaceutical Design* 17:1240-1245. <https://doi.org/10.2174/138161211795703799>
- 14 Paolo B, Christopher JH, Federica B (2017) Polyethylene bio-degradationby caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. *CurrBiol* 27(8):292-293. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.060>
- 15 Cambronet M, Tortuel D, Biaggini K, Maillot O, Taupin L, Réhel K, Rincé I, Muller C, Hardouin J, Feuilloley M, Rodrigues S, Connil N (2019) Epinephrine affects motility and increases adhesion, biofilm, andvirulence of *Pseudomonas aeruginosa* H103. *Sci Rep* 9(1):20203. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56666-7>
- 16 Hanson BM, Weinstock GM (2016) The importance of the microbiome in epidemiologic research. *Ann Epidemiol* 26(5):301-5. doi:10.1016/j.annepidem.2016.03.008
- 17 Engel P, Moran NA (2013) The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. *FEMS Microbiol Rev* 37(5):699-735. doi:10.1111/1574-6976.12025
- 18 Lou Y, Ekaterina P, Yang SS, Lu B, Liu B, Ren N, Corvini PF, Xing D (2020) Biodegradation of Polyethylene and Polystyrene by Greater Wax Moth Larvae (*Galleria mellonella* L.) and the Effect of Co-diet Supplementation on the Core Gut Microbiome. *Environ Sci Technol*. doi: 10.1021/acs.est.9b07044
- 19 Novotný Č, Malachová K, Adamus G, Kwiecień M, Lottid N, Socci M, Verney V, Fava F (2018) Deterioration of irradiation/high-temperature pretreated, linear low-density polyethylene (LLDPE) by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Int Biodeter Biodegr* 132:259-267.

- 20 Mohan AJ, Sekhar VC, Bhaskar T, Nampoothiri KM (2016) Microbial assisted High Impact Polystyrene (HIPS) degradation. *Bioresour Technol* 3:204-207. doi:10.1016/j.biortech.2016.03.021
- 21 Priest FG, Goodfellow M, Shute LA, Berkeley RCW (1987) *Bacillus amyloliquefaciens* sp. nov., nom. rev. *Int J Syst Bacteriol* 37: 69-71.
- 22 Larsen N, Thorsen L, Kpikpi EN, Stuer-Lauridsen B, Cantor MD, Nielsen B, Brockmann E, Derkx PM, Jespersen L (2014) Characterization of *Bacillus* spp. strains for use as probiotic additives in pig feed. *Appl Microbiol Biotechnol* 98:1105-1118. doi.org/10.1007/s00253-013-5343-6
- 23 Gu Q, Yang Y, Yuan Q, Shi G, Wu L, Lou Z, Huo R, Wu H, Borriss R, Gao X (2017) Bacillomycin D Produced by *Bacillus amyloliquefaciens* Is Involved in the Antagonistic Interaction with the Plant-Pathogenic Fungus *Fusarium graminearum*. *Appl Environ Microbiol* 83(19): pii: e01075-17. doi:10.1128/AEM.01075-17
- 24 Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J., Williams S.T. *Bergey's Manual of Determinative Microbiology*, 9th ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia: 2000. – P. 541.
- 25 Tam N.K.M., Uyen N.Q., Hong H.A., Duc L.H., Hoa T.T., Serra C.R., Henriques A.O., Cutting, S.M. The intestinal life cycle of *Bacillus subtilis* and close relatives // *Bacteriol*. – 2006 / Vol. 188. – P. 2692-2700.
- 26 Hoa T.T., Duc L.H., Iстicato R., Baccigalupi L., Ricca E., Van, P.H., Cutting S.M. Fate and dissemination of *Bacillus subtilis* spores in a murine model // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2001 / Vol. 67. – P. 3819-3823.

МРНТИ 34.27.39

<https://doi.org/10.26577/eb.2020.v85.i4.07>

**А.К. Кудайбергенова<sup>1\*</sup> , Ш.Н. Ахметсадыкова<sup>2</sup> ,**  
**Н.Ж. Бегдильдаева<sup>3</sup> , А.С. Нургазина<sup>1</sup> **

<sup>1</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы<sup>2</sup>ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», Казахстан, Алматинская область<sup>3</sup>Алматинский Технологический Университет, Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: alia93.20@mail.ru

## **ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ШУБАТА, В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ БРОЙЛЕРОВ**

Производство и разработка пробиотических препаратов активных отношении ряда патогенов, приобретают свою актуальность, наряду с мировой тенденцией отказа от использования традиционных антибиотических препаратов в производстве пищевой продукции. Причиной служит рост антибиотикорезистентности, который, в частности, наблюдался у таких патогенных тест-штаммов, как: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhi*. Среди наиболее часто встречающихся представителей молочнокислых бактерий шубата и верблюжьего молока можно встретить *Enterococcus spp.*, *Lactococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.* Данные виды микроорганизмов обладают функциональными пробиотическими свойствами, которые могут найти свое применение в разработке пробиотического препарата для сельскохозяйственных животных и птиц. В статье приводятся результаты по изучению функциональных пробиотических свойств лактобактерий верблюжьего молока и данные о возможном применении этих штаммов в птицеводстве. Описываются методы оценки пробиотического потенциала, включающие: способность к выживанию в агрессивной среде пищеварительного тракта, изучение antagonистической активности, адгезии и синтезу биологически активных веществ. Изучение данной тематики актуально и имеет широкие возможности применения в производстве ветеринарных пробиотических препаратов с целью минимизации и отказа антибиотических веществ в качестве факторов роста и противодействия бактериальных заболеваний животных.

**Ключевые слова:** пробиотические бактерии, функциональные свойства, шубат, птицеводство.

A.K. Kudaibergenova<sup>1\*</sup>, Sh.N. Akhmetsadikova<sup>2</sup>,  
 N.Z. Begdildaeva<sup>3</sup>, A.S. Nurgazina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty<sup>2</sup>"Antigen" Research and Production Enterprise, Kazakhstan, Almaty region<sup>3</sup>Almaty Technological University, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: alia93.20@mail.ru

### **Possibilities of application lactic acid bacteria isolated from shubat in the production of a probiotic product for broilers**

The production and development of active probiotic drugs against a number of pathogens are gaining relevance, along with the global trend of abandoning the use of traditional antibiotic drugs in food production. The reason is the increase in antibiotic resistance, in particular, was observed in such pathogenic test strains as: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhi*. Among the most common representatives of lactic acid bacteria of shubat and camel milk can be found: *Enterococcus spp.*, *Lactococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.* These types of microorganisms have functional probiotic properties, which can be used in the development of a probiotic preparation for farm animals and birds. The article presents the results of a study of the functional probiotic properties of lactobacillus camel milk and data on the possible use of these strains in poultry farming. Methods for assessing probiotic potential are described, including: the ability to survive in an aggressive environment of the digestive tract, the study of antagonistic activity, adhesion and synthesis of biologically active substances. The study of this topic is relevant and has wide possibilities of application in the production of veterinary probiotic preparations in order to minimize and reject antibiotic substances as growth factors and counteract bacterial diseases of animals.

**Key words:** probiotic bacteria, functional properties, shubat, poultry.

А.К. Кудайбергенова<sup>1\*</sup>, Ш.Н. Ахметсадыкова<sup>2</sup>,  
Н.Ж. Бегдильдаева<sup>3</sup>, А.С. Нургазина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>«Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан, Алматы облысы

<sup>3</sup>Алматы технологиялық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

\*e-mail: alia93.20@mail.ru

## Бройлердің пробиотикалық препаратын өндіруде шұбаттан бөлінген сүт қышқылды бактерияларды қолдану мүмкіндіктері

Бірқатар белсенді қатысты патогендердің пробиотикалық препараттарды өндіру және әзірлеу, сонымен катар тамақ өндірісінде дәстүрлі антибиотикалық препараттарды қодданудан бас тартудан жаһандық беталысында өзектілігі арттырылып жатыр. Осылан себепші антибиотикке қарсы тұрақталуының артуы, мысалға, атап айтқанда мына патогенді сынақ штаммдарында байқалды: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhi*. Шұбат пен түйе сүтінде сүт қышқылның ең көп тараған *Enterococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp сияқты бактерия өкілдері кездестіріледі. Микроорганизмдердің бұл түрлері функционалды пробиотикалық қасиеттерге ие, олар ауылшаруашылығының мал және құстарға арналған пробиотикалық препараттарды әзірлеуде өз қолданысын таба алады. Мақалада түйе сүтіндегі лактобактерияның функционалды пробиотикалық қасиеттері зерттеу нәтижелері және құстар шаруашылығында осы штаммдардың қолдану мүмкіндігі туралы мәліметтер көлтірілген. Пробиотикалық потенциалды бағалау әдістері сипатталған, оның ішінде: ас қорыту жүйесінің агрессивті ортасында өмір сүру мүмкіндігі, антагонистік белсенділігін зерттеу, биологиялық белсенді заттардың адгезиясы және синтезі. Бұл тақырыпты зерттеу өзекті болып табылады және ветеринарлық пробиотикалық препараттарды өндіруде кең мүмкіндіктерге ие, мысалға өсу факторы ретінде антибиотикалық заттарды азайту, олардан бас тарту және жануарлардың бактериялық ауруларына қарсы тұру мақсатында.

**Түйін сөздер:** пробиотикалық бактериялар, функционалды қасиеттері, шұбат, құс шаруашылығы.

### Сокращения и обозначения

МКБ – молочнокислые бактерии; AGP – антибиотические факторы стимулятора роста

### Введение

Применение антибиотических средств и препаратов не раз подвергалось дискуссии в ряде стран Европейского союза, наблюдается мировая тенденция отказа в отношении их использования в продуктах сельскохозяйственного происхождения, в частности животноводстве, птицеводстве, рыбном промысле.

Антибиотики применяются в качестве терапевтических и субтерапевтических средств, в зависимости от дозы применяемого препарата. В малых концентрациях они выполняют профилактическую защиту от развития патогенной микрофлоры и сопутствующих ей заболеваний, так же немаловажно отметить и тот факт, что антибиотики до сих пор применяются как стимуляторы роста (AGP) для набора массы животных и птицы. Механизм подобного явления не изучен полностью. Среди антибиотиков, использующихся в качестве стимуляторов роста, зачастую можно встретить препараты, применя-

ющиеся и для лечения бактериальных заболеваний человека, например тетрациклин, пенициллин, ванкомицин, ионофоры [1]. В ряде стран Европейского Союза, введены ограничительные меры, направленные на применение антибиотиков только в терапии осложненных заболеваний и полное их исключение в целях профилактики. Обоснованием тому служит явление хромосмной резистентности, то есть приобретением устойчивости патогенными бактериями, что нередко приводит к перекрестной резистентности – устойчивости к целому классу антибиотических препаратов, а то и вовсе к корезистентности, что означает устойчивость к нескольким видам антибиотиков [2]. Возникновение устойчивых патогенных штаммов приводит к неэффективности лекарственных средств, вызывает значительные затруднения в лечении.

Альтернативой применения антибиотиков в птицеводстве могут служить пробиотические препараты на основе молочнокислых бактерий (МКБ).

Верблюжье молоко широко используется в качестве продукта питания во многих странах Азии и Африки на протяжении многих веков, как в ферментированном, так и в свежем виде, является источником ряда макро- и микроэле-

ментов, обладает уникальным жирно-кислотным составом и специфической полезной микрофлорой. Шубат – ферментированное верблюжье молоко, древний напиток кочевников, исторически применяется так же и в профилактических, терапевтических целях. Особенно при гастритах, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, приступах кашля, восстановлении сил после перенесенных заболеваний.

Желудочно-кишечный тракт содержит бактериальные сообщества, которые разнообразны и сложны. Эта кишечная микрофлора играет важную роль в переваривание и производство необходимых витаминов и защищает желудочно-кишечный тракт от колонизации возбудителем. Хотя микрофлора кишечника выглядит относительно стабильной, она может быть изменена факторами окружающей среды такие как болезни, антибиотики и диета. Стратегии диетического вмешательства, в том числе потребление пробиотиков, пробиотиков, и синбиотики также могут быть разработаны для улучшения общего состояния здоровья и снижения заболеваемости. Среди многих полезных эффектов пробиотиков на основе МКБ рассматриваются антипатогенное, антраканцерогенное и антимутагенное действие. Данная группа, в отличие от споровых пробиотиков, применяется с целью улучшения и нормализации общей микрофлоры, создания неблагоприятной среды для прикрепления и развития патогенных микроорганизмов, путем синтеза органических кислот, таких как молочная, а также активных веществ- пероксида водорода, диацетила, диоксида углерода.

МКБ участвуют в улучшении всасывания ворсинками кишечника питательных веществ, за счет синтеза пищеварительных ферментов, конкурируют за место прикрепления в кишечнике с патогенными бактериями, стимулируют иммунную систему [3]. Бактерицидное действие ценных пробиотических штаммов обусловлено наличием бактериоцинов – протеинов, способных нарушать внешнюю целостность клетки патогенов. Характер действия бактериоцинов из рода *Lactococcus* – это нарушение целостности цитоплазматической мембранны грамположительных бактериальных клеток без низиназы. Соответственно, *Lactococcus lactis* синтезирует следующие классы бактериоцинов: лантибиотики – к которым относится низин. Он представляет собой пептиды, содержащие аминокислоты. Второй класс это термоустойчивые короткоцепочечные полипептиды, не содержащие лантионина. Различия в механизме действия этих классов

заключается в том, что механизм низин действует не на рецептор, а на внутреннюю клеточную мембрану, тем самым нарушая ее целостность образованием каналов и пор [4].

Среди широко распространённых пробиотических штаммов применяемых в пробиотических препаратах птицеводства встречаются: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Weissella*. Верблюжье молоко и его ферментированные продукты, например шубат, является источником ценных пробиотических бактерий. В составе микрофлоры верблюжьего молока наиболее часто встречаются следующие микроорганизмы: *Lactococcus spp.*, *Pediococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Weissella spp* [5], что свидетельствует о возможности последующего применения выделенных МКБ в качестве потенциальных пробиотических микроорганизмов.

## Материалы и методы исследования

Изучение МКБ верблюжьего молока и ферментированных продуктов на его основе включают в себя следующие этапы:

Выделение и идентификацию МКБ – данный этап состоит из выделения молочнокислых бактерий, это проводят путем разведения молока растворе NaCl (8,5 г/л) и последующих разведений до  $10^{-8}$ , путем добавления 1 мл суспензии в 10 мл стерильного солевого раствора. Далее осуществляют посев на чашки Петри с плотными питательными средами M17, MRS и Сабуро для выращивания микроскопических грибов и дрожжей. Инкубация в течение 48 часов при 37 °C, по окончанию отбирают морфологически подходящие колонии для дальнейших тестов [6];

Морфологический отбор МКБ проводится при помощи микроскопии выделенных колоний, согласно описанию, отбирались округлые по форме, неспорообразующие бактерии.

Биохимический отбор заключается в определении грамположительных колоний путем окраски по Граму.

Тест на каталзоотрицательность основан на неспособности разлагать пероксид водорода с образованием пузырьков. Предварительно проводился посев на скошенный мясо-пептонный агар, по окончанию инкубации, в пробирку добавлялся 1 мл перекиси водорода (3%). Положительной считалась реакция образования пузырьков говорит наличия каталазы.

Тест на оксидазную активность, заключался в неспособности МКБ окислять фенилендиамин. Выращенную культуру, снимают петлей, поме-

щая на увлажненный фенилендиамином бумажный фильтр. Изменению окраса в сторону синего цвета говорит о положительной оксидазной активности.

Быстрая и надежная идентификация МКБ осуществляется при помощи методов секвенирования гена 16-S рРНК, секвенирования метагенома и гель-электрофореза. Данные методы являются эффективными в расшифровке последовательности генов рРНК сложных микробных сообществ [7].

Идентификация молочнокислых микроорганизмов шубата была использована полимеразно-цепной реакция, с предварительной экстракцией

ДНК методом рРНК 16-S, для видовой идентификации [8].

## Результаты

В процессе выделения микрофлоры кисломолочного традиционного напитка – шубата, было получено 21 изолят бактерий. Результаты проведенной микроскопии, внешнего описания формы бактериальных клеток, окраски по Граму, проведенных тестов на каталазу, оксидазу и проведенной идентификации путем полимеразной цепной реакции, получены данные представленные в таблице 1.

**Таблица 1** – Анализ микрофлоры МКБ шубата

Изолят	Форма	Окраска по граму	Тест на каталазу	Тест на оксидазу	Идентификация 16-S
M-1	Кокки, округлая	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Enterococcus Faecium</i>
M-2	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus paracasei</i>
M-3	Кокки, округлая	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactococcus Lactis</i>
M-4	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus plantarum</i>
M-5	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus plantarum</i>
M-6	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus Kefiri</i>
M-7	Кокки, округлая	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Enterococcus Faecium</i>
M-8	Кокки, округлая	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Enterococcus Faecium</i>
M-9	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus paracasei</i>
M-10	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	Не определено как МКБ
M-11	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus paracasei</i>
M-12	Бациллы, палочкообразная	отрицательно	отрицательно	отрицательно	Не определено как МКБ
M-13	Кокки, округлая	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactococcus Lactis</i>
M-14	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus Kefiri</i>
M-15	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus Reuteri</i>
M-16	Кокки, округлая	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Enterococcus faecium</i>
M-17	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus paracasei</i>
M-18	Бациллы, палочкообразная	отрицательно	отрицательно	отрицательно	Не определено как МКБ

Продолжение таблицы 1

Изолят	Форма	Окраска по граму	Тест на каталазу	Тест на оксидазу	Идентификация 16-S
M-19	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus reuteri</i>
M-20	Кокки, округлая	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Enterococcus Faecium</i>
M-21	Бациллы, палочкообразная	положительно	отрицательно	отрицательно	<i>Lactobacillus Reuteri</i>

Таким образом, выделено 18 относящихся к МКБ, 3 изолята несоответствуют характеристике МКБ, являясь грамотрицательными.

В проведенном исследовании дрожжевого состава было обнаружено 8 изолятов дрожжевых клеток, которые прошли морфологическое исследование, большинство из них представлены крупными отдельными клетками овальной формы. На текущий момент проводится их идентификация родовой принадлежности.

## Обсуждение

Хорошо известно что идентифицированные нами штаммы шубата, такие как

*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum* применяются в качестве пробиотических микроорганизмов, способных к нормализации желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных и человека [9-10].

Тот факт, что данные микроорганизмы были выделены из шубата в достаточно большом количестве и говорит о том, что он является источником ценных пробиотических штаммов. Этим и обусловлено изучение их дальнейшего применения в производстве полезных пищевых добавок или пробиотических препаратов имеет свою основу.

**Таблица 2 – Видовой состав микрофлоры верблюжьего молока**

Географическая местность	Видовой состав микрофлоры и его процентное содержание	Источник
Кувейт (2019 г.)	<i>Enterococcus spp.</i> (24.2%), <i>Lactococcus spp.</i> (22.4%) , <i>Pediococcus spp.</i> (20.7%), <i>Weissella spp.</i> (10.3%)	R. Rahmeh и др. [5].
Китай (2009 г.)	<i>Lactobacillus spp.</i> (44%), <i>Enterococcus spp.</i> (19%), <i>Leuconostoc spp.</i> (10%), <i>Weissella spp.</i> (3%)	N. Rahman и др. [8]
Египет (2013 г.)	<i>Enterococcus spp.</i> (81.6%), <i>Lactococcus spp.</i> (9%), <i>Lactobacillus spp.</i> (9%), <i>Aerococcus viridans spp.</i> (9%)	E. Hamed, A. Elattar [11]
Казахстан (2015 г.)	<i>Enterococcus spp.</i> (51.3%), <i>Lactococcus spp.</i> (10.9%), <i>Lactobacillus spp.</i> (29.8%), <i>Leuconostoc spp.</i> (8%)	Akhmetsadykova et al. [12]

Согласно анализу данных о наиболее часто встречающихся представителях микрофлоры шубата, выделенная микрофлора шубата в процессе нашего исследования, подтверждает ранее полученные результаты, другими группами ученых и включает в себя основных представителей родов *Enterococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Lactococcus spp.*.

Однако только идентификация МКБ шубата не гарантирует возможности применения данных видов микроорганизмов как ценных пробиотических штаммов, для производства про-

биотических препаратов сельского хозяйства. В связи с этой целью, в дальнейшем планируется провести полноценную оценку пробиотических свойств выделенных штаммов МКБ, включая следующие показатели:

- 1) Тесты на устойчивость к панкреатическим ферментам- пепсину, трипсину;
- 2) Тест на устойчивость к желчным солям;
- 3) Тест на устойчивость к пониженной кислотности;
- 4) Определение адгезивной способности на монослое эпителиальных клеток Caco-2;

- 5) Автоагрегация, коагрегация и гидрофобность;
- 6) Определения антагонистической активности в отношении основных возбудителей заболеваний *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*;
- 7) Устойчивость к антибиотикам;
- 8) Изучение метаболической активности – производство бактериоцинов;
- 9) Гемолитическая активность и др. [13-15].

Данные об изучении штаммов МКБ выделенных из ферментированных молочных продуктов, подтверждают что МКБ рода *Lactobacillus*, в частности *Lactobacillus fermentum* – характеризуется более высокой адгезивной активностью, по сравнению с *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*. Так же данный штамм характеризуется устойчивостью по отношению к желчным солям пищеварительного тракта, что делает его более подходящим для использования в качестве пробиотической добавки. Их выживаемость при концентрации 0,25% желчных солей в питательной среде достигает 80% [16].

Немаловажным показателем устойчивости МКБ, считается способность выживать в среде с фенолом. Фенол – ароматическое соединение, вырабатываемое стенками кишечника, в процессе переваривания органических продуктов, выполняет защитную функцию. Неблагоприятно воздействует на все микроорганизмы кишечника, как на болезнетворную, так и на полезную микрофлору, и их возможность прикрепления. Установлена граница устойчивости к фенолу бактерий рода *Lactobacillus* выделенных из молочнокислых продуктов. Их рост возможен при концентрации 0,2%, при более высоком содержании фенола в среде наблюдается полное отсутствие роста пробиотических микроорганизмов [16,17].

Среди хорошо устойчивых пробиотических бактерий к агрессивным условиям среды пищеварительного тракта птиц, показавших хорошие результаты при полном изучении их пробиотических функциональных свойств, можно выделить следующие штаммы: *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus reuteri*. Среди них *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus faecium* являются более устойчивыми антибиотикорезистентными штаммами, *Lactobacillus reuteri* в свою очередь обладает высокой способностью к автоагрегации [18].

Понятие скорости пробиотической культуры, так же важно при отборе функци-

онального штамма. Зачастую скорость роста патогенных микроорганизмов таких как: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* значительно выше скорости роста МКБ, а значит они имеют больше шансов на прикрепление и выживание в организме хозяина. Однако, скорость роста *Lactobacillus fermentum*, выделенного из пробиотического препарата, приближена к скорости роста штаммов-патогенов, что является его преимуществом в конкурентоспособности с ними [19].

Одним из основных факторов, позволяющих нам рассматривать штаммы МКБ в качестве альтернативной замены антибактериальным препаратам, является их антагонистическое воздействие по отношению к возбудителям инфекций.

Среди самых распространенных возбудителей заболевания птиц выделяют: *Escherichia coli* – первопричина кишечных расстройств; *Salmonella enterica* – несмотря на прививочные процедуры молодняка птиц, сальмонелла была и остается самым их распространенным патогеном, *Clostridium perfringens* – основной возбудитель некротического энтерита молодняка птиц, осложненное течение заболевания приводит к гибели [3].

В оценке пробиотического потенциала, в частности, антагонистических свойств МКБ, имеются данные о высокой активности *Lactobacillus reuteri* и *Enterococcus faecium* в отношении *Staphylococcus aureus*, угнетающем влиянии *Enterococcus durans* на *Escherichia coli* и *Enterococcus faecium* на *Salmonella typhimurium*.

Одним из заболеваний от которого сильно страдает птицеводство является эймериоз. Существует около семи различных видов простейших рода *Eimeria*, которые вызывают болезни не только у домашней птицы, но и у различных видов домашних животных, таких как крупный рогатый скот, собаки и кошки. Разновидностями *Eimeria*, вызывающими эймериоз в птицеводстве, являются *E. necatrix*, *E. miti*, *E. acervulina*, *E. tenella*, *E. maxima* и *E. brunette* [20].

По степени воздействия на организм птиц разделяют следующие формы эймериоза: клинический, характеризующийся высокой степенью летальности, диареей и снижением экономических показателей; субклинический эймериоз, без ярко выраженного проявления, но при этом происходит снижение прироста живой массы; эймериоз протекающий в бессимптомной форме с выработкой последующего иммунитета. Экономический ущерб от эймериоза складывается

из гибели молодняка птицы, снижения продуктивности, ухудшения качества мяса, увеличения расхода корма и затрат на лечебные мероприятия. Такие факторы как: широкое распространение эймерий, высокая устойчивость их ооцист к воздействию химических веществ, возможность паразитирования нескольких видов простейших у кур, способность эймерий вырабатывать резистентность к антиэймериозным препаратам приводят к тому, что данное заболевание является одной из основных проблем птицеводства.

Такие виды, как *Pediococcus acidilactici* и *Saccharomyces boulardii*, послужили основой для создания пробиотика Mito-Max, с доказанной эффективностью против эймериоза. Было показано, что цыплята, получавшие данную пробиотическую смесь, в концентрации 0,1% и зараженные *E. tenella* или *E. acervulina*, продемонстрировали повышенный гуморальный иммунитет и значительные изменения в приrostе массы тела [21].

Бактериотерапия в данном случае будет подразумевать прием МКБ, с целью улучшения качества и состава микрофлоры кишечного тракта пробиотическими микроорганизмами, их конкуренцию за эти сайты, а так же прямое противодействие по отношению к патогенным видам микроорганизмов путем угнетения их роста.

Механизм ингибирующего воздействия МКБ на патогенные микроорганизмы основан на продукции угнетающих веществ, ограничивающем воздействии на прикрепление и адгезию патогенов, конкурирующем отношении за питательные вещества и уменьшении их биодоступности для патогенов, уменьшении токсичности метаболитов клеток-воздбудителей заболеваний, стимуляции производства муцина, увеличении и коррекции иммунного статуса организма-хозяина.

Рассмотрим результаты ингибирующего воздействия МКБ, аналогичных исследований выделенными нами родов МКБ: *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*. Классическая оценка непосредственного антагонистического действия МКБ на патогенные штаммы проводится путем высеива на плотную питательную среду и измерения зоны угнетения роста патогенного штамма.

Альтернативный способ оценки антагонистического воздействия основан на опосредованном влиянии клеточных метаболитов МКБ на рост и развитие патогенных штаммов. Процесс осуществляется путем первоначального очищения клеточной культуры *Enterococcus*

*faecium* выделенной из верблюжьего молока и получения дальнейшего получения из нее бесклеточного супернатанта, была отмечена высокая эффективность в угнетении роста и развития *Staphylococcus aureus*. Однако, воздействие на кишечную палочку и на энтеробактерии наблюдалось незначительное [22]. Подобные результаты говорят о желательном составлении поликомпонентного препарата на основе МКБ, для максимальной эффективности в отношении патогенов. Комбинации пробиотических культур оказываются более эффективными, чем использование отдельных культур для лечения и профилактики гетерогенных заболеваний.

Немаловажным остается воздействие *Clostridium perfringens*. Этот патоген является грамположительным анаэробом, вырабатывает энтеробактериальные токсины. Особо восприимчивыми остаются молодые особи птицы, а смертность от данного возбудителя может достигать 20%. Помимо данного штамма влияние на здоровье цыплят и кур оказывают *Clostridium difficile*, *Clostridium butyricum*. Свою эффективность в отношении данных патогенов доказал штамм *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014. Неплохими вариантами поддержания устойчивости и баланса кишечной микрофлоры оказались *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus rhamnosus* [23].

*Pseudomonas aeruginosa* оппортунистический патоген, вызывает заболевания дыхательной системы, органов зрения, омфалит. Стоит отметить, что при воздействии молочной кислоты на данный штамм, наблюдается его резкое снижение и прекращается рост колоний. Согласно данным, штаммы *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* оказывают устойчивое ингибирующее воздействие на клостридии. Помимо этого, у представленных бактерий рода *Lactobacillus* доказано наличие аутоиндуктора-2. Он участвует в кворум сенсинге для устойчивости поддержания биопленок МКБ, а так же уменьшает стрессовое воздействие патогенов для организма хозяина [24].

Экспериментальным путем было доказано, что однократная доза *Lactobacillus salivarius* введенная трехдневному цыплёнку значительно снижает количество *Salmonella enterica* в организме. Бактерии рода *Salmonella* заселяют организм птицы с первых же часов жизни и в достаточно большом количестве, являются причиной кишечных расстройств, сальмонеллезов. Ухудшают общий иммунитет и течение сопутствующих заболеваний [25].

Листериоз птиц вызывается *Listeria monocytogenes*, так же относится к оппортунистическим штаммам, передается в организм птицы с зараженным кормом или от болеющих животных. Листериоз развивается на фоне ослабевшего иммунитета или сопутствует при течении других заболеваний. Лечение хорошо протекает в начальный период, однако при несвоевременном лечении антибиотиками приводит к гибели. Желательно проводить превентивные меры по защите сельскохозяйственных животных и птиц, изолировать подозреваемых в заражении. По старой практике, в качестве те-

рапевтической профилактики применяют антибиотики тетрациклического ряда, ампициллин, сульфаниламиды – то есть препараты, применяющиеся и в лечении подобных заболеваний у человека. В качестве альтернативной профилактики и борьбы с *Listeria monocytogenes* перспективными оказываются следующие штаммы МКБ: *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus durans* – зона ингибирования патогенного штамма достигает более 35 мм [5]. Антагонистическое действие МКБ на некоторые штаммы возбудители, продемонстрировано в таблице 3.

**Таблица 3** – Антагонистическое действие МКБ на штаммы-возбудители

Штамм	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S.typhimurium</i>	Источник
1. <i>Pediococcus acidilactici</i>	35.0 ± 2.0	34.3 ± 2.0	34.0 ± 0.0	Нет данных	R. Rahmeh, 2009 г. [5]
2. <i>Lactobacillus reuteri</i>	30.0 ± 0.0	46.0 ± 0.0	33.0 ± 1.0	Нет данных	
3. <i>Enterococcus durans</i>	29.0 ± 2.0	27.0 ± 2.0	35.0 ± 1.0	Нет данных	
4. <i>Lactococcus lactis</i>	Нет данных	30.0 ± 1.0	Нет данных	33.0 ± 1.0	
5. <i>Enterococcus faecium</i>	Нет данных	33.0 ± 1.0	Нет данных	38.0 ± 1.0	H.Eman, A.Elattar, 2013 г. [11]
6. <i>Lactobacillus plantarum</i>	17.3 ± 0.5	17.00 ± 1.0	19.00 ± 1.0	18.6 ± 0.5	G. Mulaw et.al, 2019 г. [26]
7. <i>Lactobacillus paracasei subsp. tolerans</i>	20.6 ± 0.5	20.3 ± 1.1	19.6 ± 0.5	19.6 ± 0.5	
8. <i>Lactobacillus paracasei</i>	20.0 ± 1.0	20.3 ± 0.5	19.6 ± 0.5	18.3 ± 0.5	

Исходя из данных таблицы, *Pediococcus acidilactici*, оказывает максимальное антибактериальное воздействие на рост кишечной палочки, *Lactobacillus reuteri* ингибирует рост золотистого стафилококка, бактерии рода *Enterococcus* (в частности *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*) хорошо подавляют и препятствуют развитию патогенов *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*.

Таким образом, изучение пробиотического потенциала МКБ шубата и верблюжьего молока имеет практическую значимость и все основания для дальнейшего изучения пробиотических свойств. Стоит отметить, что тема не является редкой, информации о полноценном изучении пробиотических свойств микрофлоры шубата, представлено немного, тем не менее, ее актуальность остается по-прежнему высокой.

Антагонистическое действие МКБ осуществляется за счет синтеза бактериоцинов, молочной кислоты, пероксида, диацетила, а также этианола, который синтезируется гетероферментативными МКБ. В изучении активных мета-

болитов особое место занимают бактериоцины – протеиноподобные вещества, оказывающие разрушительное воздействие на организм патогенов [3].

Каждый штамм МКБ имеет свой соответствующий бактериоцин. Доказана эффективность ряда бактериоцинов МКБ в отношении патогенов. Так, например, бактериоцин *Lactobacillus rhamnosus* является одним из наиболее эффективных и устойчивых к изменению физико-химических показателей. На сегодняшний день рассматривается возможность применения и синтеза данного бактериоцина, так как он выдерживает достаточно высокие температуры (80-100°C) и имеет широкий диапазон устойчивости pH от 3 до 8. Однако, его максимальная активность наблюдается при pH=7 и температуре 25°C. Благодаря действию данного бактериоцина можно ингибировать *S.xylosus*, *E.coli*, *S.aureus* и др. [27].

Широко известный бактериоцин – низин, продуцируется *Lactococcus lactis*, имеет широкий спектр воздействия на грамположительные

бактерии без низиназы. Педиоцин – производится выше упомянутым *Pediococcus acidilactici*. Педиоцин активен в отношении грамположительных бактерий. Бактериоцин синтезируемый *Pediococcus acidilactici* обладает активностью угнетающей *Listeria monocytogenes ATCC 7644* [5].

*Enterococcus faecium* производит два основных вида бактериоцина – Энteroцин AS48 и Энтеролизин А. Имеются данные о высокой активности Энteroцина AS48 на энтеробактерии, сальмонеллы, стафилококки, клебсиеллы, коринебактерии, шигеллы, микрококки и другие [3,8].

Хорошо известна способность МКБ повышать иммунитет и устойчивость в отношении распространённых возбудителей заболеваний птиц, добавление в рацион кур пробиотиков на основе *Enterococcus faecium* приводит к значительному увеличению яйценоскости, толщины яичной скорлупы и усвоемости питательных веществ организмом. Питательные вещества в таком случае находятся дольше в организме, тем самым увеличивается их усвоемость, что немаловажно для роста и укрепления молодняка [28].

Применение пробиотических препаратов позволит исключить антибиотики не только как субтерапевтические средства профилактики бактериальных инфекций, но и как факторы стимуляции роста и набора массы.

Помимо МКБ, в процессе изучения микрофлоры шубата нами были выделены дрожжевые клетки. Описаны следующие часто встречающиеся дрожжи в кисломолочных напитках *Kluveromyces marxianus*, *Kazahstan uiosporus*, *Candida ethanolica* и *Saccharomyces boulardii*. Данные виды, обнаруженные в шубате, способны метаболизировать лактат, что благотворно влияет на метаболическую активность МКБ. Зачастую использование дрожжей в пробиотическом препарате обусловлено их способностью синтезировать ряд витаминов, улучшать пищеварение, благоприятствовать набору массы и влиять на улучшение всасывания и усвоения питательных веществ клетками кишечника. Дрожжи являются транзиторными микроорганизмами, в отличие от МКБ и споровых пробиотиков, они оказывают временный эффект, на время принятия пробиотического препарата. Дрожжевой пробиотик на основе *S. boulardii* CNCM I-745 обладает антитоксичным действием против токсинов выделяемых *Clostridium difficile*, *Escherichia coli*, токсинов возбудителя холеры, участвует в клеточной сигнализации, уменьшает синтез

воспалительных цитокинов, повышает уровень короткоцепочечных жирных кислот, влияет на формирование кишечной микрофлоры, уменьшает инвазию патогенных микроорганизмов и др [5, 8]. При применении пробиотического препарата на основе *Saccharomyces cerevisiae boulardii* в птицеводстве, замечен значительный прирост в биомассе, к 40 дню жизни между контрольной и экспериментальной группой замечена разница биомассы в среднем на 150 грамм. Помимо этого и минимизировать экономические потери от инфекций *Campylobacter*. Добавление *Saccharomyces spp.* в корме для бройлеров может модулировать более здоровую микробную экосистему, впоследствии улучшая состояние здоровья бройлеров и улучшение показателей роста [29].

Таким образом, выдвигаемые требования к пробиотическим микроорганизмам, выделенным из шубата, заключаются в следующем:

- 1) Проявление высокой антагонистической активности по отношению к *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp.*, *Salmonella typhimurium*, *enteritidis* и др.

- 2) Синтез пищеварительных ферментов, улучшение усвоения питательных веществ организмом;

- 3) Способность синтезировать биологически активные вещества, витамины;

- 4) Формирование иммуномодулирующее и антитоксическое действие;

- 5) Улучшение восстановления организма после перенесенных болезнетворных инфекций [3,5,18,28].

Применение пробиотических добавок позволит избежать наличия следов антибиотиков, сульфаниламидных и хлорсодержащих препаратов в продуктах питания, т.е. в мясе и яйцах птиц, тем самым решив вопрос возникновения мультирезистентности по отношению к основным возбудителям бактериальных инфекций.

## Заключение

Шубат – богатая МКБ среда и в ходе проведенного исследования по изучению состава его микрофлоры и последующей идентификации МКБ, нами обнаружены следующие пробиотические микроорганизмы: *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*.

Проведенная работа с материалами научных исследований подтверждает возможный пробиотических потенциал данных штаммов. Приве-

денные нами штаммы МКБ обладают ценными пробиотическими свойствами. На основе данных микроорганизмов возможно построение комбинативного препарата четвертого поколения, включающего в себя МКБ различных видов и дрожжей.

Изучение возможности применения молочнокислых бактерий шубата в создании пробиотических препаратов для сельского хозяйства, в частности для птиц, имеет высокую практическую значимость исходя из сути проблемы использования антибактериальных препаратов в производстве мясной продукции. С пищевыми продуктами возможен перенос устойчивых патогенных штаммов в организм человека, что в свою очередь может привести к появлению неконтролируемых и не поддающихся лечению заболеваний.

По положениям Всемирной Организации Здравоохранения с 2006 года ведется работа, направленная на применение антибиотиков в животноводстве строго при лечении сложно протекающих заболеваний. Наряду с повсеместной тенденцией отказа использования антибиотических препаратов качестве субтерапевтических средств или стимуляторов роста и увеличения массы, остро стоит вопрос о поиске альтернативных замен, которые помогли бы безопасно укрепить иммунитет молодняка, поддержать его организм от воздействия распространенных штаммов-возбудителей, улучшить процессы пищеварения и усвоения питательных веществ, тем самым оказав влияние на рост и развитие организма.

Актуальность решения данного вопроса заключается в получении устойчивых к условиям ЖКТ пробиотических штаммов, способных оказывать антибактериальное действие и обладающих высокой степенью возможности агрегации и колонизации кишечника птицы. Широкий профиль задач заключается так же и в обеспечении пищевой безопасности человека, минимизации риска возникновения мультирезистентности и появлению трудноизлечимых бак-

териальных инфекций. Перспективы детального изучения микрофлоры верблюжьего молока и продуктов на его основе имеют, являются актуальными и практически значимыми. Препараты на основе молочнокислых бактерий используются для лечения и профилактики заболеваний, связанных с разнообразными формами нарушения состава нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта благодаря их антагонистической способности воздействия на патогенные микроорганизмы.

Молодняк сельскохозяйственной птицы особо восприимчив в первую неделю жизни влиянию патогенных микроорганизмов заселяющих его организм. Заселение обычно происходит с кормом, водой, а так же из общей территории инкубатора. Особенно восприимчивы бройлеры, живущие в искусственно созданной среде. Для поддержания здоровья молодняка птиц – бройлеров в искусственных условиях роста, в инкубаторах, а также формировании общего иммунитета домашней птицы, оптимально использование пробиотических препаратов, состоящих из различных видов микроорганизмов.

В продолжение исследования нами будут проведены испытания функциональных пробиотических свойств выделенных микроорганизмов. Так как при создании и комбинации пробиотического препарата стоит уделить особое внимание изучению функциональных пробиотических свойств, того или иного микроорганизма, а именно: синтез антибактериальных веществ – бактериоцинов, способность к адгезии, устойчивость к условиям ЖКТ – пониженной кислотности, ферментам, антагонистическую активность к патогенам, тесты на гемолитическую активность, устойчивость к антибиотикам и другим свойствам.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

**Благодарности:** ТОО «НПП Антиген» за предоставление оснащенной лаборатории и материалов для проведения исследования.

**Источник финансирования:** отсутствует.

## Литература

- 1 Maron D.F., Smith T.J., Nachman K.E. Restrictions on antimicrobial use in food animal production: an international regulatory and economic survey// Nachman Global Health -2013. Vol. 9, No.48. – P. 23-24.
- 2 WHO Regional Office for Europe Antimicrobial Medicines Consumption Network (2020): AMC data 2011 2017. Published on the Internet; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330466> License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- 3 Vieco-Saiz N., Belguesmia Y., Raspoet R., et al. Benefits and Inputs From Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins as Alternatives to Antibiotic Growth Promoters During Food-Animal Production// Front Microbiol. – 2019. – Vol.10, No. 57. – P 55-110.

- 4 Arauz L.J., Jozala A.F., Mazzola, G.P., Penna V.T. Nisin biotechnological production and application: // Trends in Food Science & technology-2009.Vol.20, No. 3-4. – P. 146-154.
- 5 Rahmeh R., Akbar A., Kishk M., Al-Onaizi T., Al-Azmi A., Al-Shatti A., Shajan A., Al-Mutairi S. and Akbar B. Distribution and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from raw camel milk// New Microbes and New Infections – 2019. – Vol. 30, No. 1. – P. 64-72.
- 6 Edalati E., Saneei B., Alizadeh M., Hosseini S. , Zahedi Bialvaei A. ,and Taheri K. Isolation of probiotic bacteria from raw camel's milk and their antagonistic effects on two bacteria causing food poisoning // New Microbe and New Infect – 2019. Vol. 27, No. 4. – P. 64-68.
- 7 Fasoli S., Marzotto M., Rizzotti L., Rossi F., Dellaglio F., Torriani S. Bacterial composition of commercial probiotic products as evaluated by PCR-DGGE analysis// International Journal of Food Microbiology -2003. Vol.82. – P. 59–70.
- 8 Rahman N., Xiaohong F., Meiqin D. Mingsheng Characterization of the dominant microflora in naturally fermented camel milk shubat// World Journal of Microbiology and Biotechnology -2009. – Vol.25, No. 17. – P. 1941–1946.
- 9 Ouwehand A., Salminen, E., Isolauri S. Probiotics: an overview of beneficial effects // Antonie Van Leeuwenhoek- 2002. – Vol. 82, No. 1–4. – P. 279–289.
- 10 Zaslavskaya M.I, Makrova T.V., Aleksandrova, N.A., Ignatova N.I., Belova I.V., Tochilina A.G., Solovyeva I.V. Prospects for using bacteriocins of normal microbiota in antibacterial therapy (review). // Sovremennye tehnologii v medicine-2019. – Vol. 11, No. 3. – P. 136–145.
- 11 Hamed E. and Elattar A. Identification and Some Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated From Egyptian Camels Milk // Life Science Journall- 2013. – Vol. 10, No. 1.-P. 1953-1966.
- 12 Akhmetadykova Sh., Baubekova A., Konuspayeva G., Akhmetadykov N. , Faye B. Loiseau G. Lactic acid bacteria biodiversity in raw and fermented camel milk // African Journal of Food Science and Technology-2015. – Vol. 6, – P. 84-88.
- 13 Peres C.M., Alves M., Hernandez-Mendoza A., Moreira L., Silva S., Bronze M. R., Vilas-Boas L., Peres C., Malcata F. Novel isolates of lactobacilli from fermented Portuguese olive as potential probiotics// Food Science and Technology-2014.-Vol.59, No.11. – P. 234–246.
- 14 Ren D., Li.C, Qin Y., Yin R, Du S. ,Ye F., Liu C., Liu H., Wang M., Li Y., Yang S., Li X., Tian M., Jin N. In vitro evaluation of the probiotic and functional potential of Lactobacillus strains isolated from fermented food and human intestine// Anaerobe-2014.-Vol.30, No.7. – P. 47-53.
- 15 Xin L., Dang P., Liu B. Purification and partial characterization of a novel bacteriocin produced by Lactobacillus casei TN-2 isolated from fermented camel milk (Shubat) of Xinjiang Uygur Autonomous region, China// Food Control-2014. – Vol.43, No.9. – P. 276–283.
- 16 Kanwal A. Lactobacillus fermentum strains of dairy-product origin adhere to mucin and survive digestive juices// Journal of Medical Microbiology-2019.-Vol.68, No.3.-P. 1771–1786.
- 17 Timmerman H. Harro V., Elsen E., Rombouts F. and Beynen A. Mortality and Growth Performance of Broilers Given Drinking Water Supplemented with Chicken-Specific Probiotics// Poultry science -2006.-Vol.-85, No. 9. – P. 1383-1388.
- 18 Reuben R. C., Roy P.C., Sarkar S. L., Rubayet S. M., Jahid I. K. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties// American Dairy Science-2020.-Vol.103, No.2. – P. 1223-1237.
- 19 Rowles H. Lactobacillus fermentum as a Treatment for Intestinal Infection// Journal of probiotic and health -2017.-Vol.5, No.1.-P. 24-27.
- 20 Raman M., Banu S. Gomathinayagam. S Lesion scoring technique for assessing the virulence and pathogenicity of Indian field isolates of avian Eimeria species// Veterinarski Archive-2011.- Vol. 81, No. 2, P. 259–271.
- 21 Lee S., Lillehoj S., Park W., Hong H., and Lin J., Effects of Pediococcus – and Saccharomyces-based probiotic (Mito-Max) on coccidiosis in broiler chickens// Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases-2007. – Vol.30, No.4 P..261–268,
- 22 Benmouna Z., Dalache B., Zadi-Karam H., Karam N.E., Vuotto C. Ability of Three Lactic Acid Bacteria to Grow in Sesile Mode and to Inhibit Biofilm Formation of Pathogenic //Springer-2020.-Vol.68, No.2.-P. 122-137.
- 23 Cinara R. R.Cinara, Carmo M., Melo B., Alves M., Santos C., Monteiro S., Bomfim M., Fernandes E., Monteiro-Neto V. In Vitro Antimicrobial Activity and Probiotic Potential of Bifidobacterium and Lactobacillus against Species of Clostridium// Nutrients-2019.-Vol.11, No.2.-P. 448-462.
- 24 Fijan S. Influence of the Growth of *Pseudomonas aeruginosa* in Milk Fermented by Multispecies Probiotics and Kefir Microbiota// Journal of Probiotics & Health-2015.-Vol.4, No.1.-P. 46-52.
- 25 Burkholder K., Fletcher D., Gileau L., Kandolo A. Lactic acid bacteria decrease *Salmonella enterica* Javiana virulence and modulate host inflammation during infection of an intestinal epithelial cell line// Pathogens and Disease.-2019.-Vol.77, No.4. – P. 26-39.
- 26 Mulaw G., Tessema T.S., Muleta D., Tesfaye A. In Vitro Evaluation of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Some Traditionally Fermented Ethiopian Food Products// Hindawi International Journal of Microbiology-2019. – Vol.43, No.9.-P. 276–283.
- 27 Eid R., El J., Kandil. Z., Hahne M, Seida A. Potential Antimicrobial Activities of Probiotic Lactobacillus Strains Isolated from Raw Milk// Probiotics & Health-2016. – Vol.4, No.4. – P. 54-58.

28 Park J.W., Jeong J. S., Lee S. I., Kim I. H. Effect of dietary supplementation with a probiotic (*Enterococcus faecium*) on production performance, excreta microflora, ammonia emission, and nutrient utilization in ISA brown laying hens// Poultry Science-2016.-Vol.-95, No. 7. – P. 48-52.

29 Smialek M., Kaczorek E., Szczucińska E., Burchardt S., Kowalczyk J., Tykałowski B., Koncicki A. Evaluation of *Lactobacillus* spp. and yeast based probiotic (Lavipan) supplementation for the reduction of *Salmonella Enteritidis* after infection of broiler chickens// Polish Journal of Veterinary Sciences-2019.-Vol.-22, No. 1. – P. 4-10.

#### References

- 1 Akhmetsadykova Sh., Baubekova A., Konuspayeva G., Akhmetsadykov N. , Faye B. Loiseau G. (2015) Lactic acid bacteria biodiversity in raw and fermented camel milk. African Journal of Food Science and Technology, vol. 6, pp. 84-88.
- 2 Arauz L.J., Jozala A.F., Mazzola, G.P., Penna V.T. (2009) Nisin biotechnological production and application. Trends in Food Science & technology., vol.20, pp. 146-154.
- 3 Benmouna Z., Dalache B., Zadi-Karam H., Karam N.E., Vuotto C. (2020) Ability of Three Lactic Acid Bacteria to Grow in Sessile Mode and to Inhibit Biofilm Formation of Pathogenic. Springer, vol.68, pp. 122-137.
- 4 Burkholder K., Fletcher D., Gileau L., Kandolo A. (2019) Lactic acid bacteria decrease *Salmonella enterica* Javiana virulence and modulate host inflammation during infection of an intestinal epithelial cell line. Pathogens and Disease, vol.7, pp. 26-39.
- 5 Cinara R. R.Cinara, Carmo M., Melo B., Alves M., Santos C., Monteiro S., Bomfim M., Fernandes E., Monteiro-Neto V. (2019) In Vitro Antimicrobial Activity and Probiotic Potential of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* against Species of Clostridium. Nutrients, vol.11, pp. 448-462.
- 6 Edalati E., Saneei B., Alizadeh M., Hosseini S., Zahedi Bialvaei A. ,and Taheri K. (2019) Isolation of probiotic bacteria from raw camel's milk and their antagonistic effects on two bacteria causing food poisoning. New Microbe and New Infect, vol. 27, pp. 64-68.
- 7 Eid R., El J., Kandil. Z., Hahne M, Seida A. (2016) Potential Antimicrobial Activities of Probiotic *Lactobacillus* Strains Isolated from Raw Milk. Probiotics & Health, vol.4, pp. 54-58.
- 8 Fasoli S., Marzotto M., Rizzotti L., Rossi F., Dellaglio F., Torriani S. (2003) Bacterial composition of commercial probiotic products as evaluated by PCR-DGGE analysis. International Journal of Food Microbiology, vol.82, pp. 59–70.
- 9 Fijan S. (2015) Influence of the Growth of *Pseudomonas aeruginosa* in Milk Fermented by Multispecies Probiotics and Kefir Microbiota. Journal of Probiotics & Health, vol.4, pp. 46-52.
- 10 Hamed E. and Elattar A. (2013) Identification and Some Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated From Egyptian Camels Milk. Life Science Journal, vol. 10, pp. 1953-1966.
- 11 Kanwal A. (2019) *Lactobacillus fermentum* strains of dairy-product origin adhere to mucin and survive digestive juices. Journal of Medical Microbiology, vol.68, pp. 1771–1786.
- 12 Lee S., Lillehoj S., Park W., Hong H., and Lin J. (2007) Effects of *Pediococcus*-and *Saccharomyces*-based probiotic (MitoMax) on coccidiosis in broiler chickens. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, vol.30, pp. 261–268.
- 13 Maron D.F., Smith T.J., Nachman K.E. (2013) Restrictions on antimicrobial use in food animal production: an international regulatory and economic survey. Global Health, vol. 9, pp. 23-24.
- 14 Mulaw G., Tessema T.S., Muleta D., Tesfaye A. (2019) In Vitro Evaluation of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Some Traditionally Fermented Ethiopian Food Products. Hindawi International Journal of Microbiology, vol.43, pp. 276–283.
- 15 Ouwehand A., Salminen, E., Isolauri S. (2002) Probiotics: an overview of beneficial effects. Antonie Van Leeuwenhoek, vol. 82, pp. 279–289.
- 16 Park J.W., Jeong J. S., Lee S. I., Kim I. H. (2016) Effect of dietary supplementation with a probiotic (*Enterococcus faecium*) on production performance, excreta microflora, ammonia emission, and nutrient utilization in ISA brown laying hens. Poultry Science, vol.-95, pp. 48-52.
- 17 Peres C.M., Alves M., Hernandez-Mendoza A., Moreira L., Silva S., Bronze M. R., Vilas-Boas L., Peres C., Malcata F. (2016) Novel isolates of lactobacilli from fermented Portuguese olive as potential probiotics. Food Science and Technology, vol.59, pp.234–246.
- 18 Rahman N., Xiaohong F., Meiqin D. Mingsheng (2009) Characterization of the dominant microflora in naturally fermented camel milk shubat. World Journal of Microbiology and Biotechnology, vol.25, pp. 1941–1946.
- 19 Rahmeh R., Akbar A., Kishk M., Al-Onaizi T., Al-Azmi A., Al-Shatti A., Shajan A., Al-Mutairi S. and Akbar B. (2019) Distribution and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from raw camel milk. New Microbes and New Infections, vol. 30, pp. 64-72.
- 20 Raman M., Banu S. Gomathinayagam S. (2011) Lesion scoring technique for assessing the virulence and pathogenicity of Indian field isolates of avian *Eimeria* species. Veterinarski Archive, vol. 81, pp. 259–271.
- 21 Ren D., Li.C, Qin Y., Yin R., Du S., Ye F., Liu C., Liu H., Wang M., Li Y., Yang S., Li X., Tian M., Jin N. (2014) In vitro evaluation of the probiotic and functional potential of *Lactobacillus* strains isolated from fermented food and human intestine. Anaerobe, vol. 30, pp. 47-53.

- 22 Reuben R. C., Roy P.C., Sarkar S. L., Rubayet S. M., Jahid I. K. (2020) Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *American Dairy Science*, vol.103, pp. 1223-1237.
- 23 Rowles H. (2017) *Lactobacillus fermentum* as a Treatment for Intestinal Infection. *Journal of probiotic and health*, vol.5, pp. 24-27.
- 24 Smialek M., Kaczorek E., Szczucińska E., Burchardt S., Kowalczyk J., Tykałowski B., Koncicki A. (2019) Evaluation of *Lactobacillus* spp. and yeast based probiotic (Lavipan) supplementation for the reduction of *Salmonella Enteritidis* after infection of broiler chickens. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, vol.22, pp. 4-10.
- 25 Timmerman H. Harro V., Elsen E., Rombouts F. and Beynen A. (2006) Mortality and Growth Performance of Broilers Given Drinking Water Supplemented with Chicken-Specific Probiotics. *Poultry science*, vol.85, pp. 1383-1388.
- 26 Vieco-Saiz N., Belguesmia Y., Raspoet R., et al. (2019) Benefits and Inputs From Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins as Alternatives to Antibiotic Growth Promoters During Food-Animal Production. *Front Microbiol.*, vol.10, pp. 55-110.
- 27 WHO Regional Office for Europe Antimicrobial Medicines Consumption Network (2020): AMC data 2011 2017. Published on the Internet; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330466> License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- 28 Xin L., Dang P., Liu B. (2014) Purification and partial characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* TN-2 isolated from fermented camel milk (Shubat) of Xinjiang Uygur Autonomous region, China. *Food Control*, vol.43, pp. 276–283.
- 29 Zaslavskaya M., Makhrova T., Aleksandrova, N., Ignatova N., Belova I., Tochilina A., Solovyeva I. (2019) Prospects for using bacteriocins of normal microbiota in antibacterial therapy (review). *Sovremennye tehnologii v medicine*, vol. 11, pp. 136–145.

МРНТИ 62.09.00

<https://doi.org/10.26577/eb.2020.v85.i4.08>

**Э.Ж. Хасенова\*, А.Ж. Аюрова, Э.Б. Молдагулова,  
А.С. Сарсенова, Н.Б. Молдагулова, Э. Нагызбеккызы**

ТОО «Экостандарт.kz», Казахстан, г. Нур-Султан

\*e-mail: elmira\_alta@mail.ru

## **ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОРГАНОМИНЕРАЛЬНОГО БИОУДОБРЕНИЯ, ИЗ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД**

В статье приводятся данные по выделению бактерий из иловых осадков сточных вод, перспективных для получения органоминерального биоудобрения, изучению их ферментативной активности (липазная, протеолитическая, амилолитическая, углеводорокисляющая) и способности к утилизации иловых осадков. Отбор проб для проведения исследований проводили на станциях очистных сооружений городов Нур-Султан и Рудный. Из городских бытовых стоков в процессе скрининга было отобрано 6 активных культур микроорганизмов (АК1, АК2, АК3, АИ1, АИ4, РИ7), обладающих высокой биологической активностью. Идентификацию микроорганизмов проводили генотипированием по консервативному локусу 16S rRNA. Культуры были идентифицированы *Bacillus mojavensis*, *Bacillus fusiformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas lundensis*, *Enterobacter sp.* и *Ochrobactrum sp.*

Результаты лабораторных экспериментов по утилизации илов городских бытовых стоков показали, что наибольшей активностью обладают бактерии *Enterobacter sp.* и *Ochrobactrum sp.*. Степень утилизации ила в модельных экспериментах достигает до 70%. Ассоциация из трех штаммов бактерий рода *Bacillus* была менее эффективна в процессе утилизации ила по сравнению с монокультурами *Enterobacter sp.* и *Ochrobactrum sp.* Исследуемые нами микроорганизмы можно считать перспективными для дальнейшей переработки органических отходов и разработки на их основе технологии получения органоминерального удобрения.

**Ключевые слова:** иловые осадки, удобрения, микроорганизмы, отходы, переработка, утилизация.

E.Zh. Khassenova\*, A.Zh. Ayupova, Э.Б. Молдагулова,  
A.S.Sarsenova, Н.Б. Moldagulova, Е. Nagyzbekkyzy

LLP «Ecostandard.kz», Kazakhstan, Nur-Sultan

\*e-mail:elmira\_alta@mail.ru

### **Isolation of bacteria prospective for obtaining organomineral biomineral fertilization from waste water sediments**

Biological preparations are modern and effective means for processing waste, as a result of the use of which it is possible to obtain high-quality organic fertilizers rich in nitrogen compounds, which do not contain pathogenic microflora and helminth larvae. In recent years, many problems have arisen around the sewage treatment facilities in the country with the disposal of sludge in sludge maps. The method of biological fermentation and utilization using active strains of microorganisms is proposed as an effective solution to this issue.

The article presents the results of studies on the isolation of bacteria from sewage sludge, promising for the production of organic-mineral biofertilizer, the study of their enzymatic activity and the ability to utilize sludge. Sludge samples were taken from treatment facilities in Nur-Sultan city and Rudny town. Six active strains were isolated: *Bacillus mojavensis*, *Bacillus fusiformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas lundensis*, *Enterobacter sp.* and *Ochrobactrum sp.* Bacteria were identified by 16S rRNA method.

The results of laboratory experiments on the disposal of sludge from municipal wastewater have shown that the bacteria *Enterobacter sp.* and *Ochrobactrum sp.* have the highest activity. Sludge utilization in model experiments was observed up to 70%. The association of three bacterial strains of the genus *Bacillus* was less efficient in the process of sludge utilization compared to monocultures of *Enterobacter sp.* and *Ochrobactrum sp.* In general, the experiments have shown the promise of using microbial biomass for the disposal of sludge from urban wastewater. Prospective strains include *Enterobacter sp.* and *Ochrobactrum sp.* with 47% and 69% of sludge utilization, respectively.

**Key words:** sludge, fertilizers, microorganisms, waste, processing, disposal.

Э.Ж. Хасенова\*, АА. Жюпова, Э.Б. Молдагулова,  
А.С. Сарсенова, Н.Б. Молдагулова, Э. Нагызбеккызы  
«Экостандарт.kz» ЖШС, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.  
\*e-mail: elmira\_alta@mail.ru

### **Көріз суларының шөгінділерінен органоминералды тыңайтқыштар жасау үшін перспективалы штаммдарды бөліп алу**

Биологиялық, препараттар қалдықтарды өңдеудің заманауи және тиімді құралы болып табылады, нәтижесінде азотты қосылыстарға бай, құрамында патогенді микрофлора, гельминт личинкалары жоқ жоғары сапалы органикалық тыңайтқыштар алуға болады.

Сонғы жылдары елдегі көріз тазарту қондырығыларының айналасында карталарында көріз шөгінділерінің жойылуымен көптеген проблемалар туындағы. Сондықтан микроорганизмдердің белсенді штаммдары арқылы биологиялық ферменттеу және жою өдісі ұсынылады.

Макалада көріз суларының шөгінділерінен бөлініп алынған бактериялардың зерттеу нәтижелері көрсетілген, олардан органоминералды биотыңайтқыштар алу үшін, ферменттік белсенділігі мен көріз шөгінділерінің қайта өңдеуге қабілеттілігін зерттеу. Көріз суларының шөгінді сынаамалары Нұр-Сұлтан мен Рудный қалаларының тазарту құрылғыларынан алынды. 6 белсенді штаммдар анықталды: *Bacillus mojavensis*, *Bacillus fusiformis*, *Bacillus amyloligiefaciens*, *Pseudomonas lundensis*, *Enterobacter* sp. және *Ochrobactrum* sp. Бактерияларды анықтай 16s rRNA өдісімен жүргізілді.

Қалалық, көріз суларының шөгінділерінен бөлініп алынған зертханалық тәжірибелердің нәтижелері бактериялардың *Enterobacter* sp. және *Ochrobactrum* sp. екенін көрсетті. Модельдік эксперименттерде көріз суларының шөгінділерін жою 70%-ға дейін байқалды. Қалдықтарды жою процесінде *Enterobacter* sp. және *Ochrobactrum* sp. монокультурасымен салыстырып қарағанда *Bacillus* тұқымының 3 штаммының құрылған жиынтықтың тиімділігі аз байқалды. Жалпы эксперимент нәтижесі қалалық, көріз сулардың шөгіндісін өңдеуде микробтық биомассаны қолдану жақсы көрсеткіш көрсетті. Шөгінділерді қайта өңдеу кезінде сәйкесінше 47% және 69% құрайды, перспективалы штаммдарға *Enterobacter* sp. және *Ochrobactrum* sp. жатады.

Осылайша, біз зерттеген микроорганизмдер органикалық қалдықтарды одан әрі өңдеуде және олардың негізінде органоминералды тыңайтқыштар алу технологиясының даму саласында перспективалы деп санауга болады.

**Түйін сөздер:** шлам, тыңайтқыштар, микроорганизмдер, қалдықтар, өңдеу, кәдеге жарату.

## **Введение**

На сегодняшний день перспективным и недорогим методом утилизации образующихся иловых осадков является использование их в качестве био-, органоминерального и азотно-фосфорного удобрения. Иловые осадки не зависимо от их вида оказывают существенное влияние на показатели потенциального плодородия почвы. В процессе интенсификации земледелия и недостаточного внесения в почву органического вещества приводят к излишней минерализации почвы – основного носителя плодородия. Отсюда возникает острая необходимость максимального увеличения производства всех видов органических удобрений, в том числе нетрадиционных [1-5].

В последние годы наряду с применением в качестве удобрений сельскохозяйственных и птицеводческих отходов, большой интерес представляет использование в качестве местного удобрения канализационного ила – ОСВ городских очистных сооружений [6-11]. Данный метод утилизации иловых осадков наиболее на-

дежный и экологически выгодный, так как его можно использовать в качестве органоминерального биоудобрения, при этом одновременно решается ряд задач: исключается необходимость захоронения, повышается плодородие почв и урожайность сельскохозяйственных культур, а самое главное не загрязняется окружающая природная среда. Не секрет, что ил со станций очистки сточных вод общественной канализации представляет собой важнейший источник органических, питательных и биологически активных веществ [12-16].

Непосредственное удобрение илом со станций очистки сточных вод является выгодным способом использования этих отходов, если они используются соответствующим образом при определенных природных и производственных условиях. В технологическом цикле очистки сточных вод получаются различные типы осадков, которые по своим удобрительным качествам могут резко отличаться друг от друга. Для обезвоживания ОСВ могут использовать известье, хлорное железо [17-19].

ОСВ содержат в большом количестве не только биогенные элементы, но и богаты активными почвенными микроорганизмами. Микробиоценоз иловой массы представлен разнообразными почвенными бактериями, относящимся к различным таксономическим группам бактерий, грибов, актиномицетов и дрожжей. Не исключается наличие в них патогенных и условно патогенных бактерий и вирусов[20-21].

В последние годы вокруг канализационно-очистных сооружений (КОС) столицы нашей страны возникло много проблем с утилизацией осадков в иловых картах. Возникшую проблему решили методами захоронения. Но проблема на этом не решилась, так как вновь образующиеся осадки возрастают в объемах. За месяц в столичном КОС образуется более 50 тыс. тон осадков. В данное время остро стоит вопрос об утилизации обезвоженной после очистки иловой массы.

### **Материалы и методы исследований**

Выделение культур микроорганизмов проводили из сточной воды и ила методом накопительных культур с последующим высевом на селективные среды [22]. Проверку чистоты культур проводили методом микроскопии по Граму [23].

Методика выделения микроорганизмов заключалась в приготовлении пробы активного ила и воды, посеве их на селективные среды, визуальном анализе выросших колоний [24].

Пробу из надосадочного слоя активного ила в объеме 1 мл высевали на пластинки селективной среды. Посевы инкубировали в течение пяти суток, после чего проводили учет результатов (анализ роста культур микроорганизмов).

Культуральные свойства выделенного изолятов определяли визуально, анализируя изолированные колонии. Определяли вид колонии, ее окраску, размеры, форму, профиль и характер края. Чистые культуры микроорганизмов обязательно контролировали под микроскопом.

Идентификацию микроорганизмов проводили генотипированием по консервативному локусу 16S r DNA [25].

### **Результаты исследований и их обсуждение**

Отбор проб для проведения исследований проводили на станциях очистных сооружений г. Нур-Султан и г. Рудный. Были отобраны пробы ила и сточной воды из отстойников вторичной очистки.

Оценка количества микроорганизмов в сточной воде определялась методом предельных разведений и посевом суспензий клеток на различные питательные среды: МПА, Эшби, Сабуро и MRS-4. В сточной воде максимальное значение КОЕ из отстойников вторичной очистки составила  $20 \times 10^6$  кл/мл, в иле –  $38 \times 10^6$  кл/мл.

Анализ таксономических групп микроорганизмов показал, что более 90% микробной флоны представлен бактериальными культурами.

Выделение микроорганизмов из образцов, взятых из сточной воды и ила, проводили методом накопительных культур. Чистые культуры аэробных микроорганизмов пересевали на плотные питательные среды МПА, СПА, МРС-4, Сабуро методом истощающего штриха по Гоулду.

Инкубацию культур производили при 20°C и 37°C, в течение 48-72 часов. Чистоту выделенных культур микроорганизмов оценивали общепринятыми методами – микроскопическим контролем по Грамму и высевом на среду МПА. Выявлено, что в илах бытовых стоков присутствовали грамотрицательные и грамположительные бактерии.

На первоначальном этапе изучение выделенных микроорганизмов проводили по культурально-морфологическим признакам – характеру роста культур на плотной и в жидкой среде.

В выделенных культурах доминировали микроорганизмы с колониями бежевого цвета. Так же встречались колонии оранжевого и красного цвета.

Колонии бежеватого оттенка образовывали шероховатых колонии с матовым оттенком, с плоским профиль колонии, однородной массы, плотной консистенции. Размеры колоний колебались от 0,1 до 0,3 мм. Одна из выделенных культур оказалась способной к синтезу слизи. Колонии красного цвета имели четкую границу, профиль представлял гладкую, блестящую выпуклую колонию, консистенция маслянистая, однородная. Размеры колонии колебалась от 0,1 до 0,3 мм. Оранжевые колонии также имели четкую границу, колонии гладкие, блестящие, выпуклые, однородной консистенции. Размеры колонии колебались от 0,1 до 0,2 мм.

На жидкой среде культуры давали рост в виде равномерного помутнения, который в статике образовал обильный осадок рыхлой консистенции. Большинство выделенных культур показывали высокую скорость роста клеток на питательных средах СПА и МПА. Четыре культуры, культивируемые на среде МРС, образовывали кисло-сладкий запах.

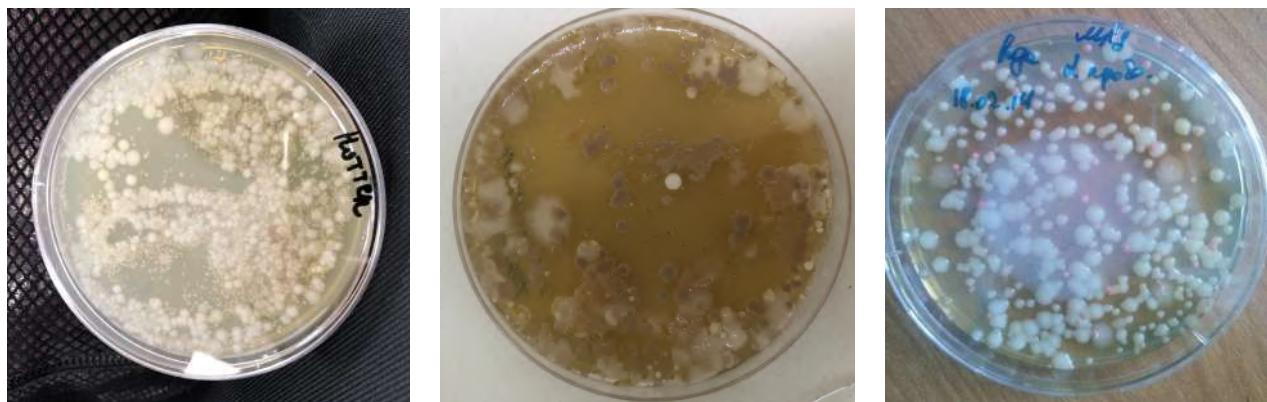


Рисунок 1 – Выделение микроорганизмов из накопительных сред

Все выделенные чистые культуры закладывали на долгосрочное хранение методом криоконсервации с применением осмопротекторной среды для сохранения их биохимических и биологических свойств при температуре минус 80°C.

Следующим этапом работ было изучение ферментативной активности отобранных штаммов. Определялась амилолитическая, протеолитическая, целлюлолитическая, липазная и углеводородокисляющая активности, а также способность к деструкции ксенобиотиков.

Для выделения физиологически активных штаммов микроорганизмов культивирование проводили на питательной и минеральной среде Ворошиловой–Диановой с добавлением нефти (1%), твин-80 (1%), сульфонола (0,1%) и фильтровальной бумаги в качестве единственного источника углерода.

При культивировании микроорганизмов с нефтью в качестве единственного источника углерода выявило 6 штаммов (АК1, АК2, АК3, АИ1, АИ4, РИ7), способных утилизировать нефть. Деструкции жиров изучали (липазная активность) по зонам просветления (твин-80) выделенными штаммами выявило 8 активных культур (РИ1, Э3, И4, М9 АК1, АК2, АИ4, РИ7). При этом амилолитической активностью обладали 5 культур (АК3, АИ1, АИ4, РИ7, М7). Размеры зоны гидролиза колебались в пределах 0,6-1,8 мм. Восемь культур (АК1, И4, АК2, М29, АИ4, РИ7, РИ1, АК3) расщепляли казеин на молочном агаре. Способность отобранных культур разрушать синтетические поверхностно активные вещества (сульфонол) проводили с использованием биохимического теста с индикатором 2,3,5-трифенилтетразолий хлорид (ТТХ). Два штамма (РИ1, АК3) выделенных микроорганизмов дали положительный биохимический

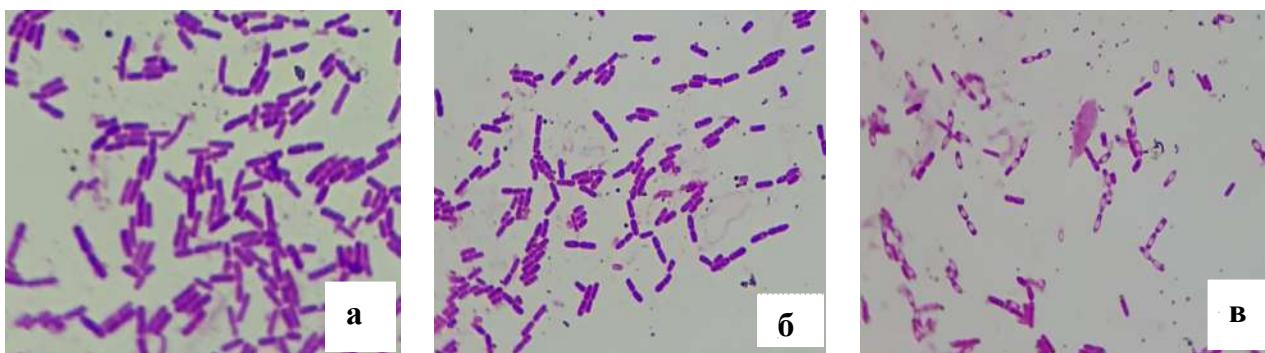
тест на ТТХ. При культивировании микроорганизмов на жидкой среде Гетчинсона с добавлением фильтровальной бумаги только 2 культуры (АК1, АИ4) проявили способность разрушать целостность фильтровальной бумаги и образовывать хлопьевидное помутнение среды.

В результате проведенных исследований для дальнейших работ по утилизации илов городских бытовых стоков было отобрано 6 активных культур микроорганизмов (АК1, АК2, АК3, АИ1, АИ4, РИ7), обладающих высокой биологической активностью.

Для определения родовой и видовой принадлежности активных выделенных культур микроорганизмов были изучены их культурально-морфологические и биохимические свойства общепринятыми методами в соответствии с определителем Берджи путем постановки дифференциальных тестов и опытов, а также с использованием генетических методов, таких как ПЦР и сиквенс-анализ.

Видовую и родовую принадлежность выделенных активных изолятов определяли по культуральным признакам жизнеспособных клеток, описывая характер роста, структуру и размеры колоний. Макроморфология чистых культур была представлена в виде средних, округлых, плоских и выпуклых колоний, диаметром от 0,5 до 1 мм., с гладкой, морщинистой, блестящей поверхностью, с ровными и волнистыми краями, структура однородная, консистенция пастообразная. Колонии бесцветные, пигмент в среду не выделяют, аэробы.

Окраска по Грамму выявила наличие грамположительных и грамотрицательных прямых палочек размером 0,5-2,5 x 1,2-10 мкм, с закругленными или обрубленными концами, расположенных одинично, попарно или в цепочку (рисунок 2).



а – штамм микроорганизмов АК1; б – штамм микроорганизмов АК2; в – штамм микроорганизмов АК3

Рисунок 2 – Окраска клеток микроорганизмов по Грамму

На рисунке 2 представлена микроскопия выделенных чистых культур.

Дальнейшая идентификация 6 штаммов бактерий была осуществлена методом определения прямой нуклеотидной последовательности фрагмента *16S rRNA* гена, с последующим определением нуклеотидной идентичности с последовательностями, депонированными в международной базе данных Gene Bank.

Выделение ДНК проводили по методу Kate Wilson, который позволяет эффективно выделять ДНК как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий.

Амплификация фрагмента *16S rRNA* гена. Реакция ПЦР была выполнена с универсальными праймерами 8f 5' – AgAgTTTgATCCTggCT-CAG-3 и 806R- 5' ggACTACCAgggTATCTAAT в общем объеме 20 мкл. ПЦР смесь содержала 150 нг ДНК, 1 Ед. Maxima Hot Start Taq DNA Polymerase (Fermentas), 0,2 mM каждого дНТФ, 1-х ПЦР буфер (Fermentas), 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 пмоль каждого праймера. Программа ПЦР амплификации включала длительную денатурацию 95°C в течение 7 минут; 30 циклов: 95°C – 30 секунд, 55°C- 40, 72°C – 1 минута; заключительная элонгация 7 минут при 72°C, ПЦР программа была выполнена с применением амплификатора GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems).

Определение нуклеотидной последовательности. Очистку ПЦР продуктов от не связавшихся праймеров проводили ферментативным методом используя, Exonuclease I (Fermentas) и щелочную фосфатазу (Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas).

Реакцию секвенирования проводили с применением BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applide Biosystems) согласно инструкции производителя, с последующим раз-

делением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе 3730xl DNA Analyzer (Applide Biosystems).

Анализ нуклеотидных последовательностей. Нуклеотидные последовательности *16S rRNA* гена 6 идентифицируемых штаммов были анализированы и объединены в общую последовательность в программном обеспечении SeqScape 2.6.0 (Applide Biosystems). После чего были удалены концевые фрагменты (нуклеотидные последовательности праймеров, фрагменты, имеющие низкий показатель качества), что позволило нам получить нуклеотидную последовательность протяженностью 730 п.н., которые были идентифицированы в GeneBank по алгоритму BLAST. Результаты идентификации представлены в таблице 1.

Данные таблицы 1 свидетельствуют, что гомология нуклеотидной последовательности идентифицированных культур составила на 98-99%.

Таким образом, в результате фено- и генетической идентификации были идентифицированы 6 штаммов микроорганизмов с гомологией нуклеотидной последовательности 98-99%.

Исследование толерантности отобранных штаммов микроорганизмов выделенных из сточных вод и илов очистных сооружений показало, что культуры *Bacillus mojavensis*, *Bacillus fusiformis*, *Bacillus amyloligefaciens*, *Enterobacter sp.* и *Ochrobactrum sp.* не проявляют антагонистических отношений, однако полностью подавляют рост *Pseudomonas lundensis*. Антагонистические отношения выделенных штаммов проверяли методом перпендикулярных штрихов. Создан консорциум на основе выделенных культур, состоящий из 3 штаммов: *Bacillus mojavensis* AK1, *Bacillus fusiformis* AK2, *Bacillus amyloligefaciens* AK3.

**Таблица 1** – Результаты идентификации штаммов по фрагменту *16S rRNA* гена

Наименование изолята	Результат идентификации	Процент гомологии, %
AK1	<i>Bacillus mojavensis</i>	99
AK2	<i>Bacillus fusiformis</i>	99
AK3	<i>Bacillus amyloligefaciens</i>	98
AI1	<i>Pseudomonas lundensis</i>	98
AI4	<i>Enterobacter sp.</i>	98
PI7	<i>Ochrobactrum sp.</i>	99

Проводили лабораторные эксперименты по утилизации илов городских бытовых стоков. Культивирование микроорганизмов проводили на смеси ила и сточной воды в лабораторных условиях при температуре 28 °С на качалке со скоростью вращения 150 об/мин.

Подготовка среды культивирования: в пробирки вносили 2 мл ила (полужидкого) смешивали с 18 мл сточной воды и стерилизовали тे-

кучим паром (по Коху) трижды с интервалом в 2 суток для максимального сохранения органических веществ. Инокулят готовили следующим образом – чистые, 3-х суточные культуры, выращенные на косяках СПА, смывали стерильным физиологическим раствором и ресусцинировали. Суспензию клеток доводили до определенной концентрации и заражали ил, чтобы конечная концентрация клеток в среде составляла 2,3-2,5×10<sup>7</sup> кл/мл.

Пробы отбирали через 14 и 28 суток с целью определения динамики процесса прироста биомассы и деструкции ила. В эксперименте в качестве контроля использовали сточную воду + ил, стерилизация текущим паром. Совместно с чистыми выделенными культурами также использовался консорциум, состоящий из трех разных штаммов рода *Bacillus*.

Оценку утилизации ила проводили гравиметрическим методом. Одновременно проверяли гидрофильтруемость-гидрофобность сухого остатка. Результаты модельного эксперимента приведены в таблице 2

**Таблица 2** – Степень утилизации ила и прироста биомассы на сточной воде с илом

14 сутки					28 сутки				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
№ пробы	Титр клеток, КОЕ, кл/мл	Запах	Δ масса сухого ила (г)	Утилизация ила, %	№ пробы	Титр клеток, КОЕ, кл/мл	Запах	Δ масса сухого ила (г)	Утилизация ила, %
AK1 <sup>1</sup>	2,1x10 <sup>9</sup>	+	0,067	5%	AK1 <sup>1</sup>	5,9x10 <sup>9</sup>	-	0,061	14%
AK1 <sup>2</sup>	1,9x10 <sup>9</sup>	+			AK1 <sup>2</sup>	3,9x10 <sup>9</sup>	-		
AK1 <sup>3</sup>	2,1x10 <sup>9</sup>	+			AK1 <sup>3</sup>	4,2x10 <sup>9</sup>	-		
AK2 <sup>1</sup>	1,3x10 <sup>9</sup>	+	0,063	11%	AK2 <sup>1</sup>	1,7x10 <sup>9</sup>	-	0,051	28%
AK2 <sup>2</sup>	5x10 <sup>8</sup>	++			AK2 <sup>2</sup>	1x10 <sup>9</sup>	-		
AK2 <sup>3</sup>	6,7x10 <sup>8</sup>	-			AK2 <sup>3</sup>	1,5x10 <sup>9</sup>	-		
AK3 <sup>1</sup>	8,5x10 <sup>8</sup>	+	0,061	14%	AK3 <sup>1</sup>	1,2x10 <sup>9</sup>	-	0,056	21%
AK3 <sup>2</sup>	1,9x10 <sup>8</sup>	+			AK3 <sup>2</sup>	1,5x10 <sup>9</sup>	-		
AK3 <sup>3</sup>	2,1x10 <sup>8</sup>	++			AK3 <sup>3</sup>	1,1x10 <sup>9</sup>	-		
AI1 <sup>4</sup> <sup>1</sup>	2x10 <sup>7</sup>	++	0,062	12%	AI1 <sup>4</sup> <sup>1</sup>	3,1x10 <sup>8</sup>	-	0,055	22,5%
AI1 <sup>2</sup>	2x10 <sup>7</sup>	++			AI1 <sup>2</sup>	3,9x10 <sup>8</sup>	-		
AI1 <sup>3</sup>	1,9x10 <sup>8</sup>	++			AI1 <sup>3</sup>	3,1x10 <sup>8</sup>	-		
AI4 <sup>1</sup>	4x10 <sup>8</sup>	+	0,055	22%	AI4 <sup>1</sup>	2,8x10 <sup>9</sup>	-	0,037	47%
AI4 <sup>2</sup>	1,6x10 <sup>9</sup>	+			AI4 <sup>2</sup>	1,8x10 <sup>9</sup>	-		
AI4 <sup>3</sup>	8x10 <sup>8</sup>	+			AI4 <sup>3</sup>	2,4x10 <sup>9</sup>	-		

Продолжение таблицы 2

14 сутки					28 сутки					
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
№ пробы	Титр клеток, КОЕ, кл/мл	Запах	Δ масса сухого ила (г)	Утилизация ила, %	№ пробы	Титр клеток, КОЕ, кл/мл	Запах	Δ масса сухого ила (г)	Утилизация ила, %	
РИ7 <sup>1</sup>	2,4x10 <sup>9</sup>	++	0,048	32%		5,9x10 <sup>8</sup>	-	0,022	69%	
РИ7 <sup>2</sup>	1,3x10 <sup>9</sup>	+				6,7x10 <sup>8</sup>	-			
РИ7 <sup>3</sup>	2,1x10 <sup>9</sup>	++	0,062	12%		6,3x10 <sup>8</sup>	-	0,055	23%	
Консорц <sup>1</sup>	-	-				-	-			
Консорц <sup>2</sup>	-	++				-	+			
Консорц <sup>3</sup>	-	+				-	-			

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
K <sup>1</sup>	-	++	-	-	K <sup>1</sup>	-	+	-	-
K <sup>2</sup>	-	++			K <sup>2</sup>	-	+	-	-
K <sup>3</sup>	-	++			K <sup>3</sup>	-	+	-	-

Примечания: 1 «++» – сильный, резкий запах; 2 «+» – ощущимый запах; 3 «-» – отсутствие запаха

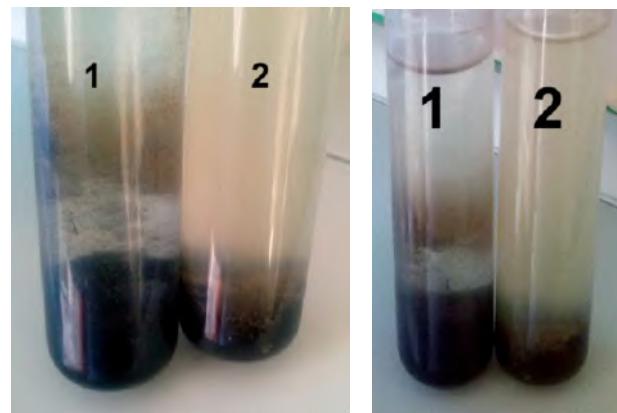
Из данных таблицы 2 видно, что наименьшую активность по утилизации ила наблюдалась у *Bacillus mojavensis*. Прирост клеток увеличился на 2 порядка на 14 сутки эксперимента, к концу эксперимента – еще в 2 раза.

Штаммы *Bacillus fusiformis*, *Bacillus amylolyticus* и *Pseudomonas lundensis* показали средние значения как по приросту биомассы, так и по утилизации ила показали. При использовании штамма *Pseudomonas lundensis* наблюдалось медленное размножение клеток.

Самые высокие показатели по утилизации ила показали культуры *Enterobacter sp.* и *Ochrobactrum sp.* на 28 сутки – 47 и 69% соответственно. Эти же культуры показали хорошие результаты по приросту биомассы.

Биологический контроль также показал среднее значение по утилизации ила (в пределах 3-х культур *Bacillus* и *Pseudomonas*). К сожалению, оценку прироста биомассы проверить не представилось возможным.

На 14 сутки эксперимента осадки (илы) в экспериментальных пробирках изменили цвет с угольно-черного до коричневого. К концу эксперимента в опытных образцах ил стал более светлым и рыхлым по консистенции. Наблюдалось также изменение прозрачности раствора (рисунок 3).



а  
б  
а- 14 сутки; б – 28 сутки  
1- контроль; 2 – Enterobacter sp.

Рисунок 3 – Эксперимент по утилизации илов в лабораторных условиях

В ходе эксперимента также оценивался запах по трехбалльной системе: очень резкий, дурнопахнущий (++) , присутствие (наличие) запаха (+) и его отсутствие (-). На 14 сутки практически все пробы обладали запахом, который можно отнести к «++», однако, на 28 сутки эксперимента запах остался только в биологическом и химическом контролях.

По результатам исследования, минимальную активность по утилизации ила имеет штамм *Bacillus mojavensis*. Средние значения как по приросту биомассы, так и по утилизации ила показали *Bacillus fusiformis*, *Bacillus amyloligefaciens* и *Pseudomonas lundensis*. Медленное увеличение количества клеток *Pseudomonas lundensis* вероятно связано с медленной адаптацией к субстрату.

Самые высокие показатели по утилизации ила показали культуры *Enterobacter sp.* и *Ochrobactrum sp.* на 28 сутки – 47 и 69% соответственно. Эти же культуры показали хорошие результаты по приросту биомассы. Органические вещества являются источником питания для микроорганизмов, за счет чего происходит размножение бактериальных клеток в среде с иловой массой и приводит к накоплению биомассы. Снижение процентного содержания ила свидетельствует о том, что культуры способны утилизировать иловые осадки. Гравиметрический анализ в данном опыте позволяет судить об уменьшении объема иловой массы в исследуемых пробах с внесением микроорганизмов по сравнению с контролем.

В целом эксперимент показал перспективность использования микробной биомассы для утилизации илов городских сточных вод. Перспективными штаммами можно назвать культуры *Enterobacter sp.* и *Ochrobactrum sp.* с 47 и 69 % утилизации илов соответственно.

## Заключение

На основании полученных экспериментальных данных установлено количественное содержание и таксономическая принадлежность основных групп бактерий в пробах городских бытовых стоков.

Из городских бытовых стоков выделены штаммы микроорганизмов, из которых 6 были отобраны для дальнейших исследований, которые идентифицированы как *Bacillus mojavensis*, *Bacillus fusiformis*, *Bacillus amyloligefaciens*,

*Pseudomonas lundensis*, *Enterobacter sp.* и *Ochrobactrum sp.*

Результаты лабораторных экспериментов по утилизации илов городских бытовых стоков показали, что наибольшей активностью обладают бактерии *Enterobacter sp.* и *Ochrobactrum sp.*. Утилизация ила в модельных экспериментах наблюдалась до 70%.

Ассоциация из трех штаммов бактерий рода *Bacillus* была менее эффективна в процессе утилизации ила по сравнению с монокультурами *Enterobacter sp.* и *Ochrobactrum sp.*.

Таким образом, исследуемые нами микроорганизмы можно считать перспективными для дальнейшей переработки органических отходов и разработки на их основе технологии получения органоминерального удобрения. Биологические препараты являются современными и эффективными средствами для переработки отходов, в результате чего возможно получение качественного органического удобрения, богатого азотными соединениями, не содержащего в своем составе патогенной микрофлоры, личинок гельминтов. В последние годы вокруг канализационно-очистных сооружений в стране возникло много проблем с утилизацией осадков в иловых картах. Поэтому, предлагается метод биологической ферментации и утилизации с помощью активных штаммов микроорганизмов.

## Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке Национальной программы грантов Казахстана на 2020-2022 годы. Финансирование предоставлено Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан по бюджетной программе 217 «Развитие науки», подпрограмме 102 «Грантовое финансирование научных исследований» по приоритету: «Наука о жизни и здоровье» на 2020-2022 гг., договор №76 от 19 мая 2020 года.

## Литература

- 1 Прянишников Д.Н. Учение об удобрении. – М., 1903. – С. 187-189.
- 2 Жук Д.А. Систер В.Г., Таргичина В.Г. Использование осадков сточных вод для улучшения плодородия почвы // сб.статей межд.науч.эколог.конф. «Экологические проблемы развития агроландшафтов и способы повышения их продуктивности». – Краснодар, 2018. – С. 89.
- 3 Шванская Л.П. Использование свежего и зрелого осадка в качестве удобрения // Работы научн. исслед. отд. треста Москвод. – 1983. – №1. – С. 42-58.
- 4 Нездойминов В.И., Чернышев В.Н., Зайченко Л.Г., Могукало А.В. К вопросу использования осадков сточных вод в качестве органоминерального удобрения // Мат. научн.-практ. конф. «Технологии очистки воды «Техновод-2019». – М., 2019. – С. 232-237.

- 5 Львович А.И. Обеззараживание осадка сточных вод на земледельческих полях орошения. // Сб.: Докл. IV Межд. конф. по использованию сточных вод для орошения. – Бухарест, 1965. – С. 115-128.
- 6 Ak N., and Dumrul H. 2017. Wastewater treatment unit operations and processes. Energy Educ. Sci. Tech-C 9:1–12.
- 7 Abad E., Martínez K., Planas C., Palacios O., Caixach J., and Rivera, J. 2005. Priority organic pollutant assessment of sludges for agricultural purposes. Chemosphere 61:1358–1369.
- 8 Ильинский А.В., Сельмен В.Н. Некоторые аспекты применения осадков сточных вод для реабилитации деградированных земель // Сб. статей межд.науч.эколог.конф. «Экологические проблемы развития агроландшафтов и способы повышения их продуктивности». – Краснодар, 2018. – С.100-101.
- 9 V. Muralikrishna, V. Manickam, I. V. Muralikrishna, V. Manickam, Solid Waste Management, Environ. Manage. (2017) 431–462. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811989-1.00016-6>.
- 10 B. Sharma, B. Vaish, Monika, U.K. Singh, P. Singh, R.P. Singh, Recycling of Organic Wastes in Agriculture: An Environmental Perspective, Int. J. Environ. Res. 13 (2019) 409–429. <https://doi.org/10.1007/s41742-019-00175-y>.
- 11 Сельмен В. Н. Перспективы использования органоминеральных удобрений, полученных на основе осадков сточных вод / В. Н. Сельмен, А. В. Ильинский // Экологические аспекты мелиорации, гидротехники и водного хозяйства АПК : Материалы междунар. науч.-практ. конф. – М. : Изд. ВНИИГиМ, 2017. – С. 225–228.
- 12 Cáceres R, Malinška K, Marfà O (2018) Nitrification within composting: a review. Waste Manag 72:119–137
- 13 Архип О.Д. Эффективность осадков сточных вод городов в зависимости от его способа применения. // Система удобрений в интенсивном земледелии. – Кишинев, 1979. – С. 72- 83.
- 14 Туровский И.С. Обработка осадков сточных вод. – М.: Стройиздат, 1982. – 121 с.
- 15 M.R.Q. Silva, T.R. Naik, Review of composting and anaerobic digestion of municipal solid waste and a methodological proposal for a mid-size city, Sustain. Constr. Mater. Technol. – Int. Conf. Sustain. Constr. Mater. Technol. (2007) 631–643.
- 16 B.K. Nanjwade, S. Chandrashekhar, A.M. Shamarez, P.S. Goudanavar, F. V. Manvi, Isolation and morphological characterization of antibiotic producing actinomycetes, Trop. J. Pharm. Res. 9 (2010) 231–236. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v9i3.56282>.
- 17 Гильманова М.В., Грекова И.В. Восстановление почвенного плодородия нарушенных земель с использованием осадка сточных вод // Междунар.исследовательский журнал, № 5 (95), Ч.1, 2020. – С. 147.
- 18 Johnson S.L. Potsbammets anwandning inom fordbriket. "Vaxt-narinsshytt" 1963, 19. – №1. – Р. 1-6.
- 19 Selnur Uçaroğlu and Ufuk Alkan Composting of wastewater treatment sludge with different bulking agents. Journal of the air & waste management association 2016, vol. 66, no. 3, 288–295 <http://dx.doi.org/10.1080/10962247.2015.1131205>
- 20 N. Varghese, P.P. Joy, Naveena Varghese, Microbiol. Lab. Man. [http://prsvkm.kau.in/sites/default/files/documents/microbiology\\_laboratory\\_manual.pdf](http://prsvkm.kau.in/sites/default/files/documents/microbiology_laboratory_manual.pdf), 2014(accessed 10 April 2020).
- 21 Božym M., Siemiątkowski G.. Characterization of composted sewage sludge during the maturation process: a pilot scale study. Environmental Science and Pollution Research (2018) 25:34332–34342 <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3335-x>
- 22 Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переярзева Г.И. Практикум по микробиологии. – М.: «Колос», 1979. – С. 42-79.
- 23 Нетрусов А.Т., Егорова М.А., Захарчук Л.М., Колотилова Н.Н. Практикум по микробиологии. – М.: Академия, 2005. – С. 80-95.
- 24 Нетрусов А.И., Бонч-Осмоловская Е.А., Горленко В.М., Иванов М.В. и др. Экология микроорганизмов. – М.: Академия, 2004. – С. 35-40.
- 25 Wilson K. Preparation of genomic DNA from bacteria in Current Protocols in Molecular Biology / Eds. Ausubel F.M., Brent R., Kingston R.E., Moore D.D., Seidman J.G., Smith J.A. et al. – New York : Wiley, 1987. – Р. 241-245.

## References

- 1 Ak N., and Dumrul H. 2017. Wastewater treatment unit operations and processes. Energy Educ. Sci. Tech-C 9:1–12.
- 2 Abad E., Martínez K., Planas C., Palacios O., Caixach J., and Rivera, J. 2005. Priority organic pollutant assessment of sludges for agricultural purposes. Chemosphere 61:1358–1369.
- 3 Arhip O.D. Effektivnost' osadkov stochnyh vod gorodov v zavisimosti ot ego sposoba primeneniya. // Sistema udobrenij v intensivnom zemledelii. – Kishinev, 1979. S. 72- 83.
- 4 B. Sharma, B. Vaish, Monika, U.K. Singh, P. Singh, R.P. Singh, Recycling of Organic Wastes in Agriculture: An Environmental Perspective, Int. J. Environ. Res. 13 (2019) 409–429. <https://doi.org/10.1007/s41742-019-00175-y>.
- 5 Božym M., Siemiątkowski G.. Characterization of composted sewage sludge during the maturation process: a pilot scale study. Environmental Science and Pollution Research (2018) 25:34332–34342 <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3335-x>
- 6 B.K. Nanjwade, S. Chandrashekhar, A.M. Shamarez, P.S. Goudanavar, F. V. Manvi, Isolation and morphological characterization of antibiotic producing actinomycetes, Trop. J. Pharm. Res. 9 (2010) 231–236. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v9i3.56282>.
- 7 Cáceres R, Malinška K, Marfà O (2018) Nitrification within composting: a review. Waste Manag 72:119–137
- 8 V. Muralikrishna, V. Manickam, I. V. Muralikrishna, V. Manickam, Solid Waste Management, Environ. Manage. (2017) 431–462. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811989-1.00016-6>.
- 9 Gil'manova M.V., Grekhova I.V. Vosstanovlenie pochvennogo plodorodiya narushennyh zemel' s ispol'zovaniem osadka stochnyh vod // Mezhdunar.issledovatel'skij zhurnal, № 5 (95), CH.1, 2020. S.147.
- 10 Il'inskij A.V., Sel'men V.N. Nekotorye aspekty primeneniya osadkov stochnyh vod dlya reabilitacii degradirovannyh zemel' // sb.statej mezhd.nauch.ekolog.konf. «Ekologicheskie problemy razvitiya agrolandshaftov i sposoby povysheniya ih produktivnosti». – Krasnodar, 2018. S.100-101.
- 11 Johnson S.L. Potsbammets anwandning inom fordbriket. "Vaxt-narinsshytt" 1963, 19. -№1. -P. 1-6.

- 12 L'vovich A.I. Obezzarazhivanie osadka stochnyh vod na zemledel'cheskih polyah orosheniya. -Sb.: Dokl. IV Mezhd. konf. po ispol'zovaniyu stochnyh vod dlya orosheniya. -Buharest, 1965. – S.115-128.
- 13 M.R.Q. Silva, T.R. Naik, Review of composting and anaerobic digestion of municipal solid waste and a methodological proposal for a mid-size city, Sustain. Constr. Mater. Technol. – Int. Conf. Sustain. Constr. Mater. Technol. (2007) 631–643.
- 14 Nezdojminov V.I., CHernyshev V.N., Zajchenko L.G., Mogukalo A.V. K voprosu ispol'zovaniya osadkov stochnyh vod v kachestve organomineral'nogo udobreniya // Mat.nauchn.-prakt.konf. «Tekhnologii ochistki vody «Tekhnovod-2019». – Moskva, 2019. S.232-237.
- 15 N. Varghese, P.P. Joy, Naveena Varghese, Microbiol. Lab. Man. [http://prsvkm.kau.in/sites/default/files/documents/microbiology\\_laboratory\\_manual.pdf](http://prsvkm.kau.in/sites/default/files/documents/microbiology_laboratory_manual.pdf), 2014(accessed 10 April 2020).
- 16 Netrusov A.T., Egorova M.A., Zaharchuk L.M., Kolotilova N.N. Praktikum po mikrobiologii // M.: Akademiya, 2005 g. S. 80-95.
- 17 Netrusov A.I., Bonch-Osmolovskaya E.A., Gorlenko V.M., Ivanov M.V. i dr. Ekologiya mikroorganizmov // M.: Akademiya, 2004 g. S.35-40.
- 18 Pryanishnikov D.N. Uchenie ob udobrenii // M., 1903. – S. 187-189.
- 19 Sel'men V. N. Perspektivy ispol'zovaniya organomineral'nyh udobrenij, poluchenniy na osnove osadkov stochnyh vod / V. N. Sel'men, A. V. Il'inskij // Ekologicheskie aspekty melioracii, gidrotekhniki i vodnogo hozyajstva APK : Materialy mezhdunar. nauch.-prakt. konf. – M. : Izd. VNIIGiM, 2017. – S. 225–228.
- 20 Selnur Uçaroğlu and Ufuk Alkan Composting of wastewater treatment sludge with different bulking agents. Journal of the air & waste management association 2016, vol. 66, no. 3, 288–295 <http://dx.doi.org/10.1080/10962247.2015.1131205>
- 21 SHvanskaya L.P. Ispol'zovanie svezhego i zrelego osadka v kachestve udobreniya // Raboty nauchn. issled. otd. tresta Mosvod. – 1983. – №1. – S.42-58.
- 22 Turovskij I.S. Obrabotka osadkov stochnyh vod. // M.: Strojizdat, 1982.- 121 s.
- 23 Tepper E.Z., SHil'nikova V.K., Pereverzeva G.I. Praktikum po mikrobiologii // M.: «Kolos», 1979. S.42-79.
- 24 Wilson K. Preparation of genomic DNA from bacteria in Current Protocols in Molecular Biology / Eds. Ausubel F.M., Brent R., Kingston R.E., Moore D.D., Seidman J.G., Smith J.A. et al. – New York : Wiley, 1987. – P. 241-245.
- 25 ZHuk D.A. Sister V.G., Targichina V.G. Ispol'zovanie osadkov stochnyh vod dlya uluchsheniya plodorodiya pochyv // sb.statej mezhd.nauch.ekolog.konf. «Ekologicheskie problemy razvitiya agrolandshaftov i sposoby povysheniya ih produktivnosti». – Krasnodar, 2018. S.89



3-бөлім

**МОЛЕКУЛАРЫҚ**

**БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА**

---

Section 3

**MOLECULAR**

**BIOLOGY AND GENETICS**

---

Раздел 3

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ**

**БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА**

МРНТИ 34.15.31. 34.25.21

<https://doi.org/10.26577/eb.2020.v85.i4.09>

**К.К. Джекебеков<sup>1\*</sup>, К.К. Ақылбаева<sup>1</sup>, А.М. Мелисбек<sup>1</sup>,  
А.Т. Жунушов<sup>2</sup>, Е.Д. Бурашев<sup>1</sup>, М.Б. Орынбаев<sup>1</sup>,  
К.Т. Султанкулова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности,  
Казахстан, г. Гвардейский

<sup>2</sup>Институт биотехнологии Национальной Академии Наук Кыргызской Республики,  
Кыргызстан. г. Бишкек  
\*e-mail: zhekebekov\_87@mail.ru

## **ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ШТАММОВ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ А/Н3Н8**

Распространение вирусов гриппа А (ВГА) в природе неразрывно связано с миграционными перемещениями диких птиц, являющимся естественным резервуаром вируса гриппа птиц в природе. В работе представлены данные мониторинга территории Республики Казахстан в 2018–2019 гг., в ходе которого была выявлена циркуляция ВГА/ Н3Н8 среди популяции диких птиц. Проанализированы изменения в генетической структуре поверхностных генов, циркулирующих на территории Республики Казахстан, пяти штаммов ВГА/Н3Н8 и определена их филогенетическая принадлежность. Генетические расстояния поверхностных генов ВГА/Н3Н8, выявленные с помощью программного обеспечения MEGA версии 6.0, показывают, что казахстанские штаммы дистанцируются от Азиатских и Европейских штаммов ВГА/Н3Н8 и образовывают отдельную ветвь, отличающихся от прототипных штаммов. Возможно, данные казахстанские штаммы являются новыми вариантами ВГА/Н3Н8. Пять казахстанских штаммов ВГА/Н3Н8 и штаммы Евроазиатской генетической ветви также продемонстрировали филогенетическую близость по нуклеотидным последовательностям нейраминидазы. При этом генетическая дистанция между казахстанскими штаммами ВГА/Н3Н8 и самым близким азиатским штаммом A/duck/Mongolia/566/2018(H3N8) MK978954 составила  $D \geq 0.015$ . Казахстанские штаммы дистанцируются от европейских штаммов, как A/mallard/Sweden/141811/2013 (H3N8) KT725427 со значением  $D \geq 0.027$ .

**Ключевые слова:** вирус гриппа, штамм, генетическое разнообразие.

K.K. Jekebekov<sup>1</sup>, K.K. Akylbayeva<sup>1</sup>, A.M. Melisbek<sup>1</sup>,  
A.T. Junushov<sup>2</sup>, E.D. Burashev<sup>1</sup>, M.B. Orynbayev<sup>1</sup>, K.T. Sultankulova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute for Biological Safety Problems, Kazakhstan, Gvardeiskiy vil.

<sup>2</sup>Institute of Biotechnology of the National Academy of Science of the Kyrgyz Republic, Kyrgyzstan, Bishkek  
\*e-mail: zhekebekov\_87@mail.ru

### **Genetic diversity of avian influenza virus strains A/H3N8**

The spread of influenza A viruses (IAV) in nature is inextricably linked to migratory movements of wild birds, which is a natural reservoir of avian influenza virus in nature. The paper presents monitoring data on the territory of the Republic of Kazakhstan in 2018 -2019, during which the IAV/H3N8 circulation was detected among the wild bird population. Changes in the genetic structure of surface genes circulating on the territory of Kazakhstan of five IAV/H3N8 strains were analyzed and their phylogenetic affiliation was determined. The genetic distances of the IAV/H3N8 surface genes identified using the MEGA software version 6.0 show that Kazakhstani strains distance themselves from the Asian and European IAV/H3N8 strains and form a separate branch that differs from the prototype strains. Perhaps these Kazakhstani strains are new variants of IAV/H3N8. Five Kazakhstan HAV / H3N8 strains and strains of the Eurasian genetic branch also demonstrated phylogenetic closeness in the nucleotide sequences of neuraminidase. Moreover, the genetic distance between the Kazakhstani strains of the HAV / H3N8 and the closest Asian strain A / duck / Mongolia / 566/2018 (H3N8) MK978954 was  $D \geq 0.015$ . Kazakhstani strains distance themselves from European strains like A / mallard / Sweden / 141811/2013 (H3N8) KT725427 with a value of  $D \geq 0.027$ .

**Key words:** influenza virus, strain, genetic diversity.

К.К. Джекебеков<sup>1\*</sup>, К.К. Ақылбаева<sup>1</sup>, А.М. Мелисбек<sup>1</sup>,  
А.Т. Жунушов<sup>2</sup>, Е.Д. Бурашев<sup>1</sup>, М.Б. Орынбаев<sup>1</sup>, К.Т. Султанкулова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми зерттеу институты,  
Қазақстан, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, к.т.а. Гвардейский

<sup>2</sup>Қырғыз Республикасы Ұлттық ғылым академиясының биотехнология институты, Қызылорда, Бішкек қ.

\*e-mail: zhekebekov\_87@mail.ru

## A/H3N8 құс тұмауы вирусы штаммдарының генетикалық әртүрлілігі

А типті құс тұмауы вирусының (ATTB) табигатта таралуы құс тұмауы вирусының табиги резервуары болып табылатын жабайы құстардың қоныс аударуымен ете тығыз байланысты болып табылады. Ғылыми жұмыс барысында жабайы құстардың популяциясы арасында ATTВ/H3N8 айналымы анықталып, 2018-2019 жылдардағы Қазақстан Республикасы бойынша мониторинг деректері берілген. Қазақстан аумағында бес ATTВ/H3N8 штаммдарының айналымы, олардың гендерінің генетикалық құрылымындағы өзгерістері талданып, филогенетикалық құрамы анықталған. MEGA бағдарламалық жасақтамасының 6.0 нұсқасымен анықталған ATTВ/H3N8 гендерінің генетикалық қашықтықтары қазақстандық штаммдардың Азия және Еуропалық ATTВ/H3N8 штаммдарынан қашықтықта екенін және сонымен қатар прототипті штаммдарынан өзгеше тармақты құрайтындығын көрсетеді. Мүмкін, бұл қазақстандық штаммдар ATTВ/H3N8 жаңа нұсқалары болып табылады. Қазақстандық бес ATTВ/H3N8 штаммдары және Еуразиялық генетикалық саланың штаммдары нейраминидаздың нуклеотидтік тізбегінде филогенетикалық жақындығын көрсетіп берді. Сонымен қатар, ғылыми жұмыс негізінде қазақстандық A типті құс тұмауы вирусының ATTВ/H3N8 штаммдары мен Азиядағы A/duck/Mongolia/566/2018(H3N8) MK978954 штаммдарының арасындағы генетикалық қашықтық D≥0.015 болып табылады. Қазақстандық штаммдар, A/mallard/Sweden/141811/2013 (H3N8) KT725427 сияқты Еуропалық штаммдардан D 0.027 мәні бар қашықтықта түргандығын көрсетti.

**Түйін сөздер:** тұмау вирусы, штамм, генетикалық әртүрлілік.

## Введение

За последние 50 лет зарегистрировано 18 наиболее крупных эпизоотий высокопатогенного вирусов гриппа птиц. Из них, 5 произошло в Великобритании, 5 в Австралии, 3 случая в других странах Европы, и по одной эпизоотии в Пакистане, Гонконге, Канаде, США и Мексике [1].

С 2005 года во многих странах регистрируют птичий грипп, вызванный высокопатогенным вирусом штамма H5N1, занесенный с дикой перелетной и водоплавающей птицей. Вирус-воздушитель птичьего гриппа (*Influenza virus A*) относится к семейству Orthomixoviridae, по комплемент связывающему антигену родствен к вирусу гриппа A человека и животных.

Вирус гриппа A является представителем рода *Orthomyxovirus* [2,3, 4]. Одноцепочечная РНК отрицательного смысла имеет 8 генных сегментов, кодирующих 11 белков, в которых 2 поверхностных гликопротеина гемагглютинин (HA) и нейраминидаза (NA) несут 16 и 9 серотипов соответственно. Еще два подтипа HA (H17 и H18) и NA (N10 и N11) были выделены от травоядных летучих мышей [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10].

Для птиц наиболее патогенны варианты типа A (H5N1 и H7N9). Заражение человека впервые зарегистрировано в Гонконге в 1997 году во врем-

мя вспышки гриппа у домашней птицы (H5N1). Случаи заражения гриппом H7N9 зафиксированы в Китае 2013 году, зафиксировано 453 случаев болезни человека данным вирусом. От гриппа скончались 175 человек [11, 12, 13].

Подтип H3 вируса птичьего гриппа может обеспечить гены для вируса человеческого гриппа посредством генной реассортировки, что вызывает большие опасения относительно его потенциальной угрозы для здоровья человека [14].

По данным Всемирной организации здравоохранения животных (OIE) от 25 января 2018 года отмечено, что с 2013 года наблюдается вторая панэпизоотическая волна гриппа птиц. Ситуацию осложняет циркуляция различных подтипов вируса, что усложняет контроль и ликвидацию вспышек вызываемым птичьем гриппом. В январе 2018 года 8 стран (Афганистан, Камбоджа, Тайвань, Ирак, Южная Корея, Япония, Саудовская Аравия и Южная Африка) и два континента (Азия и Африка) были поражены вспышками среди домашней птицы.

По сравнению с первой волной (с 2005 по 2012 годы) в настоящее время отмечается утрение числа циркулирующих подтипов вируса гриппа птиц (12 против 4). Текущей панэпизотией охвачены все континенты. Погибло около 120 миллионов голов птицы. В 68 странах наблюдалась хотя бы одна вспышка гриппа птиц.

Такие штаммы, как H5N1, H5N2 и H5N8 сегодня являются обычными для этих стран [15].

Совсем недавно новые и возвращающиеся штаммы H5N1, H5N2 и H5N6 поразили Азию, Европу и Ближний Восток, и имеются признаки того, что географическое распространение продолжается. С позиций здравоохранения, наиболее опасными для человека являются штаммы H7N9, H5N6 и H5N1[16].

Особо опасные для человека вирусы гриппа птиц были выделены в Китае (H7N9 и H5N7) и в некоторых регионах Азии и Африки (H5N1) [17].

Грипп является заболеванием, вызываемым вирусом гриппа птиц, постоянная эволюция которого приводит к непрекращающимся ежегодным эпидемиям и эпизоотиям. В основе эволюции вирусов гриппа лежит накопление мутаций, вызывающие антигенный дрейф и возникновение новых вариантов вируса, что обеспечивает гетерогенность вирусной популяции и лежит в основе формирования различных генетических линий [18, 19, 20].

Дикие водоплавающие птицы считаются природным источником всех вирусов гриппа А. Возможно, на протяжении веков именно они являлись распространителями вирусов данного заболевания. Перелетные птицы известны как носители вирусов подтипов H5 и H7, хотя обычно не в столь агрессивной патогенной форме. Последние случаи заболевания свидетельствуют

о том, что некоторые перелетные птицы не-посредственно распространяют вирус H5N1 в высокопатогенной форме [21]. В этой связи прогнозируется распространение данного вируса в новых регионах. Поэтому проблема сезонных миграций в пограничных районах приобретает особую актуальность.

Таким образом, целью настоящего исследования является определение генетического разнообразия вариантов ВГА субтипа H3N8, циркулировавшие в популяциях диких птиц в 2018 – 2019 гг. на территории мелких озер, расположенных на территории Северо-Казахстанской области и орнитологической станции «Шакпак».

### Материалы и методы исследования

*Штаммы, используемые в исследовании, были выявлены на территории Республики Казахстан в 2018 -2019 гг. среди популяции диких птиц:*

- A/Northern shoveler / Nort-Kazakhstan / 20 / 2018 (H3N8);
- A/Garganey/Nort-Kazakhstan/45/2018 (H3N8);
- A/Greylag goose/Nort-Kazakhstan/62/2019 (H3N8);
- A/White wagtail/Shackpack/49/2019 (H3N8).

Штаммы, используемые в исследовании продемонстрированы в таблице 1. Приведенные сведения показывают видовой состав птиц, от которых выделены штаммы, место выделения.

**Таблица 1 – Характеристики штаммов вируса гриппа птиц**

№	Штаммы	Вид птицы	Семейство	Дата сбора	Место выделения	Источник об-разца	Координаты места сбора
1	A/grey duck/ Nort-Kazakhstan/5/ 2018 (H3N8)	серая утка (Grey duck)	Утиные	01.10.2018	Северо-Казахстанская область, Есильский район, п. Явленка, озеро Алуа	Клоакальные смывы	N54°22'50,6» E68°17'06,6»
2	A/Northern shoveler/Nort-Kazakhstan/20/2018 (H3N8)	широко-носка (Northern shoveler)	Утиные	04.10.2018	Северо-Казахстанская область, Есильский район, п. Явленка, озеро Алуа	Клоакальные смывы	N54°22'50,6» E68°17'06,6»
3	A/Garganey/ Nort-Kazakhstan/45/2018 (H3N8)	чиrok-трескунок (Garganey))	Утиные	03.10.2018	Северо-Казахстанская область, Жамбылский район, с. Пресновка Озеро Займище	Клоакальные смывы	N54°22'50,6» E68°17'06,6»
4	A/ Greylag goose/ Nort-Kazakhstan/62/2019 (H3N8)	серый гусь (Greylag goose)	Утиные	20.10.2019	Северо-Казахстанская область, Тимирязевский район, с Акжан, Озеро Малый Как	Клоакальные смывы	N 53°43'39,2» E066°48'18,7»
5	A/White wagtail/ Shackpack/49/ 2019 (H3N8)	белая трясогузка (White wagtail)	Трясогузковые	29.10.2019	Орнитологическая станция кольцевания птиц «Шакпак», Жамбылская область	Клоакальные смывы	N42° 57,095 E070°64,366

## 2.1 Выделение вирусной РНК

Выделение вирусной РНК проводили с использованием набора QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) в соответствии протоколу производителя.

## 2.2 ОТ-ПЦР-реакция

ОТ-ПЦР проводили с использованием одностадийного набора для постановки ПЦР (Qiagen). Все праймеры были синтезированы с помощью синтезатора ДНК/РНК/LNA H-16

(K&A Laborgeraete, Германия). Последовательности праймеров, использованные в этом исследовании, показаны в таблице 2.

Определение подтипов гемагглютинина Н3 и нейраминидазы N8, выделенных штаммов проводили методом ОТ-ПЦР с использованием подтип специфичных праймеров [20, 21].

Полученный продукт ПЦР анализировали с использованием электрофореза в агарозном геле (1,5%).

**Таблица 2 – Список праймеров для выявления ВГА/Н3N8**

Наименование	Последовательность	Размер продукта, п.о.
Вирус гриппа типа А	InfA_780_1F- ACT GGG CAC GGT GAG CGT GA	164
	InfA_944_1RCCC GTC AGG CCC CCT CAA AGC	
Праймеры, используемые для субтиповирования гена НА и НА ВГА/Н3N8		
H3	H3-919F GYATYACTCCWAATGGAAGC	376
	H3-1294R ATTCTYCCCTCYACTTCGDA	
N8	N8-93F CATRTVGTBAGYATYAYARTAAC	137
	N8-209R ACAYTRGYATTGTRCCATTG	

## 2.3 Секвенирование и филогенетический анализ

Гемагглютинин и нейраминидаза вируса гриппа А/Н3N8, обнаруженные с помощью ОТ-ПЦР, подвергались нуклеотидному секвенированию на автоматическом секвенаторе ДНК Applied Biosystems 3130 (ABI, 3130, США) с использованием набора для секвенирования Bigdye Terminator V3.1 (Applied Biosystems, Inc., США) для секвенирования генов. Расчет генетических дистанции выполнили с использованием компьютерной программы Mega 7.0 при следующих параметрах: Analysis – Distance Estimation; Variance Estimation Method – Bootstrap method; Model/Method – P distance [22, 23, 24].

## Результаты исследования и их обсуждение

### 3.1 ПЦР анализ субтипов ВГА/Н3N8

В Северо-Казахстанской области ВГА/Н3N8 осенью 2018 -2019 гг. был выявлен у четырех видов птиц, принадлежащих к семейству утиных (Anatidae): серая утка (Grey duck), широконоска (Northern shoveler), чирок-трескунок (Garganey) и серый гусь (Greylag goose). Следует отметить, что птицы, относящиеся к семействам Anatidae и Anseriformes, занимают один из первых мест по количеству и разнообразию изолируемых от них вирусов гриппа типа А [25].

На территории орнитологической станции кольцевания птиц «Шакпак», расположенной в южной части Жамбылской области Республики Казахстан ВГА/Н3N8 был выявлен у птицы белая трясогузка (White wagtail).

Результаты выявления ВГА/Н3N8 из образцов от птиц представлены на рисунке 1.

### 3.2 Филогенетический анализ поверхностных генов

Проведен филогенетический анализ по гену НА (Рисунок 2) выделенных штаммов ВГА/Н3N8 с целью определения наиболее филогенетически близких к ним. В анализе были использованы доступные в GenBank данные штаммов ВГА.

Штаммы ВГА/Н3N8, выделенные в Казахстане в 2018-2019 гг., относящиеся к азиатской линии отмечены треугольниками. Штаммы ВГА/Н3N8, относящиеся к европейской линии, выделены кругом.

В результате проведенного филогенетического анализа показано, что данные штаммы ви- руса гриппа птиц подтипа Н3N8 входят в группы азиатских и европейских вирусов. Отличия ну- клеотидных последовательностей гемагглюти- нина между казахстанскими представителями вируса гриппа птиц подтипа Н3N8 этих двух генетических линий достигают значений 5,75 %.

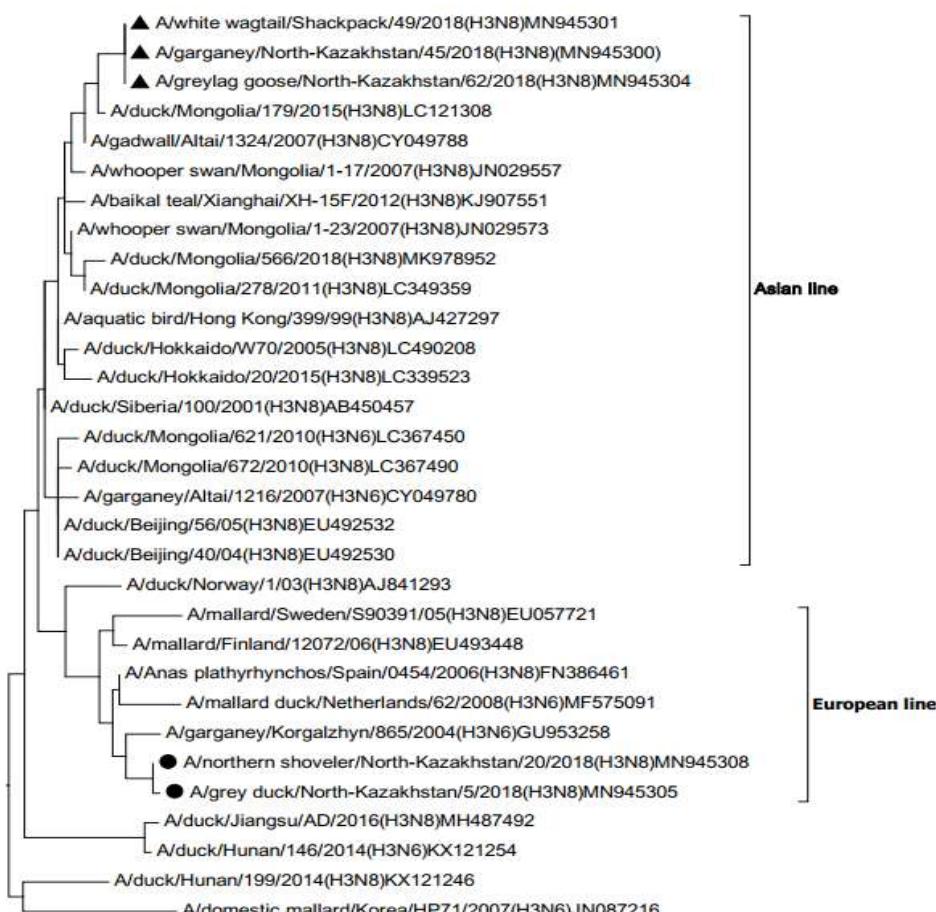


Электрофореграмма ПЦР-продуктов М гена вируса гриппа А. Размер ПЦР продукта 185 п.о.; М – Маркер ДНК; 1 – Отрицательный контроль; 2 – A/grey duck/ Nort-Kazakhstan/5/ 2018 (H3N8); 3 – A/Northern shoveler/Nort- Kazakhstan/20/2018 (H3N8); 4 -A/Garganey/Nort-Kazakhstan/45/2018 (H3N8); 5 – A/ Greylag goose/Nort- Kazakhstan/62/2019 (H3N8); 6 – A/White wagtail/Shackpack/49/ 2019 (H3N8).

Электрофореграмма ПЦР-продуктов гемагглютинина Н3. Размер ПЦР продукта 376 п.о.; М – Маркер ДНК; 1 – Отрицательный контроль; 2 – A/grey duck/ Nort-Kazakhstan/5/ 2018 (H3N8); 3 – A/Northern shoveler/Nort- Kazakhstan/20/2018 (H3N8); 4 – A/Garganey/Nort- Kazakhstan/45/2018 (H3N8); 5 – A/ Greylag goose/Nort- Kazakhstan/62/2019 (H3N8); 6 – A/White wagtail/Shackpack/49/ 2019 (H3N8).

Электрофореграмма ПЦР-продуктов нейрамидазы Н8. Размер ПЦР продукта 137 п.о.; М – Маркер ДНК; 1 – Отрицательный контроль; 2 – A/grey duck/ Nort-Kazakhstan/5/ 2018 (H3N8); 3 – A/Northern shoveler/Nort- Kazakhstan/20/2018 (H3N8); 4 – A/Garganey/Nort- Kazakhstan/45/2018 (H3N8); 5 – A/ Greylag goose/Nort- Kazakhstan/62/2019 (H3N8); 6 – A/White wagtail/Shackpack/49/ 2019 (H3N8).

**Рисунок 1** – Электрофореграмма ПЦР-продуктов фрагментов генов М, Н3 и Н8 вируса гриппа типа А.



**Рисунок 2** – Филогенетическое дерево штаммов ВГА/H3N8 по гену НА, 2018/2019 (n = 5) ([www.megasoftware.net/](http://www.megasoftware.net/))

### 3.3 Оценка генетической связи штаммов ВГА/H3N8

Проведена оценка эволюционной дивергенции между последовательностями казахстанских штаммов и данными Генбанка в программе MEGA6.0. Показано количество базовых различий между нуклеотидными последовательностями казахстанских штаммов ВГА/H3N8 и

Азиатских, Европейских штаммов из Генбанка. Стандартные оценки ошибок показаны выше диагонали и были получены с помощью процедуры начальной загрузки (1000 повторов).

По данным таблиц 3, 4, 5 выборки из популяций казахстанских штаммов ВГА/H3N8 дистанцируются от Азиатских и Европейских штаммов представленных в Генбанке.

**Таблица 3 – Генетическая дифференциация гемагглютинина штаммов ВГА/H3N8 Азиатской генетической линии**

	1	2	3	4	5	6	7	8
1. A/greylag goose/North-Kazakhstan/62/2019(H3N8)MN945304		0.001	0.000	0.003	0.005	0.003	0.004	0.005
2. A/white wagtail/Shackpack/49/2019(H3N8)MN945301	0.003		0.001	0.003	0.005	0.004	0.004	0.005
3. A/garganey/North-Kazakhstan/45/2018(H3N8)MN945300	0.000	0.003		0.003	0.005	0.003	0.004	0.005
4. A/duck/Mongolia/179/2015(H3N8)LC121308	0.015	0.018	0.015		0.005	0.003	0.004	0.005
5. A/baikal teal/Xianghai/XH-15F/2012(H3N8)KJ907551	0.034	0.036	0.034	0.031		0.004	0.003	0.004
6. A/gadwall/Altai/1324/2007(H3N8)CY049788	0.024	0.026	0.024	0.021	0.025		0.003	0.004
7. A/whooper swan/Mongolia/1-23/2007(H3N8)JN029573	0.032	0.034	0.032	0.030	0.018	0.021		0.003
8. A/duck/Mongolia/566/2018(H3N8)MK978952	0.043	0.045	0.043	0.040	0.029	0.031	0.014	

Попарные значения генетической дифференциации (таблица 3) на основе гемагглютинина показали, что казахстанские штаммы значи-

тельно дистанцируются от Азиатского штамма A/duck/Mongolia/179/2015(H3N8) LC121308 ( $D \geq 0.015$ ).

**Таблица 4 – Генетическая дифференциация гемагглютинина штаммов ВГА/H3N8 Европейской генетической линии**

	1	2	3	4	5	6	7	8
1. A/northern shoveler/North-Kazakhstan/20/2018(H3N8)MN945308		0.003	0.009	0.010	0.009	0.011	0.013	0.014
2. A/grey duck/North-Kazakhstan/5/2018(H3N8)MN945305	0.003		0.009	0.011	0.009	0.011	0.013	0.014
3. A/garganey/Korgalzhyn/865/2004(H3N6)GU953258	0.029	0.026		0.011	0.009	0.011	0.012	0.014
4. A/mallard duck/Netherlands/62/2008(H3N6)MF575091	0.038	0.042	0.045		0.009	0.012	0.014	0.015
5. A/Anas platyrhynchos/Spain/0454/2006(H3N8)FN386461	0.022	0.026	0.026	0.029		0.008	0.011	0.012
6. A/mallard/Finland/12072/06(H3N8)EU493448	0.038	0.042	0.042	0.051	0.022		0.010	0.013
7. A/mallard/Sweden/S90391/05(H3N8)EU057721	0.058	0.061	0.054	0.070	0.048	0.038		0.015
8. A/duck/Norway/1/03(H3N8)AJ841293	0.061	0.064	0.070	0.080	0.051	0.054	0.080	

Согласно полученным данным таблицы 4, последовательность гемагглютинина, показала большое сходство между казахстанскими штаммами ВГА/H3N8 и штаммами A/garganey/Korgalzhyn/865/2004(H3N6) GU953258 ( $D \geq 0.026$ ) и A/Anas platyrhynchos/Spain/0454/2006(H3N8) FN386461 ( $D \geq 0.022$ ).

При этом генетические различия между другими относительно близкими европейскими штаммами по этому маркеру более значительны. Например, между казахстанскими штаммами ВГА/H3N8 и штаммом A/duck/Norway/1/03(H3N8) AJ841293 генетические дистанции составили  $D \geq 0.061$ .

Пять казахстанских штаммов ВГА/H3N8 и штаммы Евроазиатской генетической ветви также продемонстрировали филогенетическую близость по нуклеотидным последовательностям нейраминидазы. При этом генетическая дистанция между казахстанскими штаммами ВГА/H3N8 и самым близким азиатским штаммом A/duck/Mongolia/566/2018(H3N8) MK978954 составил  $D \geq 0.015$ . Казахстанские штаммы дистанцируются от европейских штаммов, как A/mallard/Sweden/141811/2013 (H3N8) KT725427 со значением  $D \geq 0.027$ .

**Таблица 5 – Генетическая дифференциация нейраминидазы штаммов ВГА/H3N8 Евроазиатской генетической ветки**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. A/greylag goose/North-Kazakhstan/62/2018(H3N8)MN945303	0.000	0.000	0.002	0.003	0.004	0.005	0.004	0.007	
2. A/garganey/North-Kazakhstan/45/2018(H3N8)MN945299	0.000	0.000	0.002	0.003	0.004	0.005	0.004	0.007	
3. A/white wagtail/Shackpack/49/2018(H3N8)MN945302	0.000	0.000	0.002	0.003	0.004	0.005	0.004	0.007	
4. A/grey duck/North-Kazakhstan/5/2018(H3N8)MN945306	0.006	0.006	0.006		0.002	0.004	0.005	0.004	0.007
5. A/northern shoveler/North-Kazakhstan/20/2018(H3N8)MN945307	0.009	0.009	0.009	0.003		0.004	0.005	0.005	0.007
6. A/duck/Mongolia/566/2018(H3N8)MK978954	0.015	0.015	0.015	0.015	0.018		0.005	0.005	0.006
7. A/mallard/Sweden/141811/2013(H3N8)KT725427	0.027	0.027	0.027	0.027	0.029	0.029		0.005	0.006
8. A/duck/Mongolia/278/2011(H3N8)LC349361	0.023	0.023	0.023	0.023	0.026	0.025	0.023		0.006
9. A/Anas platyrhynchos/Spain/0454/2006(H3N8)FN386468	0.047	0.047	0.047	0.047	0.050	0.048	0.046	0.044	

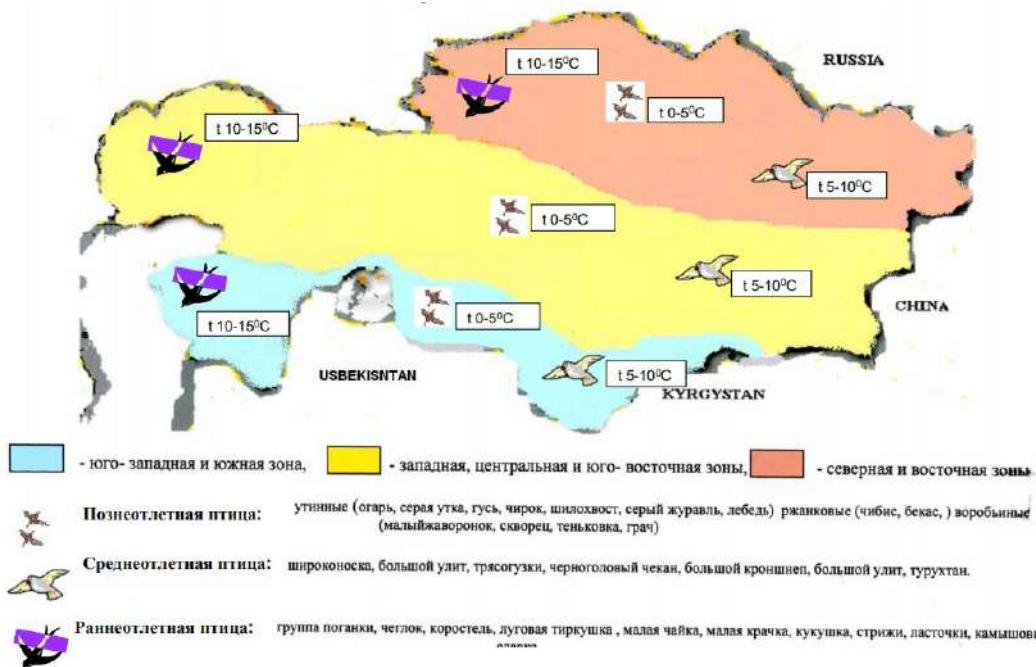
Распространение вирусов гриппа птиц в природе неразрывно связано с миграционными перемещениями диких птиц, являющимися естественными резервуарами вируса гриппа птиц в природе. В работе представлены данные по изучению генетического разнообразия штаммов ВГА/H3N8, выявленных на территории Республики Казахстан в 2018 -2019 гг. среди популяции диких птиц.

Во время сезонных миграций, являющиеся естественным резервуаром вируса гриппа птиц в природе, дикие птицы способны переносить вирус на значительные расстояния.

На территории Казахстана, где сходятся миграционные потоки птиц, зимующих в различных регионах мира – Европе, Африке, на Ближнем Востоке и в Средней Азии, высока вероятность появления реассортантных штаммов между вирусами гриппа человека и животных.

Количество видов птиц в Казахстане достаточно велико, а у каждого вида есть свои специфические особенности, области зимовок, направления пролета, поведение на нем. Поэтому составление полной картины миграций птиц в Казахстане крайне трудно. На рисунке 2 представлена фенология осенней миграции птиц по территории Республики Казахстан (<http://www.fao.org/docs/eims/upload/267122>).

Большинство птиц Казахстана совершают настоящие перелеты, проводя зиму в далеких странах, часто за много тысяч километров от места гнездования. Кроме того, через Казахстан пролетают многие виды птиц, места гнездовий которых находятся севернее нашей республики – в тайге и тундре. На рисунке 3 представлена фенология весенней миграции птиц по территории Республики Казахстан (<http://www.fao.org/docs/eims/upload/267122>).

**Рисунок 2 – Осенняя миграция птиц по территории Республики Казахстан**

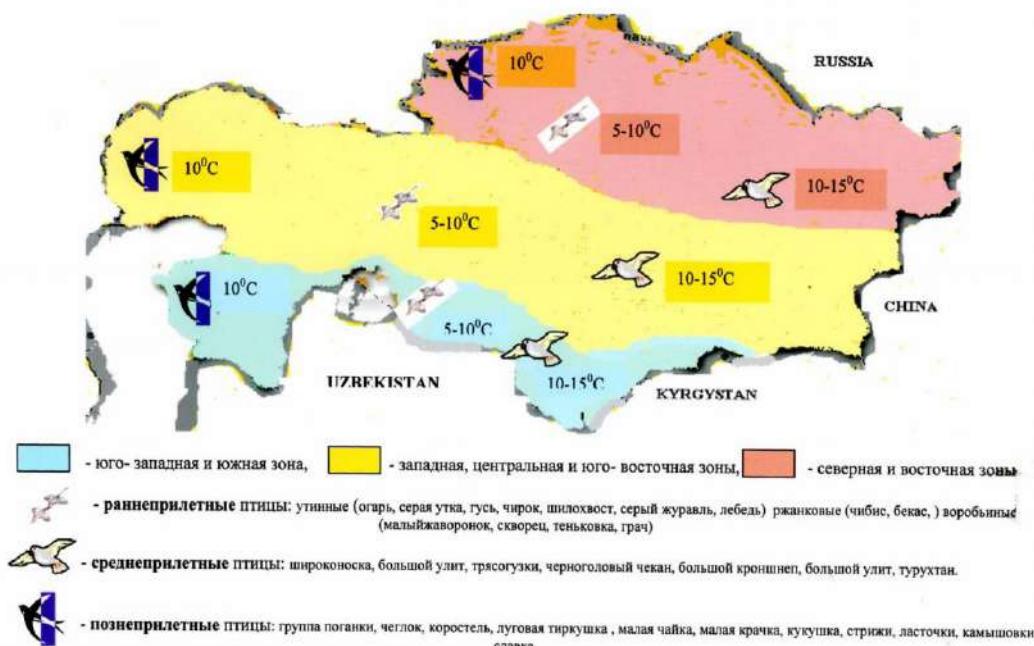


Рисунок 3 – Весенняя миграция птиц по территории Республики Казахстан

Территория Республики Казахстан играет важную географическую роль в распространении вируса гриппа, способствуя его переносу дикими птицами из разных стран.

Вирусы гриппа подтипа Н3, известные как имеющие широкий спектр хозяев от птиц до различных видов млекопитающих, включая людей, свиней, собак и лошадей, быстро развиваются в результате антигенного дрейфа и антигенного сдвига [26, 27, 28, 29, 30, 31].

## Заключение

Полученные данные о зараженности вирусом гриппа А диких птиц на территории Республики Казахстан и данные филогенетического анализа штаммов вируса гриппа, выделенных от птиц на этой территории, могут быть использованы для

прогнозирования эпизоотической ситуации по гриппу птиц.

Одновременная циркуляция азиатской и европейской двух генетических линий ВГА/Н3N8 у диких птиц в одной местности обусловлена занесением их из разных географических мест. Генетические расстояния, выявленные с помощью нуклеотидных последовательностей поверхностных генов ВГА/Н3N8, показывают, что казахстанские штаммы дистанцируются от Азиатских и Европейских штаммов ВГА/Н3N8 и образовывают отдельную ветвь, отличающуюся от прототипных штаммов.

## Конфликт интересов

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

## Литература

- 1 Fouchier R.A., Munster V., Wallensten A., Bestebroer T. M., Herfst S., Simth D., Rimmelzwaan G. F., Olsen B., Osterhaus A. D. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls // J. Virol. – 2005 – Vol.79 – P. 2814–2822.
- 2 Blinov V.M., Kiselev O.I. An analyses of the potential areas of recombination in the hemmagglutinin genes of animal influenza viruses in relation to their adaptation to a new host-man // Vopr. Virusol. – 1993. – Vol.38, No 6. – P. 263-268.
- 3 Boom R., Sol C., Salimans M. Rapid and simple method for purification of nucleic acids // J. Clin Microbiol. – 1990. – Vol. 28. – P. 495-503.
- 4 Flandorfer A., Garcia-Sastre A., Basler C. and Palese P. Chimeric influenza A viruses with a functional influenza B virus neuraminidase or hemagglutinin // J. Virol. – 2003. – Vol.77. – P. 9116-9123.

- 5 Bin Zhou, Matthew E. Donnelly., Derek T. Scholes, Single-Reaction Genomic Amplification Accelerates Sequencing and Vaccine Production for Classical and Swine Origin Human Influenza A Viruses // J. Virol. – 2009 Oct. – Vol. 83(19). – P. 10309-10313.
- 6 Kida H., Ito T., Yasuda J. Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs // J Gen Virol. – 1994. – Vol.74. – P.2183-2188.
- 7 WHO. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza – WHO. 2011.20. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, DIE, 2009
- 8 Lee, C.W. Avian influenza virus C.W. Lee, Y.M. Saif – Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. – 2009. – Vol. 32. – P. 301-310.
- 9 Wu Y., Tefsen B., Shi Y. & Gao G. F. Bat-derived influenza-like viruses H17N10 and H18N11 // Trends Microbiol – 2014 – Vol.22 – P. 183–191.
- 10 Spackman E. Avian influenza virus detection and quantitation by real-time RT-PCR // J. Methods Mol Biol. – 2014. – Vol. 1161. – P. 105-108.
- 11 Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M. & Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses // Curr Top Microbiol Immunol -1992-. Vol.56 – P.152–179
- 12 Fouchier R.A. et al. Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene // J Clin Microbiol. – 2000. – Vol.38. – P. 4096-4101.
- 13 Lupiani B. and Reddy S.M., Lamont S J, H Zhou RNA-seq Analysis Revealed Novel Genes and Signaling Pathway Associated With Disease Resistance to Avian Influenza Virus Infection in Chickens – 2013-03557. 2015.
- 14 Spackman E., Senne D.A., Myers T.J., Bulaga L.L., Garber L.P., Perdue M.L., Lohman K., Daum L.T, Suarez D.L. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes // J Clin Microbiol -2002- Vol.40: . – P.632, 3256–3260.
- 15 Xie Z., Xie L., Zhou C., Liu J., Pang Y., Deng X., Xie Z., Fan Q. Complete genome sequence analysis of an H6N1 avian influenza virus isolated from Guangxi pockmark ducks // J. Virol. – 2012 -Vol.86 – P.13868–13869.
- 16 Webster R., Cox N., Stohr K. WHO Manual 011 Animal Influenza Diagnosis and Surveillance Global Influenza Programmer // World Health Organization, Switzerland – 2010 – P.99.
- 17 Xie Z., Guo J., Xie L., Liu J., Pang Y., Deng X., Xie Z., Fan Q., Luo S. Complete genome sequence of a Novel reassortant Avian Influenza H1N2 virus isolated from a domestic sparrow in 2012 // Genome Announc. -2013- 1(4):e00431-13. 10.1128/genomeA.00431-13. 1128/JVI.02700-12.
- 18 Wright S.M., Kawaoka Y., Sharp G.B. Interspecies transmission and reassortment of influenza Aviruses in pigs and turkeys in United States // Am J Epidemiol. – 1992. – Vol. 136. – P. 448-97.
- 19 Hiromoto Y., Yamazaki Y., Fukushima T. Evolutionary characterization of the six internal genes of H5N1 human influenza A virus // J Gen Virol. – 2000. – Vol.81. – P. 1293-1303.
- 20 Sklyarenko S.L. Research on Important Bird Areas in Kazakhstan and Middle Asia // Almaty, 2016. – 227 p.
- 21 Webster R.G., Yakhno M., Hinshaw V.S., WJ Bean , Murti KG Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks // Virology. – 1978. – Vol. 84. – P. 268-276.
- 22 Бакулин В.А. Грипп птиц. Международная специализированная конгресс выставка // «Ветеринария, зоотехния». – СПб., 2005. Выпуск 1. – 4 с.
- 23 Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А. Разнообразие и распространение вирусов гриппа А среди птиц в восточной Сибири // Экспериментальные исследования в биологии и медицине. – 2015. – 5 (105).
- 24 Шаршов К.А., Ли Синьсинь, Юрлов А.К., Шестопалов А. М. Экологическое разнообразие диких птиц – естественного резервуара вируса гриппа А на юге западной Сибири // Юг России: экология, развитие. – 2018. – Т. 12 (44). – С. 56-66
- 25 Султанкулова К.Т., Акылбаева К.К., Кожабергенов Н.С., Кыдырбаев Ж.К., Орынбаев М.Б. Выявление вируса гриппа А/H5 у диких птиц // Вестник Государственного Университета имени Шакарима города Семей. – 2019. – 2. – С. 296-299.
- 26 Kumar S., Stecher G., and Tamura K MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets // Molecular Biology and Evolution – 2016- Vol.33- P.1870-1874.
- 27 Kamps B.S., Hoffmann C., Preiser W. Influenza Report 2006 / B. S. Kamps, C. Hoffmann, W. Preiser W. – Flying Publisher, 2006.
- 28 Alexander D.J. An overview of the epidemiology of avian influenza // Vaccine – 2007. – Vol. 25(30). – P. 5637-5644.
- 29 Munster V.J., Baas C., Lexmond P., Waldenström J, Wallensten A, Fransson T, Rimmelzwaan GF, Beyer WE, Schutten M, Olsen B, Osterhaus AD, Fouchier RA. Spatial, temporal, and species variation in prevalence of influenza A viruses in wild migratory birds // PLoS. P. – 2007. – Vol. 3(5). – P. e61.
- 30 Prosser D.J., Cui P., Takekawa J.Y., Tang M, Hou Y, Collins BM, Yan B, Hill NJ, Li T, Li Y, Lei F, Guo S, Xing Z, He Y, Zhou Y, Douglas DC, Perry WM, Newman SH. Wild bird migration across the Qinghai-Tibetan plateau: a transmission route for highly pathogenic H5N1 // PLoS. One. – 2011. – Vol. 6. – P. e17622.
- 31 Webster R.G. The importance of animal influenza for human disease // J. Vac. – 2002. – Vol. 20, No. 2. – P.16-20.

## References

- 1 Fouchier, R.A., Munster, V., Wallensten, A., Bestebroer, T.M., Herfst, S., Simth D., Rimmelzwaan, G.F., Olsen, B., Osterhaus, A.D. “Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls”, J. Virol. (2005): 79:2814–2822.

- 2 Blinov, V.M., Kiselev, O.I. "An analyses of the potential areas of recombination in the hemmaglutinin genes of animal influenza viruses in relation to their adaptation to a new host-man" *Vopr. Virusol.* Vol.38, No 6 (1993): 263-268.
- 3 Boom, R., Sol, C., Salimans, M. "Rapid and simple method for purification of nucleic acids" *J. Clin Microbiol.* Vol. 28 (1990): 495-503.
- 4 Flandorfer, A., Garcia-Sastre, A., Basler, C. and Palese P. "Chimeric influenza A viruses with a functional influenza B virus neuraminidase or hemagglutinin" *J. Virol.* Vol.77 (2003): 9116-9123.
- 5 Bin Zhou, Matthew, E., Donnelly., Derek T. Scholes, "Single-Reaction Genomic Amplification Accelerates Sequencing and Vaccine Production for Classical and Swine Origin Human Influenza A Viruses" *J. Virol.* Vol. 83(19) (2009 Oct): 10309-10313.
- 6 Kida, H., Ito, T., Yasuda, J. "Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs" *J Gen Virol.* Vol.74 (1994): 2183-2188.
- 7 WHO. "Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza" WHO. 2011.20. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals DIE, (2009)
- 8 Lee, C.W. "Avian influenza virus C.W. Lee, Y.M. Saif" *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* Vol. 32 (2009): 301-310.
- 9 Wu, Y., Tefsén, B., Shi, Y. & Gao G. F. "Bat-derived influenza-like viruses H17N10 and H18N1" *Trends Microbiol* 22, (2014):183-191.
- 10 Spackman, E. "Avian influenza virus detection and quantitation by real-time RT-PCR" *J. Methods Mol Biol.* Vol. 1161 (2014): 105-108.
- 11 Webster, R.G., Bean, W. J., Gorman, O. T., Chambers, T. M. & Kawaoka Y. "Evolution and ecology of influenza A viruses" *Curr Top Microbiol Immunol* 56 (1992): 152-179.
- 12 Fouchier, R.A. "Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene" *J Clin Microbiol.* Vol.38 (2000): 4096-4101.
- 13 Lupiani, B. and Reddy, S.M. Lamont S J, H Zhou "RNA-seq Analysis Revealed Novel Genes and Signaling Pathway Associated With Disease Resistance to Avian Influenza Virus Infection in Chickens" (2013): 03557. 2015.
- 14 Spackman, E, Senne, D.A., Myers, TJ, Bulaga, L.L., Garber, L.P., Perdue, M.L., 629 Lohman, K., Daum, L.T., Suarez D.L. "Development of a real-time 630 reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the 631 avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes" *J Clin Microbiol* 40 (2002): 632 3256-3260.
- 15 Xie, Z., Xie, L., Zhou, C., Liu, J., Pang, Y., Deng, X., Xie, Z., Fan Q. "Complete genome sequence analysis of an H6N1 avian influenza virus isolated from Guangxi pockmark ducks". *J. Virol.* 86 (2012)::13868-13869.
- 16 WHO Manual 011 "Animal Influenza Diagnosis and Surveillance R.Webster, N. Cox, K. Stohr – Global Influenza Programmer" World Health Organization, Switzerland. (2010): 99.
- 17 Xie, Z., Guo, J., Xie, L., Liu, J., Pang, Y., Deng, X., Xie, Z., Fan, Q., Luo S. 2013 "Complete genome sequence of a Novel reassortant Avian Influenza H1N2 virus isolated from a domestic sparrow in 2012" *J. Genome Announc.* 1(4):e00431-13. 10.1128/genomeA.00431-13. 1128/JVI.02700-12.
- 18 Wright, S.M., Kawaoka, Y., Sharp G.B. e.a. "Interspecies transmission and reassortment of influenza Aviruses in pigs and turkeys in United States" *Am J Epidemiol.* Vol. 136 (1992): – P. 448-97.
- 19 Hiromoto, Y., Yamazaki, Y., Fukushima T. e.a."Evolutionary characterization of the six internal genes of H5N1 human influenza A virus" *J Gen Virol.* Vol.81 (2000): 1293-1303.
- 20 Sklyarenko, S. L. "Research on Important Bird Areas in Kazakhstan and Middle Asia" Almaty, (2016): – 227.
- 21 Webste, R.G., Yakhno, M., Hinshaw, V.S., Bean, W.J., Murti K.G.. "Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks" *Virology* Vol. 84 (1978): 268-276.
- 22 Bakulin, V.A. Flu bird. "Mazhdunarodnaya spetsializirovannaya kongress vystavka [International Specialized Congress Exhibition St. Petersburg]" Web Sources: "Veterinary Medicine, Livestock." Issue 1 (2005): 4.
- 23 Danchinova, G. A., Lyapunov, A.V., Khasnatdinov, M. A. "Raznoobraziy i rasprostraneniye virusov grippa A sredi ptits v vostochnoy Sibiri [Diversity and distribution of influenza a viruses among birds in Eastern Siberia]" Experimental research in biology and medicine. No. 5 (2015): 105.
- 24 Sharshov, K. A., Li Xin Xin, Yurlov, A. K., Shestopalov A. M. "Ekologicheskoye raznoobraziyе dikikh ptits – yestestvennogo rezervuara virusa grippa A na yuge zapadnoy Sibiri [Ecological diversity of wild birds – a natural reservoir of influenza a virus in the South of Western Siberia]" Journal Articles: "South of Russia: ecology, development", Vol. 12, No. 44 (2016): 56-66.
- 25 Sultankulova, K.T., Akylbayeva, K.K., Kozhabergenov, N.S., Kydyrbaev, Zh.K., Orynbayev M.B. "Vyyavleniye virusa grippa A/N5 u dikikh ptits [Detection of the A / H5 influenza virus in wild birds]" Journal Articles: Bulletin of Shakarim State University of Semey. 2 (2019) 296-299.
- 26 Kumar, S., Stecher, G., and Tamura K. "Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets" *Molecular Biology and Evolution* 33 MEGA7 (2016): 1870-1874.
- 27 Kamps, B.S., Hoffmann, C., Preiser, B.S., Kamps, C., Hoffmann W., Preiser W. "Influenza Report" Flying Publisher, (2006).
- 28 Alexander, D.J. "An overview of the epidemiology of avian influenza" *Vaccine* Vol. 25,30 (2007): 5637-5644.
- 29 Munster, V.J., Baas, C., Lexmond, P., Waldenström, J., Wallensten, A., Fransson, T., Rimmelzwaan, G.F., Beyer, W.E., Schutten, M., Olsen, B., Osterhaus, A.D., Fouchier R.A. "Spatial, temporal, and species variation in prevalence of influenza A viruses in wild migratory birds" *PLoS.* Vol 3(5) (2007): 61.
- 30 Prosser, D.J., Cui, P., Takekawa, J.Y., Tang M., Hou Y., Collins B.M., Yan, B., Hill N.J., Li T., Li Y., Lei F., Guo S., Xing Z., He Y., Zhou Y., Douglas D.C., Perry W.M., Newman S.H. "Wild bird migration across the Qinghai-Tibetan plateau: a transmission route for highly pathogenic H5N1" *PLoS. One.* Vol. 6 (2011): e17622.
- 31 Webster, R.G. "The importance of animal influenza for human disease" *J. Vac* Vol. 20, No. 2 (2002): 16-20.



4-бөлім  
**ЗООЛОГИЯ**

---

Section 4  
**ZOOLOGY**

---

Раздел 4  
**ЗООЛОГИЯ**

**Р.У. Саимова<sup>1\*</sup>, А.Г. Резанов<sup>2</sup>, Б.К. Есимов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Абай атындағы Қазақ ұлттық педагогикалық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>Москва қалалық педагогикалық университеті, Ресей, Мәскеу қ.

\*e-mail: saimova\_rita@mail.ru

## **ОҢТҮСТІК-ШЫҒЫС ҚАЗАҚСТАН АГРОЦЕНОЗДАРЫНДАҒЫ БАРЫЛДАУЫҚ ҚОҢЫЗДАРДЫҢ (COLEOPTERA, CARABIDAE) ТАКСОНДЫҚ ҚҰРАМЫ МЕН ҚОРЕКТІК БАЙЛАНЫСЫ**

Мақалада Оңтүстік-Шығыс Қазақстанның агроценоздарында 2019-2020 жылдары жүргізілген далалық, ғылыми зерттеу жұмыстарының нәтижелері беріліп отыр. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде қаттықанаттылар отрядының барылдауық қоңыздар түкымдасының 9 туысына жататын 27 түрі анықталды. 670 топырақ қақпанынан 1012 дана барылдауық қоңыз есепке алынды. Олардың ішінде басым кездескен түрлер: Harpalus smaragdinus, Harpalus (Pseudocephonus) griseus Panzer, 1796, Harpalus (Pseudocephonus) rufipes DeGeer, 1774, Poecilus punctulatus Schaller, 1783, Poecilus sericeus sericeus Fischer von Waldheim, 1824, Poecilus versicolor Sturm, 1824, Amara aenea DeGeer, 1774, Calathus (Neocalathus) ambiguus ambiguus Paykull, 1790. Агроценоздар фаунасының негізін полигонтиқ мезофильді барылдауық қоңыздар құрайды. Суарылатын егістіктерде барылдауық қоңыздар саны жоғары және олар гигрофилдер, мезофилдер, эврибионттардан тұрады және бұл жерлерде қоңыздардың көпшілігі зоофагтар, сонымен қатар аралас қоректі (зоофитофагтар) және өсімдіккоректі (фитофагтар) түрлер де кездеседі. Барылдауық қоңыздар егістіктердегі, дала ландшафттарындағы жер қоңыздарының ен көп тобы. Сондықтан барылдауық қоңыздар ішінде аралас қоректі түрлер тіршілік ортасына, ауа температурасына байланысты кездеседі. Зерттеу аймағындағы түрлі егістіктердегі барылдауық қоңыздар кешені, барлық егістіктердегі барылдауық қоңыздар түрлерімен сәйкес. Вегетациялық кезеңде қоңыздардың қоректік құрылышы өзгереді: алғашқыда жыртқыш қоңыздар, сонында араласқоректі қоңыздар басым болады.

**Түйін сөздер:** барылдауық қоңыздар, агроценоз, Оңтүстік-Шығыс Қазақстан, зоофаг, зоофитофаг, фитофаг.

R.U. Saimova<sup>1\*</sup>, A.G. Rezanov<sup>2</sup>, B.K. Esimov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Abai Kazakh National Pedagogical University, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>Moscow City Pedagogical University, Russia, Moscow

\*e-mail: saimova\_rita@mail.ru

### **Carabidae (Coleoptera) in agroecosystem of South-Eastern Kazakhstan**

The article presents the results of field research in 2019-2020 in agroecosystems of South-East Kazakhstan. As a result of the research, 27 species of ground beetles from 9 genera were identified. 1012 beetles from 670 soil traps were registered. The most common of them are types: Harpalus smaragdinus, Harpalus (Pseudocephonus) griseus Panzer, 1796, Harpalus (Pseudocephonus) rufipes DeGeer, 1774, Poecilus punctulatus Schaller, 1783, Poecilus sericeus sericeus Fischer von Waldheim, 1824, Poecilus versicolor Sturm, 1824, Amara aenea DeGeer, 1774, Calathus (Neocalathus) ambiguus ambiguus Paykull, 1790. The basis of the fauna of agroecosystems is made up of polytopic mesophilic beetles. Irrigated fields are rich in beetles and consist of hygrophilic, mesophiles, eurybionts, while most of the beetles are zoophages, as well as mixed (zoophytophagous) and herbivorous (phytophagous) species. Carabidae is the largest group of land beetles in fields and steppe landscapes. Therefore, beetles with a mixed diet are found depending on the environment and air temperature. The complex of beetles in different fields in the study area corresponds to the species of beetles in all fields. During the growing season, the dietary composition of beetles changes: first, predatory beetles prevail, and finally, beetles with a mixed diet.

**Key words:** Carabidae, agroecosystem, South-East Kazakhstan, zoophages, zoophytophages, phytophages.

Р.У. Саимова<sup>1\*</sup>, А.Г. Резанов<sup>2</sup>, Б.К. Есимов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный педагогический университет имени Абая, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>Московский городской педагогический университет, Россия, г. Москва

\*e-mail: saimova\_rita@mail.ru

## Жужелицы (Coleoptera, Carabidae) в агроценозах Юго-Восточного Казахстана

В статье приводятся результаты полевых исследований в 2019-2020 гг. в агроценозах Юго-Восточного Казахстана. В результате исследований выявлено 27 видов жужелиц из 9 родов. Зарегистрировано 1012 жуков из 670 почвенных ловушек. Самые распространенные из них – виды: *Harpalus smaragdinus*, *Harpalus (Psedoophonus) griseus* Panzer, 1796, *Harpalus (Psedoophonus) rufipes* DeGeer, 1774, *Poecilus punctulatus* Schaller, 1783, *Poecilus sericeus sericeus* Fischer von Waldheim, 1824, *Poecilus versicolor* Sturm, 1824, *Amara aenea* DeGeer, 1774, *Calathus (Neocalathus) ambiguus* *ambiguus* Paykull, 1790. Основу фауны агроценозов составляют политопные мезофильные жуки. Орошаемые поля богаты жуками и состоят из гигрофилов, мезофилов, эврибионтов, при этом большинство жуков являются зоофагами, а также смешанными (зоофитофаги) и растительноядными (фитофагами) видами. Жужелицы – самая многочисленная группа наземных жуков на полях и степных ландшафтах. Поэтому жуки со смешанным питанием встречаются в зависимости от окружающей среды и температуры воздуха. Комплекс жуков на разных полях в районе исследований соответствует видам жуков на всех полях. В течение вегетационного периода меняется состав питания жуков: сначала преобладают хищные жуки, а наконец, жуки со смешанным питанием.

**Ключевые слова:** жужелицы, агроценоз, Юго-Восточный Казахстан, зоофаги, зоофитофаги, фитофаги.

### Kіріспе

Барылдауық қоңыздар саны жағынан да, түр құрамы жағынан да топырақта кең таралған. Әлемдік фаунада 25000 түрі белгілі. Тұқымдас түрлерінің ерекше экологиялық бейімделгіштігі бұл қоңыздардың кең тараулына себеп болып отыр [1]. Барылдауық қоңыздардың басым көпшілігі моновольтинді түрлерге жатады, яғни жылына бір рет үрпақ береді. Барылдауық қоңыздардың басым көпшілігі – көпкоректі жыртқыштар, бұл олардың практикалық маңыздылығын анықтайды. Барылдауық қоңыздар – далалық агроценоздардың маңызды серіктесі, олар зиянды насекомдардың санын азайтып, зиянкестер санының көбеюін тоқтата алады. Қазіргі уақытқа дейін әлемде барылдауық қоңыздардың агроценоздарды қоныстауы жайлар ақпараттар едәуір жиналды [2-12]. Сонымен қатар, бұл тұқымдас құрамында өсімдіккоректі түрлер де кездеседі, олар ауылшаруашылығына көп зиян келтіреді, оларға *Harpalus*, *Poecilus*, *Zabrus* туыс өкілдері жатады [13].

Біздің зерттеулерімізге дейін арнайы агроценоздардағы барылдауық қоңыздар зерттелмеген.

Зерттеу мақсаты – Барылдауық қоңыздардың агроценоздардағы түр құрамын анықтау, олардың

тіршілік айналымы, маусымдық белсенділігін және қоректік байланысын зерттеу.

### Зерттеу әдістері

Мақаланы жазуға себеп болып отырған авторлардың 2019-2020 жылдары жүргізген зерттеу жұмыстарының нәтижелері. Зерттеу жұмыстары Алматы облысы Қарасай және Талғар аудандарында агроценоздарда (бидай, қара бидай, арпа) жүргізілді. Материалдарды жинау барысында энтомологиядағы насекомдарды ұстауға ортақ әдістер пайдаланылды: қоңыздардың тығылған жерінен және топырак бетінен қолмен, энтомологиялық сұзгімен ору арқылы ұсталды және түнде жасанды жарық көзінен де жиналды [14, 15, 16]. Сонымен қатар барылдауық қоңыздарды ұстау үшін Барбер топырақ қақпаны қолданылды [17]. 0,5 л пластик стакан, оның 1/3 бөлігіне 4% формалин құйылған. Зерттелген егістік аумағына 10 метр арақашықтықта 10 қақпаннан қойылды, топырақ қақпандары мамыр соңынан қазаның ортасына дейін түрді. Қақпаннан қоңыздарды әрбір 7-10 күнде жинап отырдық (1-сурет).

Зерттеу нәтижесінде жиналған материалдар зертханалық жағдайда микроскоп көмегімен анықтағыштармен аныкталды [18-25].



1-сурет – Топырақ қақпанына түскен барылдауық қоныздар

### Зерттеу нәтижелері және талқылау

Төменде зерттеу нәтижесінде табылған түрлердің аннотациялық тізімі беріліп отыр. Зерттеу нәтижесінде 670 қақпаннан 1012 дана барылдауық қоныз есепке алынды, олар 9 туысқа жататын 27 түр (1-кесте). Олардың ішінде басым кездескен түрлер: *Harpalus smaragdinus*, *Harpalus (Pseudoophonus) griseus* Panzer, 1796, *Harpalus (Pseudoophonus) rufipes* DeGeer, 1774, *Poecilus punctulatus* Schaller, 1783, *Poecilus sericeus* Fischer von Waldheim, 1824, *Poecilus versicolor* Sturm, 1824, *Amara aenea* DeGeer, 1774, *Calathus (Neocalathus) ambiguus* Paykull, 1790.

1-кесте нәтижесі бойынша Оңтүстік-Шығыс Қазақстан агроценоздарындағы барылдауық қоныздардың ішінде түр құрамы жағынан басым туыстар *Harpalus* (10 түр, 38%), *Amara* (6 түр, 23%), *Poecilus* (4 түр, 15%), қалған 6 туыстан 1-2 түрден ғана белгілі болды.

*Harpalus smaragdinus* (Duftschmid, 1812). Қебіне өсімдіктермен қоректенеді, астық тұқымдастарға зиян келтіреді, дәннің пісіп жетілу сатысында кеміріп қоректенеді [5]. Аラласқоректі. Сонымен қатар, аз қозғалатын ұсақ немесе орташа насекомдардың жұмыртқалары, дернәсілдері және құышшактарымен қоректенеді [18, 19].

*Harpalus affinis* Schrank, 1781. Егістіктер мен шалғындарда кездеседі. Геохортобионт. Транспалеарктикалық түр. Палеарктикада таулы жерлерден басқа барлық жерде кездеседі. Қоныздар маусымнан тамыз бойы кездеседі. Аラласқоректі. Қебіне өсімдіктермен қоректенеді. Барлық жерде әдеттегі түр [2, 12].

*Harpalus anxius* Duftschmid, 1812. Стенотермді, салыстырмалы жылу сүйгіш ( $25^{\circ}\text{C}$ -тан жоғары) түр. Араласқоректі. Егістіктер мен шалғындарда кездеседі.

*Harpalus brevicornis* Germar, 1824. Қазақстандық әдеттегі даала түрі, егістіктер мен шалғындарда кездеседі. Араласқоректі.

*Harpalus distinguendus* *distinguendus* Duftschmid, 1812. Политопты мезофил. Геохортобионт. Барлық жерде әдеттегі түр. Егістіктер мен шалғындарда кездеседі. Эвритеңді түр (төменгі және жоғарғы температура ларда) белсенді тіршілік етеді [3, 4].

*Harpalus froelichii* Sturm, 1818. Геохортобионт. Егістіктер мен шалғындарда кездеседі.

*Harpalus* (s. str.) *serripes* *serripes* Quensel, 1806. Геохортобионт. Егістіктер мен шалғындарда кездеседі.

*Harpalus smaragdinus* Duftschmid, 1812. Геохортобионт. Араласқоректі. Егістіктер мен шалғындарда кездеседі.

*Harpalus (Pseudoophonus) griseus* Panzer, 1796. Геохортобионт. Араласқоректі. Егістіктер мен шалғындарда кездеседі.

*Harpalus (Pseudoophonus) rufipes* DeGeer, 1774. Поливариантты түр, ашық биотоптарда, егістіктерде кездеседі. Геохортобионт. Араласқоректі. Мамыр соңынан тамыз соңына дейін белсенді. Қебею кезеңі шілденің екінші жартысынан тамыздың ортасына дейін созылады. Жаппай қебеюі шілдеде өтеді [5].

*Poecilus* (s. str.) *punctulatus* Schaller, 1783. Геохортобионт. Жыртқыш. Егістіктер мен шалғындарда кездеседі.

## 1-кесте – Оңтүстік-Шығыс Қазақстан агроценоздарындағы барылдауық қоныздардың түр құрамы

Түсіс	Түр	Саны	%
<i>Amara</i>	<i>A. aenea</i> DeGeer, 1774	6	22
	<i>A. eurynota</i> Panzer, 1796		
	<i>A. familiaris</i> Duftschmid, 1812		
	<i>A. similata</i> Gyllenhal, 1810		
	<i>A. (Bradytus) apricaria</i> Paykull, 1790		
	<i>A. (Bradytus) consularis</i> Duftschmid, 1812		
<i>Anisodactylus</i>	<i>A. signatus</i> Panzer, 1796	1	4
<i>Calathus</i>	<i>C. (Neocalathus) ambiguus ambiguus</i> Paykull, 1790	2	7
	<i>C. (Neocalathus) malanocephalus melanocephalus</i> Linne, 1758		
<i>Clivina</i>	<i>C. collaris</i> Herbst, 1784	1	4
<i>Dolichus</i>	<i>D. halensis</i> Schaller, 1783	1	4
<i>Microlestes</i>	<i>M. minutulus</i> Goeze, 1777	1	4
<i>Harpalus</i>	<i>H. (Psedoophonus) calceatus</i> Duftschmid, 1812	10	37
	<i>H. (Psedoophonus) rufipes</i> DeGeer, 1774		
	<i>H. serripes serripes</i> Quensel, 1806		
	<i>H. distinguendus distinguendus</i> Duftschmid, 1812		
	<i>H. froelichii</i> Sturm, 1818		
	<i>H. affinis</i> Schrank, 1781		
	<i>H. anxius</i> Duftschmid, 1812		
	<i>H. brevicornis</i> Germar, 1824		
	<i>H. (Psedoophonus) griseus</i> Panzer, 1796		
	<i>H. smaragdinus</i> Duftschmid, 1812		
<i>Poecilus</i>	<i>P. cupreus cupreus</i> Linne, 1758	4	14
	<i>P. punctulatus</i> Schaller, 1783		
	<i>P. sericeus sericeus</i> Fischer von Waldheim, 1824		
	<i>P. versicolor</i> Sturm, 1824		
<i>Zabrus</i>	<i>Z. tenebrioides</i> Goeze, 1777	1	4
Барлығы:		27	100

*Poecilus* (s. str.) *sericeus sericeus* Fischer von Waldheim, 1824. Көптеген насекомдардың, құрлық ұлуларының және басқа да омыртқасыздардың санын табиғи түрде реттейді, оның ішінде қауіпті зиянкестер де бар. Стенотермді түр, салыстырмалы сұрық сүйгіш (17-23°C) түр [3].

*Poecilus versicolor* (Sturm, 1824). Агроландшафттарда басым кездесетін түрлердің бірі болып табылады. Барлық ландшафттарда, негізінде егістіктерде және онымен шектес аймақтарда да кездеседі. Дернәсілдері егістікте де, шектес аймақтарында да кездесті. Бұл түр өкілдері механикалық құрамы жөніл топырақтарға бейім (Гусева, Коваль, 2008). Белгілі швед карабидо-

логы Карл Линдроттың (Lindroth, 1985) айтуынша бұл түр *P. cupreus*-ке қарағанда ксерофилді болып келеді. Арасында қоректі, түрлі мәдени өсімдіктермен қоректеніп, зиян келтіреді. Көтөмде құрғак ауа райында денесіндегі су тепе-тәндігін қалпына келтіру үшін, өсімдіктердің шырынды өскіндерін кеміреді [4, 19]. Эврибионт.

*Poecilus cupreus* (Linnaeus, 1758). Бұл түрдің жалпы тіршілігі *Poecilus versicolor* түріне ұқсас, жиі бірге кездеседі. Айырмашылығы үстінгі қанатындағы иық тісшесінің анық еместігімен ерекшеленеді [5]. *Poecilus cupreus* бір-бірінен едәуір алшақ орналасқан әртүрлі агроценоздарда басым кездесетін кең таралған түр. Ол қоректік байланысы кең көпқоректі жыртқыш болып та-

былады. Бұл колорад қонызының *Leptinotarsa decemlineata* Say ең маңызды энтомофагы және Оңтүстік-Шығыс Қазақстан агроландшафттында ең жиі кездесетін тұр. Агроценоздарда бұл барылдауық қоныздардың саны егістіктің шеткі жағына қарағанда ортанғы бөлігінде басымырақ кездеседі, ейткені олардың қоректенуі және көбеюі үшін өте қолайлы болып табылады [7].

*Zabrus tenebrioides* Goeze, 1777 = *Zabrus gibbus* Fabr. – кәдімгі астық барылдауық қонызы. Кең таралған тұр, құндіз тас астында тығылады, түнде астық дәнімен (бидай, қара бидай, арпа) қоректенеді. Бұлар ылғалдылықтың бейім болғандықтан, суару кезінде саны көп кездеседі. Қоныздар көбіне маусым соңында шығады, дернәсілдері қытайды және мамыр соңында топырақта күйршаққа айналады. Қоныздар егіске дәннің толысқан кезінде қоныстанып, түнде астықтың жұмсақ дәнімен қоректенеді. Дәнді дақылдарды жинап болғаннан кейін 28-34°C құргақшылықта, қоныздар өздеріне қолайлы жерлерге тығылады. Ол топырақтың ылғалдылығына байланысты болады. Тамыздың екінші жартысынан қырқүйек-қазанда аналығы жұмыртқаларын топыраққа 5-15 см тереңдікке салады. Егер аналық құздік дақыл дәнімен жақсы қоректенсе 120-270 жұмыртқа, ал қоректенбесе 30 жұмыртқа салады. Эмбриональдық дамуы тәуліктік температура 23-25°C болса, 9-12 күнге, ал 12-14°C болса, 20-25 күнге созылады. Дернәсілдері түнде топырақ бетіне шығып, астық дақылдардың жапырақтарымен қоректенеді. Құндіз жапырақтардың бір бөліктерін індеріне тартады. Дернәсілдері құздік егіске зиян келтіреді. 0-5°C салқындық түскенде, дернәсілдері қоректенуін тоқтатып, топыраққа 30-40 см тереңдікке қыстауга кетеді [4, 12].

## Корытынды

Оңтүстік-Шығыс Қазақстанның агроценоздарында 2019-2020 жылдары жүргізілген далалық ғылыми-зерттеу жұмыстарының нәтижесінде қаттықанаттылар отрядының барылдауық қоныздар тұқымдасының 9 тузына жататын 27 түрі анықталды. 670 топырақ қақпанынан 1012 дана барылдауық қоныз есепке алынды. Олардың ішінде басым кездескен тұрлер: *Harpalus smaragdinus*, *Harpalus (Pseudoophonus) griseus* Panzer, 1796, *Harpalus (Pseudoophonus) rufipes* DeGeer, 1774, *Poecilus punctulatus* Schaller, 1783, *Poecilus sericeus sericeus* Fischer von Waldheim, 1824, *Poecilus versicolor* Sturm, 1824, *Amara aenea* DeGeer, 1774, *Calathus (Neocalathus) ambiguus ambiguus* Paykull, 1790. Агроценодар фаунасының негізін политоптық мезофильді барылдауық қоныздар құрайды. Суарылатын егістіктерде барылдауық қоныздар саны жоғары және олар гигрофилдер, мезофилдер, эврибионттардан тұрады және бұл жерлерде қоныздардың көпшілігі зоофагтар.

Жыртқыштар (зоофаг) мен өсімдіккоректі (фитофаг) топтардың арасында қоректенудің аралас түрі бар. Бұл егістіктердегі, дала ландшафттарындағы жер қоныздарының ең көп тобы. Сондықтан барылдауық қоныздар ішінде аралас қоректі тұрлер тіршілік ортасына, ауа температурасына байланысты кездеседі.

Зерттеу аймагындағы түрлі егістіктердегі барылдауық қоныздар кешені, барлық егістіктердегі барылдауық қоныздар тұрлерімен сәйкес. Вегетациялық кезеңде қоныздардың қоректік құрылышы өзгереді: алғашқыда жыртқыш қоныздар, соңында араласқоректі қоныздар басым болады.

## Әдебиеттер

- 1 Крыжановский О.Л. Жуки подотряда Adephaga (семейства Rhysodidae, Trachypachidae, Carabidae) // Фауна СССР. Жесткокрылые, т. 1, вып. 2. Л., изд-во «Наука», 1983. 341 с.
- 2 Суходольская Р.А., Шагивалеева Г.Д. Некоторые аспекты экологии полевых видов жужелиц // Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития: Сборник материалов 6 Всероссийской научно-практической конференции. – Киров, 2008. – С. 133-135.
- 3 Пучков А. В., Гнатуш В. И. Жужелицы (Carabidae, Coleoptera) на пшеничных полях Николаевской области // Зоологический журнал. – М., 1981. – 60, № 5. – С. 783-786.
- 4 Пучков А.В., Пластун И.Н. Личинки жужелиц (Carabidae, Coleoptera) пшеничного поля юга Украины // Экология и таксономия насекомых Украины: Сборник научных трудов. – Киев; Одесса, 1989. – 3. – С. 37-42.
- 5 Сумароков А.М. Жужелицы (Coleoptera, Carabidae) посевов озимой пшеницы северной части степной зоны Украины // Известия Харьковского энтомологического общества. – 2001(2002). – 9, вып. 1-2. – С. 216-233.
- 6 Bukejs A. Fauna of ground-beetles (Coleoptera, Carabidae) in sandy agroecosystem of Stropi (Daugavpils distr., Latvia). Acta Biologica Universitatis Daugavpiliensis, 2005: 5(1): 23-26.
- 7 Sunderland, K.D. Invertebrate pest control by carabids. The agroecology of carabid beetles. Andover: Intercept, 2002. – S. 165-214.

- 8 Комарова О.П., Комаров Е.В. Оптимизация комплексов полезной энтомофауны в орошаемых агроландшафтах волго-донского междуречья // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 39-44.
- 9 Душенков В.М. Структура населения жужелиц пшеничного поля // Биоценоз пшеничного поля. – М.: Наука, 1986. – С. 102-107.
- 10 Душенков В.М. Сезонная активность жужелиц в агроценозах // Фауна и экология беспозвоночных животных. – М., 1984. – С. 69-76.
- 11 Козырев А.В., Козьминых В.О. Сравнительный состав полевых комплексов жужелиц (Coleoptera, Carabidae) в агроценозах западных и восточных склонов Среднего Урала // 80 лет фармацевтическому образованию и науке на Урале: итоги и перспективы. – Пермь, 1998. – С. 173-175.
- 12 Хотько Э.И., Чумаков Л.С., Селявко Т.М. Функциональная структура населения жужелиц как показатель степени антропогенной нагрузки на экосистемы // Успехи энтомологии в СССР: экология и фаунистика, небольшие отряды насекомых. – СПб., 1993. – С. 72-74.
- 13 Шарова И.Х. Жизненные формы жужелиц (Coleoptera, Carabidae). – М.: Наука, 1981. – 360 с.
- 14 Палий В.Ф. Методика изучения фауны и фенологии насекомых. – Воронеж, 1970. – С. 1-192.
- 15 Фасулати К.К. Полевое изучение наземных беспозвоночных // ВШ. – М. 1971. – 424 с.
- 16 Методы изучения фауны и экологии жесткокрылых на примере жужелиц (Coleoptera, Carabidae). – Иркутск: ИГУ, 1982. – 32 с.
- 17 Barber H. Traps for cave-inhabiting insects // J. Elisha Mitchell Sci. Soc, 1931. – Bd 46. – S. 259-266.
- 18 Жеребцов А.К. Определитель жужелиц (Coleoptera, Carabidae) Республики Татарстан. – Казань, 2000. – С. 47. – 74 с.
- 19 Крыжановский О.Л. Carabidae – Жужелицы. Определитель насекомых европейской части СССР. – М.-Л.: Наука, 1965. – Т. 2. – 29-77.
- 20 Хотько Э. И. Определитель жужелиц. – М.: Наука и техника, 1978. – 88 с.
- 21 Кабак И.И., Колов С.В. Материалы к распространению некоторых видов жужелиц в Центральном и Юго-Восточном Казахстане // Евроазиатский энтомологический журнал. 2010. №9 (1). – С. 29-32.
- 22 Kryzhanovskij O.L., Belousov I.A., Kabak I.I., Kataev B.M., Makarov K.V., Shilenkov V.G. A checklist of the ground-beetles of Russia and adjacent lands (Insecta, Coleoptera, Carabidae). Series faunistica, Pensoft, Sofia-Moscow, 1995, 3: 1-271.
- 23 Kopecky T. Subtribe Tachyina pp. 273-280 – In: I. Lobl & A. Smetana (editors): Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol. 1: Archostemata – Myxophaga – Adephaga. Stenstrup: Apollo Books, 2003. – 819 p.
- 24 Moravec P., Ueno S.-I., Belousov I. Trechini, pp. 288-346. – In Lobl & A. Smetana editors): Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol. 1: Archostemata – Myxophaga – Adephaga. Stenstrup: Apollo Books, 2003. – 819 p.
- 25 Bousquet Y. Perigonini, pp. 448-449. In: I. Lobl & A. Smetana (editors): Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol. 1: Archostemata – Myxophaga – Adephaga. Stenstrup: Apollo Books, 2003. – 819 p.

#### References

- 1 Kryzhanovsky O. L. Beetles of the suborder Adephaga (families Rhysodidae, Trachypachidae, Carabidae) // Fauna of the USSR. Coleoptera, vol. 1, no. 2. L., Publishing House "Science", 1983. 341 p.
- 2 Sukhodolskaya R.A., Shagivaleeva G.D. Some aspects of ecology of field species of ground beetles // Problems of regional ecology in conditions of sustainable development: Collection of materials of the 6th All-Russian scientific and practical conference. – Kirov, 2008. – S. 133-135.
- 3 Puchkov A. V., Gnatush V. I. Ground beetles (Carabidae, Coleoptera) in wheat fields of the Nikolaev region // Zoological journal. – M., 1981. – 60, No. 5. – S. 783-786.
- 4 Puchkov A.V., Plastun I.N. Larvae of ground beetles (Carabidae, Coleoptera) of a wheat field in the south of Ukraine // Ecology and taxonomy of insects of Ukraine: Collection of scientific papers. – Kiev; Odessa, 1989. – 3. – S. 37-42.
- 5 Sumarokov A.M. Ground beetles (Coleoptera, Carabidae) of winter wheat crops in the northern part of the steppe zone of Ukraine // News of the Kharkov Entomological Society. – 2001 (2002). – 9, no. 1-2. – S. 216-233.
- 6 Bukejs A. Fauna of ground-beetles (Coleoptera, Carabidae) in sandy agroecosystem of Stropi (Daugavpils distr., Latvia). Acta Biologica Universitatis Daugavpiliensis, 2005: 5(1): 23-26.
- 7 Sunderland, K.D. Invertebrate pest control by carabids. The agroecology of carabid beetles. Andover: Intercept, 2002. – S. 165-214.
- 8 Komarova OP, Komarov E.V. Optimization of complexes of useful entomofauna in irrigated agrolandscapes of the Volga-Don interfluvium // Modern problems of science and education. – 2016. – No. 6. – P. 39-44.
- 9 Dushenkov V.M. Population structure of ground beetles in a wheat field // Wheat field biocenosis. – M.: Nauka, 1986. – S. 102-107.
- 10 Dushenkov V.M. Seasonal activity of ground beetles in agroecosystems // Fauna and ecology of invertebrates. – M., 1984. – S. 69-76.
- 11 Kozyrev A.V., Koz inykh V.O. Comparative composition of field complexes of ground beetles (Coleoptera, Carabidae) in agroecosystems of the western and eastern slopes of the Middle Urals // 80 years of pharmaceutical education and science in the Urals: results and prospects. – Perm, 1998. – S. 173-175.
- 12 Khotko E.I., Chumakov L.S., Selyavko T.M. The functional structure of the carabid population as an indicator of the degree of anthropogenic load on ecosystems // Advances in entomology in the USSR: ecology and faunistics, small detachments of insects. – S.-Pb., 1993. – S. 72-74.

- 13 Sharova I.Kh. Life forms of ground beetles (Coleoptera, Carabidae). – Moscow: Nauka, 1981. – 360 p.
- 14 Paliy V.F. Methods for studying the fauna and phenology of insects // – Voronezh, 1970. – P. 1-192.
- 15 Fasulati K.K. Field study of terrestrial invertebrates // VS. – M. 1971. – 424 p.
- 16 Methods of studying the fauna and ecology of coleoptera using the example of ground beetles (Coleoptera, Carabidae). – Irkutsk: IGU, 1982. – 32 p.
- 17 Barber, H. Traps for cave-inhabiting insects, J. Elisha Mitchell Sci. Soc 1931 Bd 46 S. 259-266.
- 18 Zherebtsov A.K. Keys to ground beetles (Coleoptera, Carabidae) of the Republic of Tatarstan. – Kazan, 2000. – P. 47. – 74 p.
- 19 Kryzhanovsky O. L. Carabidae – Ground beetles. Keys to insects of the European part of the USSR. – M.-L.: Nauka, 1965. – T. 2. – 29-77.
- 20 Khotko EI Identifier of ground beetles. – M.: Science and technology, 1978. – 88 p.
- 21 Kabak I.I., Kolov S.V. Materials for the distribution of some species of ground beetles in Central and South-Eastern Kazakhstan // Eurasian Entomological Journal. 2010. No. 9 (1). – S. 29-32.
- 22 Kryzhanovskij O.L., Belousov I.A., Kabak I.I., Kataev B.M., Makarov K.V., Shilenkov V.G. A checklist of the ground-beetles of Russia and adjacent lands (Insecta, Coleoptera, Carabidae). Series faunistica, Pensoft, Sofia-Moscow, 1995, 3: 1-271.
- 23 Kopecky T. Subtribe Tachyina pp. 273-280 – In: I. Lobl & A. Smetana (editors): Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol. 1: Archostemata – Myxophaga – Adephaga. Stenstrup: Apollo Books, 2003. – 819 p.
- 24 Moravec P., Ueno S.-I., Belousov I. Trechini, pp. 288-346. – In Lobl & A. Smetana editors): Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol. 1: Archostemata – Myxophaga – Adephaga. Stenstrup: Apollo Books, 2003. – 819 p.
- 25 Bousquet Y. Perigonini, pp. 448-449. In: I. Lobl & A. Smetana (editors): Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol. 1: Archostemata – Myxophaga – Adephaga. Stenstrup: Apollo Books, 2003. – 819 p.

FTAMP 69.25.01

<https://doi.org/10.26577/eb.2020.v85.i4.11>

**Х.Х. Серғалиев<sup>1</sup>, Б.Т. Сарiev<sup>2</sup>,  
А.Н. Туменов<sup>3</sup>, С.С. Бакиев<sup>4\*</sup> **

<sup>1</sup>«Махамбет Өтемісов атындағы Батыс Қазақстан университеті» КеАҚ, Қазақстан, Орал қ.

<sup>2</sup>«Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті» КеАҚ, Қазақстан, Орал қ.

<sup>3</sup>«Балық шаруашылығы ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС БҚФ, Қазақстан, Орал қ.

<sup>4</sup>\*«Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті» ШЖҚ РМК, Қазақстан, Алматы қ.

\*e-mail: serik\_2595@mail.ru

## **БЕКІРЕТҮҚЫМДАС БАЛЫҚ ӨНДІРГІШТЕРИН ТАҢBALAU ӘДІСТЕРІНІҢ ТИІМДІЛІГІ**

Балықтарды жасанды ортада өсіру кезінде таңбалau жұмыстары көптеген өндірістік процестердің негізгі элементтерінің бірі болып табылады. Бұл мақалада жасанды ортадағы түйік жүйелі сүмен қамтамасыз ету қондырғылары (ТЖСҚЕҚ) жағдайында өсірілген бекіретүқымдас балықтарын таңбалau бойынша жүргізілген зерттеу жұмыстарының нәтижелері келтірілген. Бұл атапан әдістемені қолданудың артықшылығы болып биологиялық қауіпсіздігі, жылдам және жарақаттамайтындығы. Таңбалau әдістемелері әсіресе бекіретүқымдас балық түрлерін (қортпа, пілмай, орыс бекіресі, сібір бекіресі, сүйрік және т.б.) өсіруде қажетті өндірістік процестер кезінде, соның ішінде: өндіріштерді дайындауда, уылдырықтату компаниясына балықтарды іріктеу кезінде, жұмысшы-аналық үйірлерін асылдандыру жұмыстары кезінде, бекіретүқымдас балықтарды өсіру шаруашылықтарындағы балықтардың өміршенділігін анықтау негізінде қолданылады. Мақалада бекіретүқымдас балықтарды сәтті таңбалauды жүргізу үшін балық, денесінің зерттелетін тиімді орындарымен тиімді әдістемелері келтіріліп сипатталған. Бекіретүқымдас балықтарға микросхемалы пассивті интеграцияланған транспондер (ПИТ-таңбалы) датчиктерін шприц-инжектор көмегі арқылы дұрыс орналастырудың және таңбалau жұмыстарын жүргізу кезіндегі жұмыс орындарының қолайлы орналасуы келтірілген. Зерттеу жұмыстарынан алынған нәтижелерден ТЖСҚЕҚ жағдайында өсірілетін бекіретүқымдас балықтарды таңбалauдың тиімді және тез жүргізілуге сәйкесті әдісі анықталып сипатталды.

**Түйін сөздер:** аквакультура, бекіретүқымдас балықтар, таңбалau, қыстарату, ТЖСҚЕҚ.

N.H. Sergaliyev<sup>1</sup>, B.T. Sariev<sup>2</sup>, A.N. Tumenov<sup>3</sup>, S.S. Bakiyev<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>NCJSC "Makhambet Utemisov West Kazakhstan University", Kazakhstan, Uralsk

<sup>2</sup>NCJSC "Zhangir Khan West Kazakhstan Agrarian-Technical University", Kazakhstan, Uralsk

<sup>3</sup>LLP WKB "Scientific and Production Center of Fisheries", Kazakhstan, Uralsk

<sup>4</sup>RSE on the REM "Al-Farabi Kazakh National University", Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: serik\_2595@mail.ru

### **Efficiency of tagging methods for sturgeon fish producers**

Fish tagging is a necessary part of many production processes when growing in regulated systems. This article presents the results of research work on tagging sturgeon fish grown in artificial conditions of recirculating aquaculture systems (RAS). The most important advantages of using this method are biological safety, efficiency and non-traumatic. Fish tagging methods are mainly used in the cultivation of sturgeon species (beluga, ship sturgeon, russian sturgeon, siberian sturgeon, sterlet, etc.), which are necessary for many production processes, including: harvesting of producers, selection of fish for spawning companies, breeding work with repair and breeding stock, determination of viability in sturgeon farms. For successful tagging of sturgeon fish, the article presents the most effective places of the studied area and methods of tagging. An example of the correct position of the chip sensor of the passive integrated transponder (PIT mark) when administered with a syringe-injector is presented, as well as the results of alternative methods of tagging sturgeon fish. The optimal location of the workplace during fish tagging is also described. The results of the study are aimed at determining the most effective method of tagging, which contributes to effective and efficient work in the cultivation of sturgeon fish in the RAS.

**Key words:** aquaculture, sturgeon fish, tagging, wintering, RAS.

Н.Х. Серғалиев<sup>1</sup>, Б.Т. Сариеv<sup>2</sup>, А.Н. Түменов<sup>3</sup>, С.С. Бакиев<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>НАО «Западно-Казахстанский университет имени Махамбета Утемисова», Казахстан, г. Уральск

<sup>2</sup>НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», Казахстан, г. Уральск

<sup>3</sup>ЗКФ ТОО «Научно-производственный центр рыбного хозяйства», Казахстан, г. Уральск

<sup>4</sup>РГП на ПХВ «Казахский национальный университет имени аль-Фараби», Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: serik\_2595@mail.ru

## Эффективность методов мечения производителей осетровых рыб

Мечение рыб является необходимым элементом многих производственных процессов при выращивании в условиях регулируемых систем. В данной статье представлены результаты исследовательских работ по мечению осетровых рыб, выращиваемых в искусственных условиях установок с замкнутым циклом водоснабжения (УЗВ). Наиболее важными преимуществами использования данного метода являются биологическая безопасность, оперативность и нетравматичность. Методы мечения рыб в основном применяются при выращивании осетровых видов рыб (белуга, шип, русский осетр, сибирский осетр, стерлядь и др.), они необходимы для многих производственных процессов, включая: заготовку производителей, отбор рыб для нерестовой компании, племенную работу с ремонтно-маточным стадом, определение жизнестойкости в осетровых хозяйствах. Для успешного проведения мечения осетровых рыб в статье представлены наиболее эффективные места исследуемой области и методы мечения. Представлен пример правильного положения микросхемного датчика – пассивного интегрированного транспондера (ПИТ-метки) при введении с помощью шприца-инжектора, а также представлены результаты альтернативных методов мечения осетровых рыб. Также описано оптимальное расположение рабочего места при проведении мечения рыб. Полученные результаты исследования направлены на определение наиболее эффективного метода мечения, способствующего эффективной и оперативной работе при выращивании осетровых рыб в условиях УЗВ.

**Ключевые слова:** аквакультура, осетровые рыбы, мечение, зимовка, УЗВ.

## Кіріспе

Балықтарды белгілең, таңбалау көптеген өндірістік процесстердің негізгі элементтерінің бірі болып келеді. Сонымен қатар балықтарды таңбалау әр түрлі ихтиологиялық зерттеулерді (балықтар үйірлерінің санын анықтау, үйірлену жолдарын анықтау және т.б.) жүргізу кезінде де кеңінен қолданылып отырады [1-7].

Ірі жасанды балық өсіру шаруашылықтарында балықтарды идентификациялау үшін және өндірістік жұмыстардың тиімділігін анықтау мақсатында балықтарды таңбалау немесе белгілеу жұмыстары белсенді жүргізіліп отырады. Өйткені өндіргіштерді дайындау кезінде, уылдырықтату үшін балықтарды іріктеу кезінде, жұмысшы-аналық үйірлермен асылдандыру жұмысы кезінде, тіршілік етуге бейімділігін анықтау кезінде, жас шабақтарды су қоймаларға жіберу кезінде оларды белгілең отыру қажетті [8-15].

Бекіретұқымдас балық түрлерінің жас шабақтарын радиоактивті изотоптармен таңбалаудың алғашқы жұмыстары 50-ші жылдарда Куриндік балық өсіру зауыттарында басталған. Одан кейін біртінде 1955 жылдары М.П. Богоявленка және Г.С. Карзинкиндер балық шабақтарының тобын су ортасында радиоактивті кальцимен таңбалаудың әдістемесін өндеп

шығарған [16].

Өндірістік жұмыстардың талабына сай салынатын таңбалардың түрлері сақталу мерзіміне, балық түріне және жасына байланысты болады. Жалпы таңбаларға қойылатын ең басты талаптар:

- таңбалау жұмыстарының тез жүруі;
- салынатын таңбалау жұмыстарының немесе құрал жабдықтарының төменгі бағада болуы;
- балықтардың өміршешенділігіне зияны тимейтіндей;
- салынған белгілеу немесе таңбалардың жоғалып кетпей қажетті мерзімге дейін сақталуы (өмір бойына);
- салынған таңбалардың тез көрінуі, есіресе балықтардың топтасып немесе далалық жағдайда жүрген кезде;
- мүмкіндігінше таңбадан көп мәлімет ала алатында мүмкіншілік болуы;
- салынған таңбаның бірнеше рет қолданылу мүмкіншілігінің болуы.

Сонымен қатар таңбалардың қарапайым, үнемді және таңбаланған даралардың болашақта нақты идентификациялануы қажет [8, 17-19].

Таңбалау әдістерінің көптеген түрлері белгілі. Соның ішінде балықтарды таңбалауды екі топқа топтастырады – сериялық және жекеленген:

- сериялық таңбалау әдісі – балықтардың жынысы, жасы, шығу тегі бойынша қолданылады;

- жекеленген таңбалау әдісі – балық өндіріштерін құжаттандыру кезінде, үрпағы бойынша өндіргіштерді бағалау кезінде, селекциялық белгілерінің динамикасын зерттеу барысында қолданылады.

Балық өсірудің тәжірибесінде балықтарды таңбалаудың төрт әдістемесі қолданылады – қанаттарын кесу, бояулармен маркировкалау, криоклеймендеу және термоклеймендеу.

Өндірістік жағдайда жоспарланған мақсатқа орай, балықтардың түрі мен қолеміне байланысты келесідейдегі белгілеу түрлері қолданылады:

- ішкі таңбалау: пассивті интеграцияланған транспондер (ПИТ) таңбалаулар, магниттік кодталған сымдық микротаңбалар (CWT), химиялық заттар (окситетрациклин), тері астына енгізілетін органикалық бояулар, латекстер;

- сыртқы таңбалау: ірі кара малдарына (сиыр жануары) арналған клиптар, қыстырығыштар, якорлы таңбалар;

- бояулармен таңбалау мысалы неонды бояулармен және балық денесіне суреттер салу арқылы;

- ілмектері мен жүзбе қанаттарын кесіп алу арқылы таңбалау [8, 20-22].

Зерттеу жұмыстарының мақсаты: өндірістік жағдайда бекіретұқымдас балықтарының жұмысшы топтарын және өндіргіштерін өсіру, қыстату, көшіру, тасымалдау жұмыстары кезінде тиімді таңбалау әдістерін пайдалану.

### Материал және зерттеу әдістері

Зерттеу жұмыстары Жәңір хан атындағы БҚАТУ-нің Ғылым басқармасы ғылыми-зерттеу институтының (ГЗИ) базасында ҚР Ауыл шаруашылығы министрлігі мемлекеттік мекемесімен жасалған 27.01.2020 жылының № 05-02/06 келісім-шартына сәйкес 2018-2020 жылдарға арналған АгроЕнеркәсіп кешені саласындағы қолданбалы зерттеулер аясында 267 «Ғылыми – зерттеулер және біліктіліктің қолжетімділігін арттыру» бюджеттік бағдарлама 101 «Бағдарламалық-нысаналы қаржыландыру шенберіндегі ғылыми зерттеулер жүргізу» бағдарлама белімі 156 «Зерттеулер мен консалтингтік қызметтерді төлеу» ерекшелігі бойынша «Жасанды өсіріп-кебейтудің тиімділігін жоғарылату мақсатында генетикалық әдістемелерді қолдана отырып бекіретұқымдас балықтардың жұмысшы-аналық үйірлерін қалыптастыру» тақырыбы бойынша бонитиров-

ка жұмыстары жүргізілді. Бонитировка кезінде жинақталған сібір бекіресі, сүйрік, қортпа, пілмай, бестер буданы (қортпа×сүйрік) және ролек (орыс бекіресі×сібір бекіресі) балықтарының жоғарғы жұмысшы топтарымен өндіргіш үйірлерін таңбалау жұмыстары 2019 жылдың шілде айынан 2020 жылдың ақпан айы аралығында жүргізілді.

Қойылған талаптарға байланысты таңбалаудың жекеленген түрі қолданылды. Балықтарды таңбалау әдістемесін жүргізу үшін таңбалау орыны алдын ала дайындалып алынды. Таңбалау жұмыстары үшін алынған балық ыңғайлы жатып, механикалық жаракаттарды (шоршынған кезде жерге құлауы немесе басын үстелге соғуы) болдырмау үшін арнайы стойкаға немесе үстелге жатқызылады) [23-25].

Биопсия процесінен накты анықталған, қыстатуға жіберілетін балықтарына таңбалау жұмыстары қатар жүргізілді. Бұл аталған әдістеме бекіретұқымдас балықтарды қыстату процесстерінің бірі болып табылды. Жинақталған балықтар тобын таңбалау жұмыстары журналға жазып тіркеліп отырды. Таңбалау жұмыстарынан өткізілген өндіргіш балықтар арнайы дайындалған қыстату бассейндеріне отырғызылды.

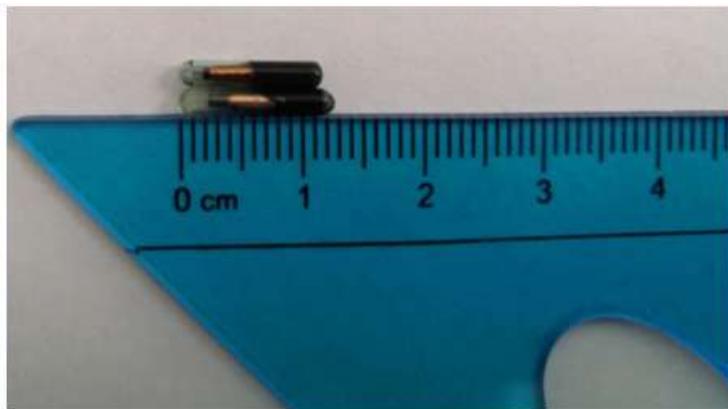
Жоғарыда аталған жұмыстарды жүргізу барысында таңбалау әдістерінің бірнеше түрлері қолданылды. Соның ішінде ең тиімді, заманауи әдістеменің бірі болып табылатын ПИТ таңбалаулары қолданысқа көбірек пайдаланылды.

ПИТ таңбалары интегралдық транспандерлі болып келеді. Олар арнайы электронды схемамен жабдықталып, микропроцессорлы чиптарда орналастырылған. Олар арнайы өзіндік қуат көзімен жабдықталмаса да детекторлы қоздырғыш магнитуласы пайда болған кезде олар өзінің идентификациялық кодынан хабар береді. Электронды схемасы бар таңбаның мөлшері әр түрлі болады. Бұл өндіруші компанияның өніміне байланысты  $1,2 \times 8,0$  мм дең  $2,1 \times 12,2$  мм аралығында өзгеріп тұрады (1-сурет).

Аталған таңбалар әйнекті қабыршақтармен қоршалып оралған және балықтарға енгізілгеннен кейін қандай да бір зиянды әсері жоқ немесе балықтар ауырсынбайды. Пайдалану мерзімі шектесіз, сондай ақ бір қолданылғаннан кейін қайта қолдануға болады. ПИТ таңбаларды кеуде қанат астындағы тері астына немесе арқа қанатыны маңындағы тері асты бұлшық еттеріне шприц-инжекторлары арқылы енгізілді. Енгізілген ПИТ таңбалардың ақпаратын оқу портативті кол детекторымен қашықтықтан жүзеге асырылды (2-сурет).



а



ә

**1-сурет – ПИТ таңбалардың нұскалары:**

а) 1 – чип енгізуші ине,

2 – портативті қол детекторы (сканер),

3 – шприц-инжекторы;

ә) микропроцессорлы чип көлемдері



**2-сурет – Портативті қол детекторы арқылы қашықтан ПИТ таңбаны оқу**

### Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау

Жоспарланған ғылыми-зерттеу жұмыстарды құзеге асыру мақсатында бонитировка жұмыстарынан кейін іріктелген балықтар биопсия әдістемесінен өткізіліп, қыстату жұмыстарына жіберілген кезде көптеген балықтар тобын ПИТ таңбаладау әдістерімен және бірнеше дана балықтар тобын (сібір бекіресі және ролек) құйрық қанаттарына белгі салумен және бүйір ілмешектерін санап отырып кесіп алу әдістері-

мен белгіленді. ПИТ таңбалаларды пайдалану барысында балықтардың ауырсыну немесе жарақаттану белгілері пайда болған жоқ. Керісінше таңбаладау орындарынан тері үсті қабаты бітісіп, жазылып кетті (1-кесте). Ғылыми-зерттеу жұмыстарын жүргізу барысында ПИТ таңбаларының аяқталуына орай балықтардың құйрық бөліктеріне түрмистық шаруашылық пайдаланатын пластмасты хомуттар пайдаланылды (3-сурет). Сонымен қатар бүйір ілмешектерін басынан құйрық жағына бойлай саналып кесіп алғынып отырды.

**1-кесте – ПИТ таңбалалу әдістемесінің нәтижесі**

№	Балық түрі	ПИТ таңба №	Бассейннің инвент. №
1	Кортпа	94778	00000634
2	Кортпа	94776	
3	Кортпа	94781	
4	Кортпа	94790	
5	Кортпа	94784	
6	Кортпа	94777	
7	Кортпа	94789	
8	Кортпа	94782	
9	Кортпа	94785	
10	Кортпа	94783	00000640
	Кортпа	2 дана ПИТ таңбасыз	00000634
Барлығы: 12 дана			
1	Пілмай	99944	00000640
2	Пілмай	94763	
3	Пілмай	94761	
4	Пілмай	06546	
5	Пілмай	94766	
6	Пілмай	94773	
7	Пілмай	94765	
8	Пілмай	94771	
9	Пілмай	05552	
10	Пілмай	99933	
11	Пілмай	99931	
12	Пілмай	99943	
13	Пілмай	94752	
14	Пілмай	94754	
15	Пілмай	94769	
16	Пілмай	94753	
	Пілмай	5 дана ПИТ таңбасыз	
Барлығы: 21 дана			
1	Пілмай	94779	00000643
2	Пілмай	94755	
3	Пілмай	94767	
4	Пілмай	99945	
5	Пілмай	94774	
6	Пілмай	94780	
7	Пілмай	94759	
8	Пілмай	94758	
9	Пілмай	94757	
10	Пілмай	06548	
11	Пілмай	06547	
12	Пілмай	94751	
13	Пілмай	94770	
14	Пілмай	94768	
15	Пілмай	94756	
16	Пілмай	94760	
17	Пілмай	94762	
	Пілмай	9 дана ПИТ таңбасыз	
Барлығы: 26 дана			
1	Пілмай	26 дана ПИТ таңбасыз	00000639
2	Пілмай	26 дана ПИТ таңбасыз	00000644
3	Сібір бекіресі	26 дана ПИТ таңбасыз	00000636
4	Сібір бекіресі	1 дана ПИТ таңбасыз	РЗИ
Барлығы: 79 дана			



**3-сурет – Тұрмыстық пластмасы хомуттармен таңбалалу әдісі**

Суретте көрініп тұрғандай құйрық бөліктеріне пластмасты хомуттарды тағу арқылы таңбалалу әдістері оңай жүргізілді. Дегенмен құнделікті балықтардың құй-жайын мамандар тексеру барысында денедегі бөгде заттардың дene бөлігін қажап, жаралауы байқалды. Өйткені балықтар жүзу барысында қымыл қозғалысқа құйрық қанатымен көп түскеннен кейін із қалдыра бастады. Із қалдыру орындары тереңдеп, жарақатқа айналып, денеден қан бөліктері көріне бастады (4-сурет). Бұл дегеніміз балықтардың дene бөліктерінің жарақаттанып, физиологиялық жағдайы қуннен қунге төмөндөй бастайтынын көреміз. Мұндай таңбалалу әдістері 2-4 қун уақыт аралығына дейін уақытша пайдалануға болатыны белгілі болды. Зерттеу жүргізу барысында 4 қуннен артық тағылатын болса таңбалалу орындарына із түсе бастайды. Бұл таңбалалу әдістемелерін балықтарды жақын қашықтықтарға тасымалдау кезінде немесе бассейндерден көшіп-қондыру жұмыстары кезінде пайдалануға болады. Сол кезде таңбалалу әдістерін тағып кейін шешіп тастав отыруға ете ыңғайлы, тез, жылдам орындауга тиімді.

Зерттеу жұмыстары үшін көптеген балық есіруші тәжірибелі маман ғалымдардың қолданатын тағы бір таңбалалу әдістемесі, ол бүйір ілмешектерін басынан құйрық бағытына дейін

санай отырып қырқып кесіп алу (5-сурет). Бұл әдістеме кезінде керісінше балықтардың ауырсынуы байқалып, таңбалау орындарында шоршынуы болады. Дене ілмешектерін кесіп алғып тастау кезінде тері қабатынан терендептепеу керек, өйтпеген жағдайда тері қабатынан скаппель терендеп өтсе денеде қан білінеді. Бұдан кейін балық жараланып ауырсынады. Сондықтан бұл әдістемені пайдалану кезінде тәжірибелі маманның жасағаны дұрыс болады. Бұл таңбалау

орындарының тез арада бітісіп, жара орындары жазылып, физиологиялық жай-күйі жағынан балық өзін жақсы күйде сезілетіні байқалды. Сонымен қатар кесіліп алғынған ілмешек орынна 6-7 айда қайтадан басқа ілмешек пайдада бола бастайды. Сондықтан келесі қыстату жұмыстарына немесе басқа процесстерге дейін бүйір ілмешектері табиғи болып қалыптасып кетеді. Бұл әдістеме бірнеше рет қайталанып нәтижесі оң болды.



4 -сурет – Хомуттармен таңбалау нәтижелері



5 сурет – Бүйір ілмешектерін кесіп алғып таңбалаудың нәтижелері

Зерттеу жұмыстары кезінде таңбалауға бекіретұқымдас балықтарының өндіргіштерінің ішінен 31,1% ПИТ таңбаларымен таңбаланылды, балықтардың құйрық бөліктерін тұрмыстық хомуттармен 17,4% балықтар таңбаланды, сонымен қатар бүйір ілмешектерін кесіп алу арқылы таңбалау әдістемесін 51,5% балықтар тобы құрап отыр.

### Корытынды

Таңбалау нәтижелері бонитировка жұмыстарын жүргізу кезінде өте ыңғайлы. Өйткені са-

нау, көлемі бірдей балықтарды ажырату кезінде тиімділігі мол. Дегенмен жоғарыда атап өтіп кеткендей әрбір таңбалау әдістемелерінің өзіндік жетіспеушіліктерімен артықшылықтары да жоқ емес. Олай дейтініміз орнатуы жағынан тез, әрі ыңғайлы болғанымен ПИТ таңбалауларының микросхемалары кейбір балықтардың ыңғайлы қозғалуының арқасында бұлшық еттердің жирылуынан сыртқа шығарылып тасталуы мүмкін. Сонымен қатар шприц-инжекторлары арқылы денеге енгізу барысында теренге бойламай тек тері астында қалып қоюы да орын алады. Сондықтан ПИТ таңбалауларын орнату кезінде

өте тәжірибелі мамандардың орнатқаны дұрыс деп санаймыз. Өйткені тағы бір экономикалық тиімсіздігі жағынан орын алатыны, әрбір миқронды схема құндылығы жағынан арзан емес. Бұл дегеніміз балық өсіруші мекемеге немесе өндіріс қаржысына үлкен әсер етуі ғажап емес.

Сонымен қатар тұрмыстық хомуттарды пайдалану өз нәтижесін көрсетті. Бұл өз кезегінде өндірісте пайдаланып алғып тастауга тез, өте тиімді болғанымен уақытқа байланысты ұзак мерзімге пайдалануға жарамсыз болып табылды. Сондықтан өндірісте пайдаланған кезде қысқа мерзімге пайдалануға өте тиімді болып табылды.

Зерттеу жұмыстарында бүйір ілмешектерін кесіп алғып тастау арқылы таңбалау жұмыстары балықтардың алғашқы кезде ауырсынғаны байқалғанмен, соңынан айтарлықтай физиологиялық жай-күйінің өзгергені байқалған жоқ. Мұнымен қатар экономикалық жағынан айтарлықтай өндіріске шығын келмейтінін де ескеруге болады. Әрине жаңа технологияларды пайдалана отырып жаңа әдістемелерді ойластыра отырған дұрыс деп санаймыз. Сондықтан жаңа технологияларды қолдану барысында оның шектеулі мерзімі кезінде салыстырмалы түрде басқа да тиімді таңбалау әдістерінің болғаны дұрыс деп санаймыз.

### Әдебиеттер

- 1 Wiśniewolski W., Nabiałek J. Tag retention and survival of fish tagged in controlled pond experiments // *Aquatic Science*. – 1993. – Vol. 55. – P. 143–152. <https://doi.org/10.1007/BF00877442>.
- 2 Shmigirilov A.P., Mednikova A.A., Israel J.A. Comparison of biology of the Sakhalin sturgeon, Amur sturgeon, and kaluga from the Amur River, Sea of Okhotsk, and Sea of Japan biogeographic Province // *Environ Biol Fish*. – 2007. – Vol. 79. – P. 383–395. <https://doi.org/10.1007/s10641-006-9050-3>.
- 3 Doukakis P., Erickson D., Baimukhanov M., Bokova Y., Erbulekov S., Nigmatov A., Pikitch K. E. Field and Genetic Approaches to Enhance Knowledge of Ural River Sturgeon Biology. In: Lagutov V. (eds) *Rescue of Sturgeon Species in the Ural River Basin*. NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security. Springer, Dordrecht. – 2008. – P. 277–292. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8924-4\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8924-4_13).
- 4 Jatteau P., Castelnau G., Rochard E., Gessner J., Lepage M. Tagging European and Atlantic Sturgeons in Europe. In: Williot P., Rochard E., Desse-Berset N., Kirschbaum F., Gessner J. (eds) *Biology and Conservation of the European Sturgeon*. Acipenser sturio L. Springer, Berlin, Heidelberg. – 2011. – P. 349–355. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-20611-5\\_24](https://doi.org/10.1007/978-3-642-20611-5_24).
- 5 Miller E. A., Froehlich H. E., Cocherell D. E., Thomas M. J., Cech J. J., Klimley A. P., Fangue N. A. Effects of acoustic tagging on juvenile green sturgeon incision healing, swimming performance, and growth // *Environmental Biology of Fishes*. – 2013. Vol. 97(6). – P. 647–658. doi:10.1007/s10641-013-0167-x.
- 6 Jepsen N., Thorstad E.B., Havn T., Lucas M. The use of external electronic tags on fish: an evaluation of tag retention and tagging effects // *Anim Biotelemetry*. – 2015. – Vol. 3 (49). – P. 1–23. <https://doi.org/10.1186/s40317-015-0086-z>.
- 7 Cooke S.J., Cech J.J., Glassman D.M., Simard J., Louttit S., Lennox R., Cruz-Font L., O'Connor C. Water resource development and sturgeon (Acipenseridae): state of the science and research gaps related to fish passage, entrainment, impingement and behavioural guidance // *Rev Fish Biol Fisheries*. – 2020. – Vol. 30. – P. 219–244. <https://doi.org/10.1007/s11160-020-09596-x>.
- 8 Чебанов М.С., Галич Е.В. Руководство по искусственно воспроизводству осетровых рыб. – Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН. – Анкара, 2013. № 558. – 325 с.
- 9 Brevé N.W.P., Vis H., Houben B., Laak G., Breukelaar A.W., Acolas Marie-Laure, Bruijn Q., Spierts I. Exploring the possibilities of seaward migrating juvenile European sturgeon Acipenser sturio L. in the Dutch part of the River Rhine // *J Coast Conserv*. – 2014. – Vol. 18. – P. 131–143. <https://doi.org/10.1007/s11852-013-0281-0>.
- 10 Hondorp D.W., Holbrook C.M., Krueger C.C. Effects of acoustic tag implantation on lake sturgeon *Acipenser fulvescens*: lack of evidence for changes in behavior // *Anim Biotelemetry*. – 2015. – Vol. 3:44. – P. 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40317-015-0085-0>.
- 11 Pinheiro I.E.G., Muelbert M.M.C., Pedrosa V.F., Romano L., Muelbert J. Evaluation of intracoelomic tagging of tainha, Mugil liza (Valenciennes, 1836), under laboratory conditions // *Hydrobiologia*. – 2018. – Vol. 813. – P. 213–222. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3527-x>.
- 12 Wu C., Chen L., Gao Y., Jiang W. Seaward migration behavior of juvenile second filial generation Chinese sturgeon *Acipenser sinensis* in the Yangtze River, China // *Fish Sci*. – 2018. – Vol. 84. – P. 71–78. <https://doi.org/10.1007/s12562-017-1155-4>.
- 13 Brownscombe J.W., Lédée E.J.I., Raby G.D., Struthers D., Gutowsky L., Nguyen V., Young N., Stokesbury M., Holbrook C., Brenden T., Vandergoot C., Murchie K., Whoriskey K., Flemming J., Kessel S., Krueger C., Cooke S. Conducting and interpreting fish telemetry studies: considerations for researchers and resource managers // *Rev Fish Biol Fisheries*. – 2019. – Vol. 29. – P. 369–400. <https://doi.org/10.1007/s11160-019-09560-4>.
- 14 D'Arcy J., Kelly S., McDermott T., Hyland J., Jackson D., Bolton-Warberg M. Assessment of PIT tag retention, growth and post-tagging survival in juvenile lumpfish, *Cyclopterus lumpus* // *Anim Biotelemetry*. – 2020. – Vol. 8:1. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40317-019-0190-6>.

- 15 Kimball M.E., Mace M.M. Survival, Growth, and Tag Retention in Estuarine Fishes Implanted with Passive Integrated Transponder (PIT) Tags // *Estuaries and Coasts*. – 2020. – Vol. 43. – P. 151–160. <https://doi.org/10.1007/s12237-019-00657-4>.
- 16 Кокоза А.А., Федотова А.В., Дубов В.Е. Краткая история проблемы мечения молоди осетровых рыб искусственной генерации // Первый международный семинар «Новые технологии в воспроизводстве осетровых рыб». – Астрахань: Секаспрыбвод, 2005. – С. 4-6.
- 17 Иванов С.А., Литовченко Ж.С., Миронова Т.Н. Способ массового мечения осетровых рыб Российский патент 2003 года RU2206987C1. Изобретение по МПК A01K61/00. – <https://patenton.ru/patent/RU2206987C1>.
- 18 Чебанов М.С., Галич Е.В., Чмырь Ю.Н. Руководство по разведению и выращиванию осетровых рыб. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2004. – 148 с.
- 19 Подушка С. Б. Способ мечения осетровых рыб. Российский патент 2009 года RU2361397C1. Изобретение по МПК A01K61/00. – <https://patenton.ru/patent/RU2361397C1>.
- 20 Adams A.J., Wolfe R.K., Pine W.E., Thornton B. Efficacy of PIT tags and an autonomous antenna system to study the juvenile life stage of an estuarine-dependent fish // *Estuaries and Coasts: J ERF*. – 2006. – Vol. 29. – P. 311–317. <https://doi.org/10.1007/BF02781999>.
- 21 Brown R.S., Oldenburg E.W., Seaburg A.G., Cook K., Skalski J., Eppard M., Deters K. Survival of seaward-migrating PIT and acoustic-tagged juvenile Chinook salmon in the Snake and Columbia Rivers: an evaluation of length-specific tagging effects // *Anim Biotelemetry*. – 2013. – Vol. 1:8. – P. 1-13. <https://doi.org/10.1186/2050-3385-1-8>.
- 22 Simard L.G., Sotola V.A., Marsden J.E., Scott M. Assessment of PIT tag retention and post-tagging survival in metamorphosing juvenile sea lamprey // *Anim Biotelemetry*. – 2017. – Vol. 5:18. – P. 1-7. <https://doi.org/10.1186/s40317-017-0133-z>.
- 23 Түменов А.Н., Сергалиев Н.Х., Сариев Б.Т., Бакиев С.С. Оценка эффективности применения комбинированной технологии определения стадии зрелости гонад осетровых рыб с помощью методов УЗ-сканера и биопсии по значениям коэффициента поляризаций ооцитов // Новости науки Казахстана. – Казахстан, г. Алматы. – 2016. – №4. – Б. 125-134.
- 24 Сергалиев Н.Х., Түменов А.Н., Сариев Б.Т., Шукuros М.Ж., Бакиев С.С. Особенности формирования и содержания ремонтно-маточных стад осетровых рыб Урало-Каспийской популяции в регулируемых условиях: Монография. – Уральск: Зап.-Казахст.аграр.-техн.ун.-т им. Жангир хана, 2017. – 164 с.
- 25 Сариев Б.Т., Түменов А.Н., Сариев Б.Т., Шукuros М.Ж., Бакиев С.С. Бекіретұқымдастардың жынысы өнімдерінің кезеңдерін ультрадыбыстық зерттеу көмегімен анықтаудың тиімділігі // «Фылым және белгім». – Жәңгір хан атындағы БҚАТУ. Орал. – 2018. – №3(52). – Б.160-167.

## References

- 1 Wiśniewolski W., Nabiałek J. “Tag retention and survival of fish tagged in controlled pond experiments”. *Aquatic Science*. Vol. 55. (1993): 143–152. <https://doi.org/10.1007/BF00877442>.
- 2 Shmigirilov A.P., Mednikova A.A., Israel J.A. “Comparison of biology of the Sakhalin sturgeon, Amur sturgeon, and kaluga from the Amur River, Sea of Okhotsk, and Sea of Japan biogeographic Province”. *Environ Biol Fish*. Vol. 79. (2007): 383–395. <https://doi.org/10.1007/s10641-006-9050-3>.
- 3 Doukakis P., Erickson D., Baimukhanov M., Bokova Y., Erbulekov S., Nigmatov A., Pikitch K. E. “Field and Genetic Approaches to Enhance Knowledge of Ural River Sturgeon Biology. In: Lagutov V. (eds) Rescue of Sturgeon Species in the Ural River Basin. NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security”. Springer, Dordrecht. (2008): 277-292. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8924-4\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8924-4_13).
- 4 Jatteau P., Castelnau G., Rochard E., Gessner J., Lepage M. “Tagging European and Atlantic Sturgeons in Europe. In: Williot P., Rochard E., Desse-Berset N., Kirschbaum F., Gessner J. (eds) Biology and Conservation of the European SturgeonAcipenser sturio L. 1758”. Springer, Berlin, Heidelberg. (2011): 349-355. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-20611-5\\_24](https://doi.org/10.1007/978-3-642-20611-5_24).
- 5 Miller E. A., Froehlich H. E., Cocherell D. E., Thomas M. J., Cech J. J., Klimley A. P., Fangue N. A. “Effects of acoustic tagging on juvenile green sturgeon incision healing, swimming performance, and growth”. *Environmental Biology of Fishes*. Vol. 97(6) (2013): 647–658. doi:10.1007/s10641-013-0167-x.
- 6 Jepsen N., Thorstad E.B., Havn T., Lucas M. “The use of external electronic tags on fish: an evaluation of tag retention and tagging effects”. *Anim Biotelemetry*. Vol. 3 (49) (2015): 1-23. <https://doi.org/10.1186/s40317-015-0086-z>.
- 7 Cooke S.J., Cech J.J., Glassman D.M., Simard J., Louttit S., Lennox R., Cruz-Font L., O’Connor C. “Water resource development and sturgeon (Acipenseridae): state of the science and research gaps related to fish passage, entrainment, impingement and behavioural guidance”. *Rev Fish Biol Fisheries*. Vol. 30 (2020): P. 219–244. <https://doi.org/10.1007/s11160-020-09596-x>.
- 8 Chebanov M.S., Galich E.V. “Rukovodstvo po iskusstvennomu vosproizvodstvu osetrovyyh ryb [Manual for artificial reproduction of sturgeon fish]”. Food and Agriculture Organization of the United Nations – Ankara. 558 (2013): 325.
- 9 Brevé N.W.P., Vis H., Houben B., Laak G., Breukelaar A.W., Acolas Marie-Laure, Bruijn Q., Spierts I. “Exploring the possibilities of seaward migrating juvenile European sturgeon Acipenser sturio L., in the Dutch part of the River Rhine”. *J Coast Conserv*. Vol. 18 (2014): 131–143. <https://doi.org/10.1007/s11852-013-0281-0>.
- 10 Hondorp D.W., Holbrook C.M., Krueger C.C. “Effects of acoustic tag implantation on lake sturgeon Acipenser fulvescens: lack of evidence for changes in behavior”. *Anim Biotelemetry*. Vol. 3:44 (2015):1-13. <https://doi.org/10.1186/s40317-015-0085-0>.
- 11 Pinheiro I.E.G., Muelbert M.M.C., Pedrosa V.F. Romano L., Muelbert J. “Evaluation of intracoelomic tagging of tainha, Mugil liza (Valenciennes, 1836), under laboratory conditions”. *Hydrobiologia*. Vol. 813 (2018): 213–222. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3527-x>.

- 12 Wu C., Chen L., Gao Y., Jiang W. "Seaward migration behavior of juvenile second filial generation Chinese sturgeon *Acipenser sinensis* in the Yangtze River, China". Fish Sci. Vol. 84 (2018): 71–78. <https://doi.org/10.1007/s12562-017-1155-4>.
- 13 Brownscombe J.W., Lédée E.J.I., Raby G.D., Struthers D., Gutowsky L., Nguyen V., Young N., Stokesbury M., Holbrook C., Brenden T., Vandergoot C., Murchie K., Whoriskey K., Flemming J., Kessel S., Krueger C., Cooke S. "Conducting and interpreting fish telemetry studies: considerations for researchers and resource managers". Rev Fish Biol Fisheries. Vol. 29 (2019): 369–400. <https://doi.org/10.1007/s11160-019-09560-4>.
- 14 D'Arcy J., Kelly S., McDermott T., Hyland J., Jackson D., Bolton-Warberg M. "Assessment of PIT tag retention, growth and post-tagging survival in juvenile lumpfish, *Cyclopterus lumpus*". Anim Biotelemetry. Vol. 8:1 (2020): 1-9. <https://doi.org/10.1186/s40317-019-0190-6>.
- 15 Kimball M.E., Mace M.M. "Survival, Growth, and Tag Retention in Estuarine Fishes Implanted with Passive Integrated Transponder (PIT) Tags". Estuaries and Coasts. Vol. 43 (2020): 151–160. <https://doi.org/10.1007/s12237-019-00657-4>.
- 16 Kokoza A.A., Fedotova A.V., Dubov V.E. Kratkaya istoriya problemy mecheniya molodi osetrovych ryb iskusstvennoj generacii [A brief history of the problem of tagging sturgeon juveniles of artificial generation]. New technologies in the reproduction of sturgeon fish". – Astrakhan: Sekaspribvod. (2005): 4-6.
- 17 Ivanov S.A., Litovchenko ZH.S., Mironova T.N. "Sposob massovogo mecheniya osetrovych ryb [Method for mass marking of sturgeon fish]". Russian patent of 2003 RU2206987C1. IPC invention A01K61/00. – <https://patenton.ru/patent/RU2206987C1>.
- 18 Chebanov M.S., Galich E.V., CHmyr' YU.N. "Rukovodstvo po razvedeniyu i vyrashchivaniyu osetrovych ryb [Sturgeon breeding and rearing guide]". Moscow FGNU "Rosinformagrotech". (2004):148.
- 19 Podushka S. B. "Sposob mecheniya osetrovych ryb [Method of marking sturgeon fish]". Russian patent of 2009 RU2361397C1. IPC invention A01K61/00. – <https://patenton.ru/patent/RU2361397C1>.
- 20 Adams A.J., Wolfe R.K., Pine W.E., Thornton B. "Efficacy of PIT tags and an autonomous antenna system to study the juvenile life stage of an estuarine-dependent fish". Estuaries and Coasts: J ERF. Vol. 29 (2006): 311–317. <https://doi.org/10.1007/BF02781999>.
- 21 Brown R.S., Oldenburg E.W., Seaburg A.G., Cook K., Skalski J., Eppard M., Deters K. "Survival of seaward-migrating PIT and acoustic-tagged juvenile Chinook salmon in the Snake and Columbia Rivers: an evaluation of length-specific tagging effects". Anim Biotelemetry. Vol. 1:8 (2013): 1-13. <https://doi.org/10.1186/2050-3385-1-8>.
- 22 Simard L.G., Sotola V.A., Marsden J.E., Scott M. "Assessment of PIT tag retention and post-tagging survival in metamorphosing juvenile sea lamprey". Anim Biotelemetry. Vol. 5:18 (2017): 1-7. <https://doi.org/10.1186/s40317-017-0133-z>.
- 23 Tumenov A.N., Sergaliyev N.H., Sariev B.T., Bakiyev S.S. "Ocenka effektivnosti primeneniya kombinirovannoj tekhnologii opredeleniya stadii zrelosti gonad osetrovych ryb s pomoshch'yu metodov UZ-skanera i biopsii po znacheniyam koefficienta polyarizacij oocitov [The evaluation of effectiveness of implementation of the combined technology for the identification of the maturity stage of gonads of sturgeon fish with the use of ultrasound scanner and biopsy by the values of coefficient of oocytes polarization]". News of Science of Kazakhstan. – Kazakhstan, Almaty. 4 (2016): 125-134.
- 24 Sergaliyev N.H., Tumenov A.N., Sariev B.T., SHukurov M.ZH., Bakiyev S.S. "Osobennosti formirovaniya i soderzhaniya remontno-matochnyh stad osetrovych ryb Uralo-Kaspiskoj populyacii v reguliruemyh usloviyah [Features of the formation and maintenance of sturgeon broodstock flocks of the Ural-Caspian population in controlled conditions]". Monograph. Uralsk: Zhangir Khan West-Kazakhst.agrar.-tekhn.un. (2017): 164.
- 25 Sariev B.T., Tumenov A.N., Bakiyev S.S., Djýnýsov A.M. "Bekiretuqymdas balyqtardyń jynys ónimderiniń kezeńderin ýltradybystyq zertteý kómegimen anyqtaýdyń tiimdiligi [The effectiveness of the determination of the stages of sexual reproduction of sturgeon by ultrasound]". Science and Education. WKATU named after Zhangir Khan. Uralsk. Vol. 3 (52) (2018): 160-167.



5-бөлім

**АДАМ ЖӘНЕ ЖАНУАРЛАР  
ФИЗИОЛОГИЯСЫ**

---

Section 5

**HUMAN AND ANIMAL  
PHYSIOLOGY**

---

Раздел 5

**ФИЗИОЛОГИЯ  
ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

**Ю.А. Синявский<sup>1</sup>, А.Н. Аралбаева<sup>2</sup>, Д.Н. Тугунов<sup>1,3</sup>,  
Е.А. Дерипаскина<sup>1,3</sup>, М.М. Кучербаева<sup>1,3</sup>, М.К. Мурзахметова<sup>3\*</sup>**

<sup>1</sup>АО «Академия питания», Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>Казахский национальный аграрный университет, Казахстан, г. Алматы

<sup>3</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: mairamur@mail.ru

## **ОЦЕНКА ДЕТОКСИКАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА СОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ РИСОВОЙ ШЕЛУХИ**

Тяжелые металлы представляют собой группу поллютантов, которые оказывают негативное влияние на состояние организма. Свинец широко применяется в химической промышленности при изготовлении красок, пластмассы, в составе косметических средств, поэтому вероятность попадания ионов свинца в организм высока. Соединения свинца являются высокотоксичными и по степени опасности стоят в одном ряду с такими токсикантами, как мышьяк, ртуть и бен(а)пирен. Механизм токсичного действия свинца основан на активации свободно-радикального окисления биомолекул клетки и инактивации антиоксидантных ферментов. Соответственно для снижения риска интоксикации необходимо обеспечить снижение уровня интенсивности образования агрессивных радикалов, вовлекаемых в цепную реакцию окисления. Для этого на сегодняшний день существует ряд средств, которые, в конечном итоге, приводят к снижению концентрации продуктов липопероксидации. Одним из способов является хелатирование и сорбция ксенобиотиков, которые потенциально опасны и могут вызывать индукцию свободно-радикальных процессов. Наши исследования были посвящены оценке детоксикационного потенциала сорбентов на основе рисовой шелухи, основываясь на их свойствах снижать интенсивность процессов перекисного окисления в мембранных клеток. Эксперименты проводили в условиях *in vivo*. Животные получали препараты из рисовой шелухи на фоне хронической интоксикации солями свинца. Как показали результаты экспериментов, включение в рацион сорбентов из рисовой шелухи позволяет существенно снизить токсическую нагрузку на организм при длительном отравлении ионами свинца. В результате исследований выявлено, что измельченная карбонизированная рисовая шелуха обладает высоким детоксикационным потенциалом по сравнению с обычной формой, уровень перекисного окисления в микросомах жизненно важных органов и активность антиоксидантных ферментов на фоне интоксикации нитратом свинца при использовании сорбента оставался практически на уровне контроля. Таким образом, на основании данных, полученных в ходе исследования, можно заключить, что применение сорбентов на основе карбонизированной рисовой шелухи является достаточно перспективным для дальнейшей разработки способов детоксикационной терапии и профилактики отравлений тяжелыми металлами.

**Ключевые слова:** тяжелые металлы, рисовая шелуха, перекисное окисление.

Ju.A. Sinjavskij<sup>1</sup>, A.N. Aralbaeva<sup>2</sup>, D.N. Tuigunov<sup>1,3</sup>,  
E.A. Deripaskina<sup>1,3</sup>, M.M. Kucherbaeva<sup>1,3</sup>, M.K. Murzahmetova<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>JSC "Academy of nutrition", Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>JSC "Almaty technological University", Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: mairamur@mail.ru

### **Assessment of the detoxification potential of rice husk sorbents**

Heavy metals are a group of pollutants that have a negative impact on the body. Lead is widely used in the chemical industry in the production of paints, plastics, cosmetics, so the probability of ingestion of lead ions in the body is high. Lead compounds are highly toxic and are on a par with toxicants such as arsenic, mercury and Ben (a) pyrene. The mechanism of toxic action of lead is based on activation of free radical oxidation of cellular biomolecules and inactivation of antioxidant enzymes. Accordingly, to reduce the risk of intoxication, it is necessary to reduce the intensity of the formation of aggressive radicals involved in the oxidation chain reaction. To do this, today there are a number of tools that ultimately lead to a decrease in the concentration of lipoperoxidation products. One method is the chelation and sorption of xenobiotics, which are potentially dangerous in terms of induction of free radical processes.

Our research was devoted to the assessment of the detoxification potential of rice husk sorbents in the context of their influence on the processes of peroxidation in the membranes of cells. The experiments were carried out in vivo. The animals received preparations from rice husks on the background of chronic intoxication with lead salts. As shown by the results of experiments, the inclusion in the diet of sorbents from rice husks can significantly reduce the toxic load on the body during prolonged poisoning with lead ions, as evidenced by the magnitude of oxidative stress. As a result of researches it is revealed that the crushed carbonized rice husk possesses high detoxification potential in comparison with the usual form, the level of peroxidation in hepatocytes and activity of antioxidant

**Key words:** heavy metals, rice husk, peroxidation.

Ю.А. Синявский<sup>1</sup>, А.Н. Арапбаева<sup>2</sup>, Д.Н. Тугунов<sup>1,3</sup>,  
Е.А. Дерипаскина<sup>1,3</sup>, М.М. Кучербаева<sup>1,3</sup>, М.К. Мурзахметова<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>АҚ «Тамақтану академиясы», Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>АҚ «Алматы Технологиялық Университеті», Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

\*e-mail: mairamur@mail.ru

### Күріш қауызының негізіндегі сорбенттердің детоксикациялық әлуетіне баға беру

Ауыр металдар ағзаның күйіне теріс әсер көрсететін ластаушы заттардың бір тобы болып есептеледі. Қорғасын химиялық өнеркәсіpte сыр бояуларды, пластмасса жасау барысында, косметикалық заттардың құрамына қосылады, сол себептен қорғасын иондарының ағзага түс мүмкіндігі өте жоғары. Қорғасын қосылыстары үыттылығы жоғары, токсикалық әсері бойынша сынап, мышьяқ, бенз(а)пирен сияқты қосылыстармен тең түседі. Қорғасынның үытты әсерінің механизмі клеткадағы биомолекулардың бос радикалды тотығу процестерінің белсендіріліп, антиоксиданттық ферменттердің инактивациясымен түсіндіруге болады. Демек, ағзаның интоксикацияға үшірау қаупінің алдын алу үшін тотығудың тізбекті реакциясына қатысатын агрессивті радикалдардың түзілу қарқындылығын тежейтін мүмкіндікті қарастыру қажет. Ол үшін бүгінгі таңда липопероксидация өнімдерінің концентрациясын төмендетуге қабілетті заттардың бар екендігі белгілі. Аскын тотығу процестерін тежеу мақсатында бос радикалды тотығу үрдістерін іске қосуға қабілетті болып келетін ксенобиотиктерді ҳелаттау және сорбциялау әдістерін пайдалануға болады. Біздің зерттеулерде күріш қауызының негізіндегі сорбенттердің клеткалар мембранныңдағы аскын тотығу процестерін тежеу тұрғысында қарастырылып отырған детоксикациялық әлеуеті бағаланды. Тәжірибелер in vivo жағдайында жүргізілді. Лаборатория жануарларын қорғасын тұздарымен ұзак мерзімді уландау барысында күріш қауызының негізіндегі препараттарды құнделікті тағам рационына қосып берілді. Тәжірибелер көрсеткендей, рационға күрішқауызының негізіндегі сорбенттерді қосу арқылы ұзақмерзімді улану кезінде туындаған токсикалар ауырпашилықты едәүір дәрежеде төмендетуге болады. Оның дәлелі тотығу стресінің көрсеткіштері болатын аскын тотықтық өнімдер мөлшерінің азаюы. Жасалған зерттеулерде ұсақталған карбонизация үрдісінен өткен күріш қауызы басқа түрлерімен салыстырғанда жоғары детоксикациялық қасиетке ие болатыны анықталды; гепатоциттердегі аскын тотығу процестерінің қарқыны және антиоксидантты ферменттердің белсенділігі уландырылған жануарларда бакылау көрсеткіштеріне шамалас болды. Сонымен алынған нәтижелердің негізінде карбонизацияланған күріш қауызынан жасалған сорбенттерді пайдалану детоксикациялық терапияда және ауыр металдармен уланудың алдын алу жолдарын іздестіруде жоғары перспективті бағыт болатыны жайлы қорытынды түюгө болады.

**Түйін сөздер:** ауыр металдар, күріш қауызы, аскын тотығу.

### Сокращения и обозначения

АОА-антиоксидантная активность, ДК-диеновые конъюгаты, ИКРШ-измельченная карбонизированная рисовая шелуха, КРШ-карбонизированная рисовая шелуха, МДА-малоновый диальдегид, ПОЛ-перекисное окисление липидов, РШ-рисовая шелуха, СИ-среда инкубации, СОД-супероксиддисмутаза, СРО-свободно радикальное окисление, СЭ-сuspензия эритроцитов, ЭДТА-этилендиаминтетрауксус-

ная кислота, ЭПВ-экстрактивные пищевые волокна, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-нитрат свинца

### Введение

Современный темп жизни подразумевает большие нагрузки в плане физического и эмоционального характера, которые усугубляются неблагоприятными экологическими факторами, поступлением токсичных веществ в организм, нарушением питания, снижением качества по-

требляемой пищи. Все названные факторы приводят к хронической интоксикации вследствие накопления веществ, обладающих токсичным действием в той или иной степени.

### Материалы и методы исследования

В соответствии с целью и задачами работы эксперименты проводились условиях *in vivo*. В экспериментах использовали белых нелинейных крыс массой 300-350г. Эксперименты проводились согласно следующей схеме (Таблица 1). Животные были разделены на 5 групп по 10 особей: 1 группа – контроль (К), 2-5 опытные группы животных (О1-О4).

В качестве объекта исследования были использованы микросомальные фракции печени, почек, мозга и сердца, а также эритроциты и сыворотка крови экспериментальных животных. По истечении 60 дней эксперимента проводили

забой животных под легким эфирным наркозом, органы крыс и цельную кровь извлекали после декапитации.

Для получения микросомальной фракции навеску (0,5-1,0 г) тканей (печени, почек, мозга и сердца) крыс после промывания в охлажденном физиологическом растворе помещали в 10 мл среды, содержащей 0,85% NaCl и 50мM КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>, (рН 7,4 при 4°C) и гомогенизовали гомогенизатором типа Polytron в течение 90 сек. Гомогенат центрифугировали при 10000g в течение 20 мин. Микросомальную фракцию получали, центрифугируя супернатант при 30000g в течение 60 мин. Надосадочную жидкость осторожно сливали и осадок, представляющий собой фракцию тяжелых микросом, супензировали в среде, содержащей 25% глицерина, 0.1 mM ЭДТА, 0.2 mM CaCl<sub>2</sub>, 10 mM гистидина, (рН 7.2 при 4°C) и хранили при минус 4°C.

**Таблица 1** – Протокол исследований детоксициационных свойств энтеросорбентов на основе рисовой шелухи

Группа животных	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , 10мг/кг массы тела	Рисовая шелуха (РШ), 1,5г/100г массы тела	Карбонизированная рисовая шелуха (КРШ), 1,5г/100г массы тела	Измельченная карбонизированная рисовая шелуха (ИКРШ), 1,5г/100г массы тела
К	-	-	-	-
О1	+	-	-	-
О2	+	+	-	-
О3	+	-	+	-
О4	+	-	-	+

Для получения суспензии эритроцитов кровь центрифугировали 10 минут при 1000 g. После отделения сыворотки эритроциты дважды промывали средой инкубации (СИ), содержащей 150 mMNaCl, 5 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (рН-7,4). Полученную суспензию эритроцитов использовали для проведения исследований. Перед опытом эритроциты предварительно разводили в 10 раз СИ и инкубировали 5мин при 37°C.

Об интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в микросомах печени, почек, мозга и сердца судили по содержанию ТБК-активных продуктов. Концентрацию малоновогодиальдегида (МДА) определяли по интенсивности развивающейся окраски в результате взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) по методу Н.О. Ohkawai.e.a. [14]. Для индукции процесса ПОЛ в мембрanaх применяли систему Fe<sup>2+</sup>+(0,02мM)+аскорбат (0,5мM).

Окисление проводили в среде гомогенирования в термостатируемых ячейках при 37°C с постоянным перемешиванием. Пробы отбирали через определенные промежутки времени от 0 до 60 мин. За накоплением малоновогодиальдегида (МДА) – продукта ПОЛ, следили по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой, оптическую плотность измеряли при 532 нм. Расчет содержания продуктов, реагирующих с ТБК, проводили с учетом коэффициента молярной экстинкции МДА, равного 1.56×105 M<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>.

Определение содержания вторичных продуктов ПОЛ (ТБК-активных продуктов) в эритроцитах крови. Об интенсивности процессов ПОЛ в эритроцитах кровью можно судить по количеству ТБК-активных продуктов. Для исследования отбирают 0,1 мл эритроцитов, трижды отмытых охлажденным изотоническим раствором NaCl, и гемолизируют внесением в пробирку 2,0

мл дистиллированной воды. К полученному гемолизату добавляют 1,0 мл 17 % раствора ТХУ и 1,0 мл 0,8 % раствора ТБК. Пробу прогревают в кипящей водяной бане в течение 10 мин, затем удаляют осадок белка центрифугированием в течение 10 мин при 3000 об/мин. Интенсивность окраски измеряют при длине волны  $\lambda=540$  нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Для проведения расчетов используют формулу:

$$C = \epsilon * 106 \text{ мкмоль} * 4 \text{ мл} / 156 * 103 * 0,1 * 1000 \text{ мл},$$

где С-концентрация малоновогодиальдегида (МДА);

4 мл-общий объем;

156\*103- коэффициент перевода моль/л в мкмоль/л;

0,1-объем эритроцитарной массы;

1000-коэффициент пересчета.

Определение содержания вторичных продуктов ПОЛ (ТБК-активных продуктов) в сыворотке крови проводили по методу М. Mihara с соавт. (1980). 0,2 мл плазмы крови смешивали с 2 мл 1,4% ортоfosфорной кислоты и 1 мл 0,5% тиобарбитуровой кислоты. Смесь инкубировали в кипящей бане 45 мин, после чего охлаждали и добавляли 2 мл n-бутанола. Пробирки тщательно встряхивали и центрифугировали при 4000 г в течение 20 мин. Верхнюю фазу фотометрировали против контрольной пробы при 532–570 нм. Расчеты проводили с учетом коэффициента экстинции  $1,56 \times 105 \text{ см}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$ .

Содержание диеновых конъюгатов (ДК) оценивали на основе классического метода Z. Placer (1968) в модификации В.Б. Гаврилова, М.И. Мишкорудной (1983). При этом 0,2 мл плазмы вносили в пробирки с плотной крышкой и добавляли 2 мл чистоперегнанной смеси изопропанола гептан (1:1, v/v). Смесь встряхивали в течение 1 часа, после чего добавляли 0,5 мл HCl (pH=2) и еще раз встряхивали 2 мин, затем добавляли 1 мл чистоперегнанного гептана и встряхивали еще 15 мин. Примерно через 1 час верхнюю фазу фотометрировали при 232 нм против контрольной пробы. Использовали коэффициент экстинции  $-2,2 \times 105 \text{ см}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$ .

Для определения активности каталазы использовали набор CatalaseAssayKit, Merck

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) проводили с помощью набора SOD AssayKit-WST, Sigma-Aldrich

Определение общей антиоксидантной активности (АОА) использовали набор Total Antioxidant Capacity AssayKit, Sigma-Aldrich

Статистическая обработка данных. Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программы MicrosoftExcel, рассчитывая среднюю арифметическую параметра, среднее квадратическое отклонение, ошибку средней арифметической. С учетом критерия Фишера-Стьюдента зарегистрированные изменения показателей считали достоверными при  $p \leq 0.05$ .

## Результаты и обсуждение

Для выполнения поставленных задач были исследованы такие показатели перекисного окисления, как содержание малонового диальдегида в исходном образце и после индукции системой Fe<sup>2+</sup>/аскорбат, а также диеновых конъюгатов в микросомах исследованных органов крыс. Для оценки антиоксидантного статуса была определена активность антиоксидантных ферментов: каталазы и супероксиддисмутазы, а также суммарная антиоксидантная активность. Результаты проведенных исследований представлены в таблицах 2-7.

Как видно из таблицы 2, при длительном поступлении солей свинца в организм имело место увеличение продуктов ПОЛ в паренхиме печени. Исследование исходных значений МДА показало, что уровень данного соединения превышал контрольные значения практически в 2 раза. Концентрации таких промежуточных продуктов СРО как диеновые конъюгаты показали, что уровень ДК в гепатоцитах крыс при хронической интоксикации превышал контрольные значения на 27%. Индукция ПОЛ системой Fe<sup>2+</sup>/аскорбат привело к полному окислению всех промежуточных продуктов до конечного соединения. Конечные значения МДА составили в О1 группе животных 28,4 нмоль/мг белка, что превышало контрольные величины в 2,3 раза. Наряду с интенсивным накоплением ТБК-активных продуктов имело место снижение общей АОА по сравнению с интактными животными на 43,6%, СОД на 50% и каталазы на 44%.

Использование рисовой шелухи на фоне длительной интоксикации свинцом позволяет снизить токсическую нагрузку на паренхиму печени. Исследование концентрации МДА и ДК в микросомах печени у животных О2-О4 групп показало, что введение в рацион рисовой шелухи привело к снижению интенсивности накопления МДА и ДК на 11%, а в случае с карбонизированной шелухой отмечено снижение данных показателей на 14% и 16%

соответственно. Измельченная карбонизированная шелуха способствовала снижению концентрация ДК на 21% по отношению в данным во второй опытной группе, тогда как исходный уровень МДА был аналогичен с данными в третьей опытной группе. При анализе данных полученных после индукции процесса липопероксидации выявлено, что степень образования

свободных радикалов, индуцирующих пролонгацию цепной реакции окисления, снижался на 20% при использовании РШ, на 31% при использовании КРШ и на 44% при применении ИКРШ. Следует отметить, что после применения измельченной КРШ, уровень интенсивности процессов ПОЛ снизился практически до контрольного уровня.

**Таблица 2 – Исследование показателей прооксидантного и антиоксидантного статуса в микросомах печени.**

	МДА <sub>исх</sub> , нмоль/мг белка	МДА, нмоль/мг белка	ДК, нмоль/мг белка	АОА, %	Катализ, нг/мл	СОД, Е/мг
К	1,5±0,07	12,5±0,51*	2,8±0,09*	76,5±0,5**	32,5±1,5*	54,2±0,41**
O1	2,8±0,1*	28,4±1,5*	3,8±0,11*	43,2±2,2*	18,2±0,8*	27,2±1,3*
O2	2,5±0,09*	20,5±1,2*	3,4±0,08*	48,9±2,4*	24,5±1,2*	35,8±1,7*
O3	2,4±0,08*	17,5±0,9*	3,2±0,1*	59,8±2,9*	26,9±0,2**	44,8±2,2*
O4	2,4±0,1*	14,2±0,9**	3,0±0,07*	68,2±3,4*	29,3±1,4*	48,2±2,3*

Данные приведены с учетом стандартного отклонения от среднеарифметического значения. \* - степень достоверности в парном тесте составляет  $P \leq 0,05$ , \*\* степень достоверности в парном тесте составляет  $P \leq 0,01$ . (Значения показателей сравнивали в группах контроль, группы 2, 3, 4 против опытной группы 1)

Оценка антиоксидантного статуса гепатоцитов крыс, получавших сорбенты на основе рисовой шелухи на фоне свинцовой нагрузки также имела положительную динамику. Суммарная антиоксидантная активность в микросомах печени повысилась на 13%, 38% и 58% соответственно, по сравнению с животными O1 группы, получавших только нитрат свинца. Тем не менее, данный показатель был ниже контроля на 36%, 22% и 11% соответственно. Введение в рацион животных, подвергнутых затравке нитратом свинца, энтросорбента из РШ способствовало повышению активности ферментов СОД и катализы на 32% и 35%, применение КРШ повысило активность ферментов на 65% и 45%, соответственно. Включение ИКРШ привело к активации СОД на 77% и катализы на 61%. Таким образом, использование ИКРШ способствует практически полному сохранению активности СОД и катализы.

Результаты опытов по оценке антиоксидантного статуса в микросомах почек приведены в таблице 3. Исходные значения концентраций МДА и ДК в группе крыс на фоне затравки нитратом свинца были выше в 2 раза относительно

контрольных значений. При отравлении свинцом отмечено снижение антиоксидантного потенциала клеток на 50%, СОД – на 30% и катализы – на 42%.

Во второй опытной группе (O2) отмечено снижение уровня МДА на 14%, ДК – на 9%, интенсивность образования ТБК-активных продуктов снизилась на 16%, по сравнению с 1 опытной (O1) группой. У крыс, получавших КРШ данные показатели уменьшились на 31%, 22% и 30% соответственно. При введении в рацион измельченной КРШ отмечено снижение процессов СРО, о чем свидетельствует снижение МДА на 38%, ДК – на 32% и интенсивность образования продуктов ПОЛ – на 45%, что практически соответствует данным у контрольных животных.

Относительно антиоксидантного статуса в микровосах почек наблюдалась противоположная тенденция. У крыс при введении в рацион РШ отмечалось повышение АОА на 16,5%, КРШ – на 58% и ИКРШ – на 79%. Для катализы повышение активности составило 11,5%, 40% и 54%, для СОД – 2%, 15% и 29% соответственно. Тем не менее, данные величины были меньше, чем у контрольных животных в среднем на 10%.

**Таблица 3** – Исследование показателей прооксидантного и антиоксидантного статуса в микросомах почек крыс.

	МДА <sub>исх</sub> , нмоль/мг белка	МДА, нмоль/мг белка	ДК, нмоль/мг белка	АОА, %	Катализ, нг/мл	СОД, Е/мг
К	1,1±0,06*	14,1±0,71*	2,1±0,1**	62,1±3,1*	28,3±1,4*	69,3±3,3*
O1	2,3±0,12*	27,5±1,35*	4,1±0,19*	30,2±1,4*	16,5±0,7*	49,2±2,2*
O2	2,0±0,1*	23,2±0,19**	3,8±0,15*	35,2±1,6*	18,4±0,9*	50,2±2,0*
O3	1,6±0,08*	19,2±0,7*	3,2±0,05**	48±2,0*	23,1±1,1*	56,8±1,8*
O4	1,2±0,08*	15,2±0,8*	2,8±0,09*	54,2±1,5*	25,4±1,2*	63,5±0,5**

Данные приведены с учетом стандартного отклонения от среднеарифметического значения. \*- степень достоверности в парном teste составляет  $P \leq 0,05$ , \*\* степень достоверности в парном teste составляет  $P \leq 0,01$ . (Значения показателей сравнивали в группах контроль, группы 2, 3, 4 против опытной группы 1)

В таблице 4 представлены данные, полученные при оценке содержания продуктов ПОЛ в микросомах мозга. Аналогично предыдущим исследованиям хроническое отравление нитратом свинца приводило к активации СРО биомолекул в ткани мозга, что подтверждается повышением уровня МДА и ДК на 50% и 60%, скорость образования агрессивных липоперекисных радикалов возросла на 74% и 92%. Активность ферментов каталазы и СОД сократилась в два и 1,5 раза, суммарная активность АОЗ в 1,8 раза. У крыс,

получавших РШ отмечено снижение степени окисления липидов, при этом концентрация МДА была ниже на 7%, а у получавших КРШ концентрация МДА была ниже на 16%, тогда как в случае с ИКРШ этот показатель был ниже на 29%, для ДК снижение составило 16%, 31% и 35%, а скорость образования СР уменьшилась на 28%, 40% и 45% соответственно. Следовательно, у животных пятой опытной группы показатели уровня продуктов ПОЛ были идентичны контрольным величинам.

**Таблица 4** – Исследование показателей прооксидантного и антиоксидантного статуса в микросомах мозга крыс.

	МДА <sub>исх</sub> , нмоль/мг белка	МДА, нмоль/мг белка	ДК, нмоль/мг белка	АОА, %	Катализ, нг/мл	СОД, Е/мг
K	2,1±0,1*	15,2±0,5*	3,0±0,1*	68,9±3,4*	20,1±0,9*	62,5±2,0*
O1	3,2±0,09*	29,2±1,2*	4,9±0,2*	38,2±1,7*	10,2±0,4*	42,1±2,1*
O2	3,0±0,11*	21,0±0,8*	4,1±0,19*	45,4±2,0*	12,1±0,5*	45,4±2,5*
O3	2,7±0,0,08*	17,4±0,7*	3,4±0,12*	52,1±2,4*	17,9±0,6*	52,1±2,4*
O4	2,3±0,1*	16,1±0,6*	3,2±0,13*	60,1±2,8*	18,5±0,87*	57,2±2,9*

Данные приведены с учетом стандартного отклонения от среднеарифметического значения. \*- степень достоверности в парном teste составляет  $P \leq 0,05$  (значения показателей сравнивали в группах контроль, группы 2, 3, 4 против опытной группы 1)

При оценке результатов функциональной активности АОЗ нервной ткани установлено, что, включение в рацион опытных животных энтеросорбентов на основе рисовой шелухи способствовало сохранению активности ферментов антиоксидантной защиты на фоне хронической интоксикации нитратом свинца. Следует отметить, при использовании различных форм энтеросорбирующих пищевых волокон наблюдалось

повышение суммарной антиоксидантной активности в среднем на 18%, 37% и 57% относительно животных, получавших базовый рацион на фоне длительной интоксикации свинцом. В частности, активность каталазы в микросомах мозга повышалась на 19%, 75% и 81%, активность СОД увеличивалась на 7%, 24 и 35% соответственно. Однако, полного восстановления антиоксидантного потенциала отмечено не было.

Результаты исследований состояния процессов ПОЛ в сердечной мышце представлены в таблице 5.

Как и в предыдущих экспериментах тенденция повышения окислительных процессов сохранялась и в кардиомиоцитах несмотря на то, что сердце обладает меньшей тропностью к ионам свинца по сравнению с другими тканями. Длительная экспозиция ионов свинца привела к повышению образования липоперекисей и СР в

сердечной мышце. Так, уровень МДА и ДК был выше на 46% и 20% по сравнению с данными у интактных животных, отмечена также некоторая интенсификация накопления ТБК-активных продуктов. Уровень МДА после индукции составил 13,4 нмоль/мг белка, что превышало контрольные значения на 22%. Общая антиоксидантная активность снизилась в 1,3 раза, в том числе активность СОД и каталазы уменьшилась в среднем в 2 раза.

**Таблица 5** – Исследование показателей прооксидантного и антиоксидантного статуса в микросомах сердечной мышцы крыс

	МДА <sub>нсх</sub> , нмоль/мг белка	МДА, нмоль/мг белка	ДК, нмоль/мг белка	АОА, %	Катализ, нг/мл	СОД, Е/мг
К	1,3±0,07*	11±0,5*	2±0,1*	66,2±3,0*	25,4±1,2*	41,2±1,8*
O1	1,9±0,1*	13,4±0,6*	2,4±0,09*	52,1±0,47**	12,1±0,5*	21,5±0,9*
O2	1,7±0,09*	12,9±0,55*	2,3±0,07*	54,5±0,38**	13,5±0,48*	26,4±1,25*
O3	1,4±0,07*	12,5±0,58*	2,1±0,08*	58,4±0,51**	18,5±0,87*	35,9±1,7*
O4	1,4±0,07*	11,4±0,45*	2±0,05*	62,1±0,49**	22,4±0,18**	38,1±1,8*

Данные приведены с учетом стандартного отклонения от среднеарифметического значения. \* - степень достоверности в парном teste составляет  $P \leq 0,05$ , \*\* степень достоверности в парном teste составляет  $P \leq 0,01$ . (Значения показателей сравнивали в группах контроль, группы 2, 3, 4 против опытной группы 1)

Использование энтеросорбирующих пищевых волокон положительно повлияло на состояние АОС на фоне свинцовой интоксикации, что подтверждается повышением АО потенциала кардиомиоцитов: включение в рацион РШ способствовало повышению активности каталазы, СОД и общей АОА на 11,5%, 22,7% и 5% соответственно, использование КРШ способствовало повышению активности ферментов антиоксидантной системы на 53%, 27 и 12% соответственно, в случае с введением ИКРШ вышеуказанные показатели возросли на 83%, 80% и 19% соответственно.

Исследование показателей продуктов ПОЛ показали, что эритроциты также оказались сильно подверженными влиянию окислительного стресса возникающего в результате отравления солями свинца (таблица 6). Концентрация МДА в суспензии эритроцитов была выше в опытной группе на фоне токсической нагрузки на 34,5%, ДК – на 81%, что указывает на высокую степень повреждения мембран эритроцитов. Активность каталазы при этом снизилась практически в 3 раза, СОД – в 2,25 раза, а общая АОА – в 1,5 раза.

У крыс, получавших РШ отмечено улучшение общей картины течения окислительного стресса. В частности, в суспензии эритроцитов (СЭ) отмечено снижение концентрации МДА на 11% и 13%, и ДК в среднем на 9% соответственно при использовании карбонизированных форм РШ. Следует отметить, что употребление животными интактной рисовой шелухи не привело к существенным изменениям в концентрации как первичных, так и конечных продуктов ПОЛ в эритроцитах. Однако, отмечено повышение антиоксидантного статуса в эритроцитах животных, получавших РШ. Во второй опытной группе наблюдалось повышение активности каталазы на 56%, СОД на 36,5%, а общей АОА на 12%. В третьей опытной группе данные показатели были выше, чем в первой опытной группе в 2,0, 1,6 и 1,3 раза соответственно. Введение в рацион измельченной карбонизированной рисовой шелухи способствовало повышению активности каталазы в 2,5 раза, СОД – в 2,0 раза, а суммарной АОА – в 1,4 раза.

Результаты исследования сыворотки крови животных показали, что накопление первичных

и конечных продуктов липопероксидации повышалось в 2,3 и 2,0 раза при затравке нитратом свинца. При этом АОА в плазме снизилась на 44%, активность СОД и каталазы на 47% и 29% соответственно (таблица 7).

У животных, получавших рацион, обогащенный энтеросорбирующими пищевыми волокнами на фоне хронической затравки нитратом

свинца отмечено снижение концентрации МДА в сыворотке на 14%, тогда как содержание ДК почти не изменилось. КРШ способствовала снижению образования ДК и МДА на 33% и 22%, ИКРШ – на 37% и 42%. Относительно АО потенциала плазмы крови наблюдалась обратная корреляция с данными полученными при оценке продуктов ПОЛ.

**Таблица 6** – Оценка показателей прооксидантного и антиоксидантного статуса в суспензии эритроцитов крыс.

	МДА, нмоль/мл СЭ	ДК, нмоль/мг белка	АОА, %	Катализ, нг/мг Hb	СОД, Е/мг Hb
K	27,8±1,3*	3,2±0,16*	79,2±3,9*	36,1±1,8*	1,8±0,08*
O1	37,4±1,7*	5,8±0,29*	52,1±2,6*	12,3±0,62*	0,8±0,04*
O2	36,0±1,5*	5,6±0,28*	58,6±2,8*	19,2±0,96*	1,1±0,05*
O3	33,9±1,6*	5,3±0,2*	65,0±3,2*	25,3±1,2*	1,3±0,05*
O4	32,7±1,6*	5,0±0,18*	73,5±3,5*	30,8±1,4*	1,6±0,06*

Данные приведены с учетом стандартного отклонения от среднеарифметического значения. \*- степень достоверности в парном тесте составляет  $P \leq 0,05$  (Значения показателей сравнивали в группах контроль, группы 2, 3, 4 против опытной группы 1)

**Таблица 7** – Исследование показателей прооксидантного и антиоксидантного статуса сыворотки крови крыс.

	МДА, нмоль/мг белка	ДК, нмоль/мг белка	АОА, %	Катализ, нг/мл	СОД, Е/мл
K	11,2±0,56*	1,5±0,08*	75,4±3,6*	21,2±1,0*	42,3±0,35**
O1	21,3±1,01*	3,4±0,17*	42,1±2,1*	15,2±0,76*	22,3±1,1*
O2	18,5±0,9*	3,3±0,15*	48,9±2,45*	16,5±0,83*	29,6±1,4*
O3	16,5±0,83*	3,0±0,13*	54,2±2,7*	18,2±0,9*	35,4±1,7*
O4	13,5±0,68*	2,0±0,1*	65,2±3,2*	20,2±0,15**	39,2±1,5*

Данные приведены с учетом стандартного отклонения от среднеарифметического значения. \*- степень достоверности в парном тесте составляет  $P \leq 0,05$ , \*\* степень достоверности в парном тесте составляет  $P \leq 0,01$ . (Значения показателей сравнивали в группах контроль, группы 2, 3, 4 против опытной группы 1)

Во второй опытной группе АОА была выше на 16%, в третьей опытной группе на 28,7%, в четвертой опытной группе на 54% по сравнению с группой крыс, с моделью хронического отравления нитратом свинца. Уровень каталазы повышался при обогащении рациона РШ на 8%, СОД – на 32,7%. При использовании КРШ активность каталазы возросла на 19,7%, СОД -на 58,7%, а в случае с ИКРШ активность ферментов антиоксидантной защиты увеличилась для каталазы и СОД на 32,8% и 75% соответственно.

Таким образом, при интоксикации нитратом свинца процессы перекисного окисления липидов наиболее интенсивно протекают в эри-

троцитах, тогда как в печени, почках и мозге экспериментальных животных, скорость свободно-радикального окисления была практически на одном уровне.

### Заключение

Тяжелые металлы являются наиболее опасными поллютантами антропогенного характера. Они распространены повсеместно и, как правило, сохраняются в окружающей среде, что позволяет им мигрировать и аккумулироваться в пищевой цепи. До сих пор нет эффективных способов снижения концентрации тяжелых металлов

до безопасных значений в окружающей среде. Тяжелые металлы обладают широким спектром патологического воздействия и могут приводить к развитию необратимых изменений в органах и системах организма. Тяжелые металлы, попадая в биологические системы, приводят к развитию окислительного стресса, который является причиной повреждения ДНК, модификации белка, структуры и целостности биологических мембран и биомолекул [15-17]. Основным механизмом токсичности отдельных металлов является образование активных форм кислорода (АФК). Кроме того, проявление токсичности тяжелых металлов может быть опосредовано истощением резерва глутатиона и связыванием с сульфидрильными группами белков [15,18,19]. Токсичность ионов Pb проявляется в результате инактивации антиоксидантных ферментов, влияния на структуру мембран и повреждения ДНК [20-21].

Анализ литературных данных показывает, что в основе проявления токсичности тяжелых металлов лежит развитие окислительного стресса, сопровождающегося интенсификацией свободно-радикального окисления. В наших исследованиях, в группе животных, подвергнутых хронической интоксикации солями свинца отмечено повышение уровня МДА в 2 раза в микросомальных препаратах почек, мозга, эритроцитах и сыворотке крови и в 2,5 раза в микросомах печени. Относительно микросом кардиомиоцитов существенного повышения малонового диальдегида нами не отмечено. Накопление диеновых конъюгатов отмечено в почечной, мозговой и печеночной тканях, в микросомах сердца уровень ДК повысился на 20%, а в суспензии эритроцитов и плазме крови крыс на 35% и 40% соответственно, по сравнению с данными в контрольной группе. При анализе показателей общей антиоксидантной активности отмечено снижение защитных функций антиоксидантной системы в 1,5 раза в паренхиме печени, в 2 раза в микросомах мозга и почек, в 1,8 раза в эритроцитах и в сыворотке крови. В кардиомиоцитах отмечено понижение антиоксидантной активности ферментов на 20%. Во всех исследованных образцах наблюдалось понижение активности каталазы в 2 раза, СОД в 1,5 раза в микросомах мозга и почек, в 2 раза в печени, сердце и сыворотке крови, в 2,5 раза в эритроцитах. Полученные данные свидетельствуют об интенсификации свободно-радикальных процессов в организме животных при хронической интоксикации свинцом.

В связи с тем, что решение проблемы связанной с ограничением поступления тяжелых металлов в окружающую среду и в последствии в организм человека является на сегодняшний день практически невыполнимой задачей, во многих регионах земного шара крайне актуально стоит вопрос о возможности снижения токсичного эффекта тяжелых металлов [8-9]. Основой механизма повреждающего воздействия тяжелых металлов является повышение окислительного стресса, в связи с чем большинство работ посвящено исследованию возможности применения антиоксидантов для снижения токсической нагрузки ксенобиотиков, которые в большинстве научных изысканий отмечены положительным эффектом [11,22-24]. Также можно отметить большое количество работ посвященных применению хелатирующих агентов для снижения токсичности тяжелых металлов при остром отравлении [25-26].

Работы по использованию сорбентов для снижения повреждающего влияния разного рода токсикантов весьма малоочисленны, тем не менее, имеются современные данные о возможности подавления процессов свободно-радикального окисления в клетках при первоначальном употреблении энтеросорбентов на фоне интоксикаций [27-28].

В последние десятилетия повысился интерес к функциональному питанию как альтернативному пути решения проблемы хронической интоксикации ксенобиотиками. При токсической нагрузке организм нуждается в повышенном количестве нутриентов для успешной адаптации к неблагоприятным факторам окружающей среды. Пищевые волокна также являются важным алиментарным компонентом, который согласно исследованиям играют роль энтеросорбентов для токсикантов, в том числе тяжелых металлов, тем самым снижая риск повреждения клеток и тканей организма [29-30].

Источником пищевых волокон может выступать разное растительное сырье, в том числе такое, которое считается отходами производства. Для наших исследований была использована рисовая шелуха. Рисовая шелуха (РШ) по своей природе состоит из ряда органических соединений, основными из которых являются целлюлоза и лигнин, пентозаны, небольшое количество белка, витамины и минеральная часть, которую представляет кремнезем. Она по структуре представляет собой волокнистое вещество, которое способно сорбировать некоторые химические вещества.

Сорбционные свойства рисовой шелухи связаны с наличием лигнина, который применяют для получения различных сорбентов, в том числе и энтеросорбентов [31].

Карбонизация РШ приводит к изменению ее структуры и свойств, в том числе и поглотительной активности. В наших исследованиях включение карбонизированной РШ в рацион лабораторных животных позволило существенно снизить скорость образования агрессивных радикалов и поддержать антиоксидантный потенциал клеток практически на уровне контроля, несмотря на длительную экспозицию нитрата свинца. Измельчение карбонизированной РШ приводит к повышению положительного эффекта, что скорее всего связано с увеличением взаимодействующей поверхности. В составе разных форм РШ отсутствуют вещества, которые могли бы выступить в качестве экзогенных антиоксидантов, следовательно положительный эффект обуславливается высокими сорбционными и хелати-

рующими свойствами РШ. Сорбция ионов свинца в результате препятствует проявлению его конкретного действия и способности подавлять синтез антиоксидантных ферментов.

Таким образом можно заключить, что введение в рацион животных рисовой шелухи при хронической затравке крыс солями свинца приводило к снижению интенсивности процессов ПОЛ и способствовало сохранению активности ферментов АОЗ, что вероятно связано с сорбцией определенного количества ионов свинца энтеросорбирующими пищевыми волокнами. Включение в рацион рисовой шелухи позволяет снизить интенсивность процессов ПОЛ, индуцированных поступлением ионов свинца в организм. Тем не менее, при сравнении эффективности следует отметить, что наиболее высокий результат показывает измельченная карбонизированная шелуха.

**Конфликт интересов.** Авторы не имеют конфликта интересов.

## Литература

1. Li A.M. Ecological determinants of health: food and environment on human health // Environ Sci Pollut Res Int. – 2017. – №24. – Vol.10. – P.9002-9015.
2. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals // Geneva: World Health Organization –2018. –100 p.
- 3 Корбанова А. И., Сорокина Н.С., Молодкина Н. Н. Свинец и его действие на организм // Мед.труда и пром. экология. – 2001. – №5. –С. 29–34
- 4 Аскарова А.Е., Нурмухамбетов А.Н. Свинец-индуцированные патологические состояния (обзор литературы) // Вестник КазНМУ. – 2013. – № 3 . –T.2. – С. 54–56.
- 5 Сосновская Л.В., Мукушева Г.Б. Сравнительный анализ показателей ПОЛ-АОЗ в органах и крови экспериментальных животных при воздействии свинца // Вестник КарГУ. – 2010. – № 3 . – T.59. –С.23-28.
- 6 Рембовский В.Р., Могиленкова Л.А. Естественные процессы детоксикации химических веществ, загрязнителей среды обитания человека// Экология. –2015. – Т.15 – С.216-239.
- 7 Szentmihályi K. Metal element homeostasis and oxidative stress in pathological processes//Orv Hetil. – 2019 – №160. – Vol.36. – P. 1407-1416.
- 8 Mitra P., Sharma S., Purohit P., Sharma P. Clinical and molecular aspects of lead toxicity: An update // Crit Rev Clin Lab Sci. – 2017. – №54. – Vol.7-8. – P.506-528.
- 9 Ghanwat G.H, Patil A.J, Patil J.A, Kshirsagar M.S, Sontakke A, Ayachit R.K. Biochemical effects of lead exposure on oxidative stress and antioxidant status of battery manufacturing workers of Western Maharashtra, India//J Basic Clin.Physiol.Pharmacol. – 2016. – № 27. Vol.2. – P.141-146,
- 10 Долматова И. А., Латыпова С. Ш. Продукты функционального назначения в питании населения // Молодой ученый. — 2016. — №7. — С. 63-65.
- 11 Alnahdi H.S., Sharaf I.A. Possible prophylactic effect of omega-3 fatty acids on cadmium-induced neurotoxicity in rats' brains // Environ. Sci.Pollut. Res. Int. – 2019 . – №26. – Vol.30. – P. 31254-31262.
- 12 Khan R., Ali S., Mumtaz S., Andleeb S., Ulhaq M., Tahir H.M., Khan M.K.A., Khan M.A., Shakir H.A. Toxicological effects of toxic metals (cadmium and mercury) on blood and the thyroid gland and pharmacological intervention by vitamin C in rabbits // Environ SciPollut Res Int. – 2019 . – №26. – Vol.16. – P.16727-16741.
- 13 Тарасенко Ю.А., Геращенко И.И., Картель Н.Т. Энтеросорбция как метод выведения из организма тяжелых металлов и радионуклидов // Поверхность. – 2014. – Вып. 6. – С. 110-112.
- 14 Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction// Anal Biochem.1979. – № 95. – P.351-358.
- 15 WuX, CobbinaS.J., MaoG, XuH., ZhangZ, Yang L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment // Environ SciPollut Res Int. –2016. – №23. – Vol.9. – P.8244-59

- 16 Rehman K., Fatima F., Waheed I., Akash M.S.H.. Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health // Cell Biochem. – 2018. №119. – Vol. 1. – P.157 –184.
- 17 Fu Z., Xi S. The effects of heavy metals on human metabolism // ToxicolMech Methods. – 2020. – №30. Vol.3. – P.167-176.
- 18 Lee H.J., Lee J.H., Lee S.M., Kim N.H., Moon Y.G., Tak T.K., Hyun M., Heo J.D. Cadmium induces cytotoxicity in normal mouse renal MM55.K cells.//Int J Environ Health Res. 2020. – №:1. – Vol.10.- doi: 10.1080/09603123.2020.1739236.
- 19 Sattar A., Xie S., Hafeez M.A., Wang X., Hussain H.I., Iqbal Z., Pan Y., Iqbal M., Shabbir M.A., Yuan Z. Metabolism and toxicity of arsenicals in mammals // Environ ToxicolPharmacol. – 2016. – № 48. – P.214-224.
- 20 Ahamed M., Siddiqui M.K. Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions // ClinChimActa. – 2007. – № 383. – Vol.1-2. – P. 57-64.
- 21 Zimet Z., Bilban M., Fabjan T., Suhadolc K., Poljšak B., Osredkar J. Lead Exposure and Oxidative Stress in Coal Miners // Biomed Environ Sci. – 2017. . – № 30. –Vol.11. – P.841 –845.
- 22 Mohajeri M., Rezaee M., Sahebkar A. Cadmium-induced toxicity is rescued by curcumin: A review // Biofactors. – 2017. – №43. –Vol.5. –P. 645-661.
- 23 García-Niño W.R., Pedraza-Chaverrí J. Protective effect of curcumin against heavy metals-induced liver damage // Food ChemToxicol. – 2014. – № 69. – P.182-201.
- 24 Ibrahim A.T.A., Banaee M., Sureda A. Selenium protection against mercury toxicity on the male reproductive system of Clariasgariepinus // Comp.Biochem.Physiol.Toxicol.Pharmacol. – 2019. – №225.- doi: 10.1016/j.cbpc.2019.108583.
- 25 Smith S.W. The role of chelation in the treatment of other metal poisonings // J. Med Toxicol. – 2013. – №9. – Vol.4. –P.355-69.
- 26 Kim J.J., Kim Y.S., Kumar V.. Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies // J. Trace Elem. Med. Biol. – 2019. – № 1. – Vol.54. – P. 226-231.
- 27 Shevchuk O., Snezhkova E., Sarnatskaya V., MikhailenkoV, Glavin A., Makovetska L., Bardakhivska K., Birchenko I., Kozynchenko O., Nikolaev V. Effect of Primary and Secondary Beads of Carbon Enterosorbent on Haematological Parameters and Oxidative Stress Development Caused by Melphalan in Rats // Medicina (Kaunas). – 2019. – №55. – Vol. 9.- doi: 10.3390/medicina55090557.
- 28 Sarnatskaya V., Mikhailenko V., Prokopenko I., Gerashchenko B.I., Shevchuk O., Yushko L., Glavin A., Makovetska L., Sakhno L., Sydorenko O., Kozynchenko O., Nikolaev V. The effect of two formulations of carbon enterosorbents on oxidative stress indexes and molecular conformation of serum albumin in experimental animals exposed to CCl4 // Heliyon. – 2020. – №6. – Vol.1. –doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e03126.
- 29 Лисицын А.Б., Устинова А.В., Сурнина А.И. Смеси нутрицевтиков с очищающим и обогащающим эффектами для функциональных продуктов на мясной основе // Исследования/Пищевые волокна. – 2011. – №5. – С.32-38.
- 30 Степанова Е.А. Сорбция свинца и кадмия биологически активными добавками к пище из растительного сырья в биопрофилактике загрязнения среды обитания человека тяжелыми металлами // дисс. на соискание степени к.б.н. – Нижний Новгород, 2006. – 135 с.
- 31 Купчик Л.А., Денисович В.А., Салавор О.М., Ничик О.В. Использование мерсеризованной рисовой шелухи в качестве сорбентов ионов Cd(II), Pb(II) и SR(II) из растворов // Вестник Витебского государственного технологического университета. – 2017 –№2. – С. 95-100.

## References

- 1 Ahamed M, Siddiqui M.K. (2007) Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions. Clin.Chim.Acta, vol.1-2, no 383, pp. 57-64.
- 2 Alnahdi H.S., Sharaf I.A. (2019) Possible prophylactic effect of omega-3 fatty acids on cadmium-induced neurotoxicity in rats' brains. Environ. Sc.iPollut. Re.s Int., vol.30 no 26,, pp. 31254-31262.
- 3 Askarova A.E., Nurmuhambetov A.N. (2013) Svinec-inducirovannye patologicheskie sostojaniya (obzorliteratury). Vestnik.KazNMU, vol.2, no 3, pp. 54–56.
- 4 Dolmatova I. A., Latypova S. Sh. (2016) Produkty funkcional'nogo naznachenija v pitaniu naselenija. Molodojuchenyj, no 7, pp. 63-65.
- 5 Fu Z., Xi S. (2020) The effects of heavy metals on human metabolism. ToxicolMechMethods, vol.3, no 30, pp.167-176.
- 6 García-Niño W.R., Pedraza-Chaverrí J. (2014) Protective effect of curcumin against heavy metals-induced liver damage. Food ChemToxicol, no 69, pp.182-201.
- 7 Ghanwat G.H, Patil A.J, Patil J.A, Kshirsagar M.S, Sontakke A, Ayachit R.K. (2016) Biochemical effects of lead exposure on oxidative stress and antioxidant status of battery manufacturing workers of Western Maharashtra, India. J. Basic. Clin.Physiol. Pharmacol., vol.2, no 27, pp.141-146.
- 8 Ibrahim A.T.A., Banaee M., Sureda A. (2019) Selenium protection against mercury toxicity on the male reproductive system of Clariasgariepinus. Comp.Biochem.Physiol..Toxicol.Pharmacol, no 225, doi: 10.1016/j.cbpc.2019.108583.
- 9 Khan R., Ali S., Mumtaz S., Andleeb S., Ulhaq M., Tahir H.M., Khan M.K.A., Khan M.A., Shakir H.A. (2019) Toxicological effects of toxic metals (cadmium and mercury). on blood and the thyroid gland and pharmacological intervention by vitamin C in rabbits. Environ SciPollut Res Int., vol.16, no 26, pp.16727-16741.
- 10 Kim J.J., Kim Y.S., Kumar V. (2019). Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. J Trace Elem. Med. Biol, vol.54, no 1, pp. 226-231.

- 11 Korbanova A. I., Sorokina N.S., Molodkina N. N. (2001) Svinec i ego dejstvie na organizm Med.trudaiprom.jekologija, no 5, pp. 29–34.
- 12 Kupchik L.A., Denisovich V.A., Salavor O.M., Nichik O.V. (2017) Ispol'zovanie merserizovannoj risovoj shelushi v kachestve sorbentov ionov CD(II), PB(II). i SR(II). Iz rastvorov Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo tehnologicheskogo universiteta, no 2, pp.95-100.
- 13 Lee H.J., Lee J.H., Lee S.M., Kim N.H., Moon Y.G., Tak T.K., Hyun M, Heo J.D. (2020) Cadmium induces cytotoxicity in normal mouse renal MM55.K cells. Int.J.Environ.Health Res., vol.10, no 1, doi: 10.1080/09603123.2020.1739236.
- 14 Li A.M. (2017) Ecological determinants of health: food and environment on human health. EnvironSciPollut Res. Int., vol.10, no 24, pp.9002-9015.
- 15 Lisicyn A.B., Ustinova A.V., Surnina A.I. Smesi nutricevtikov s ochishhajushhim i obogashhajushimi effektami dlja funkcion'nyh produktov na mjasnoj osnove (2011). Issledovanija / Pishhevy evolokna, no 5, pp.32-38.
- 16 Mitra P., Sharma S., Purohit P., Sharma P. (2017) Clinical and molecular aspects of lead toxicity: An update. Crit Rev Clin Lab Sci, vol.7-8, no 54, pp.506-528.
- 17 Mohajeri M., Rezaee M., Sahebkar A. Cadmium-induced toxicity is rescued by curcumin: A review (2017). Biofactors., vol.5, no 43, pp.645-661.
- 18 Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction Anal. Biochem.. no 95, pp.351-358.
- 19 Rehman K., Fatima F., Waheed I., Akash M.S.H. (2018) Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health. J. Cell Biochem., vol.1, no 119, pp.157-184.
- 20 Rembovskij V.R.,Mogilenkova L.A. (2015) Estestvennye process detoksikacii himicheskikh veshhestv, zagrjaznitej sredy obitanija cheloveka. J.ekologija, vol.15, pp.216-239.
- 21 Sarnatskaya V., Mikhailenko V., Prokopenko I., Gerashchenko B.I., Shevchuk O., Yushko L., Glavin A., Makovetska L., Sakhno L., Sydorenko O., Kozynchenko O., Nikolaev V. (2020) The effect of two formulations of carbon enterosorbents on oxidative stress indexes and molecular conformation. Heliyon. , vol.1, no 6, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e03126.
- 22 Sattar A., Xie S., Hafeez M.A., Wang X., Hussain H.I., Iqbal Z., Pan Y., Iqbal M., Shabbir M.A., Yuan Z. (2016) Metabolism and toxicity of arsenicals in mammals. Environ ToxicolPharmacol, no 48, pp.214-224.
- 23 Shevchuk O., Snezhkova E., Sarnatskaya V., Mikhailenko V., Glavin A., Makovetska L., Bardakhivska K., Birchenko I., Kozynchenko O., Nikolaev V. (2019) Effect of Primary and Secondary Beads of Carbon Enterosorbent on Haematological Parameters and Oxidative Stress Development Caused by Melphalan in Rats. Medicina (Kaunas), vol.9, no 55, doi: 10.3390/medicina55090557.
- 24 Smith S.W. (2013) The role of chelation in the treatment of other metal poisonings. J. Med.Toxico.l., vol.4, no 9, pp.355-69.
- 25 Sosnovskaja L.V., Mukusheva G.B. (2010) Sravnitel'nyj analiz pokazatelej POL-AOZ v organah krovijeksperimental'nyhzhivotnyh privozdejstviisvinca. Vestnik KarGU, vol.59, no 3, pp.23-28.
- 26 Stepanova E.A. (2006) Sorbcija svinca I kadmija biologicheski aktivnymi dobavkami k pishhe iz rastitel'nogo syr'ja v bioprofilaktike zagrjaznenija sredy obitanija cheloveka tjazhelymi metallami. diss. na soiskani estepeni k.b.n., Nizhnij Novgorod., p.135.
- 27 Szentmihályi K. (2019) Metal element homeostasis and oxidative stress in pathological processes. Orv. Hetil.. vol.36, no 160, pp. 1407-1416.
- 28 Tarasenko Ju.A., Gerashhenko I.I., Kartel' N.T. (2014) Enterosorbciya kak metod vyvedenija iz organizma tjazhelyh metallov I radionuklidov. Poverhnost', vyp. 6, pp. 110-112
- 29 World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals (2018). Geneva: World Health Organization, 100 p.
- 30 Wu X., Cobbina S.J., Mao G., Xu H., Zhang Z., Yang L. (2016) A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. Environ SciPollut Res., no 23, pp.8244.
- 31 Zimet Z., Bilban M., Fabjan T., Suhadolc K., Poljšak B., Osredkar J. (2017). Lead Exposure and Oxidative Stress in Coal Miners. Biomed Environ Sci., vol.11, no 30, pp.841-845.

---

## МАЗМҰНЫ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

### 1-бөлім Ботаника

### Section 1 Botany

### Раздел 1 Ботаника

Жумагул М.Ж., Курмантаева А.А., Мария Хен Шығыс Қазақстанда кездесетін <i>Rhodiola rosea L.</i> дәрілік өсімдігінің анатомиялық құрылымы ерекшеліктері.....	4
Колодяжный А.Г., Карабаев Н.А. Надземная фитомасса пожнивных сидеральных культур на орошаемых пашнях Чуйской долины Кыргызстана .....	15
Корбозова Н.К., Терлецкая Н.В., Кудрина Н.О., Ахтаева Н.З. Анатомический анализ корневища и корня <i>Rhodiola semenowii</i> .....	24
Рахимбердиева Ж.Ш., Каржасубекова Ж.Ж., Гемеджисеева Н.Г., Калиева А.Н. Содержание и компонентный состав эфирных масел эндемичных видов полыни Южного Казахстана .....	33

### 2-бөлім Биотехнология

### Section 2 Biotechnology

### Раздел 2 Биотехнология

Абдулжанова М.А., Савицкая И.С., Кистаубаева А.С. Микрокапсулирование пробиотика в матрицу природных полимеров .....	44
Kairat D., Smagulova A., Kiyan V. Investigation of Galleria mellonella microbiome to determine its species composition .....	53
Кудайбергенова А.К., Ахметсаудыкова Ш.Н., Бегдильдаева Н.Ж., Нургазина А.С. Возможности применения молочнокислых бактерий, выделенных из шубата, в производстве пробиотического препарата для бройлеров.....	61
Хасенова Э.Ж., Аюпова А.Ж., Молдагулова Э.Б., Сарсенова А.С., Молдагулова Н.Б., Нагызбеккызы Э. Выделение бактерий, перспективных для получения органоминерального биоудобрения, из осадков сточных вод .....	74

### 3-бөлім Молекуалық биология және генетика

### Section 3 Molecular biology and genetics

### Раздел 3 Молекулярная биология и генетика

Джекебеков К.К., Ақылбаева К.К., Мелисбек А.М., Жұнушов А.Т., Бурашев Е.Д., Орынбаев М.Б., Султанкулова К.Т. Генетическое разнообразие штаммов вируса гриппа птиц А/H3N8 .....	86
---	----

### 4-бөлім Зоология

### Section 4 Zoology

### Раздел 4 Зоология

Саимова Р.У., Резанов А.Г., Есимов Б.К. Оңтүстік-Шығыс Қазақстан агроценоздарындағы барылдауық қоныздардың (Coleoptera, Carabidae) таксондық құрамы мен қоректік байланысы.....	98
Сергалиев Н.Х., Сарипов А.Н., Туменов А.Н., Бакиев С.С. Бекіретұқымдас балық өндіріштерін таңбалая әдістерінің тиімділігі .....	105

### 5-бөлім Адам және жануарлар физиологиясы

### Section 5 Human and animal physiology

### Раздел 5 Физиология человека и животных

Синявский Ю.А., Арапбаева А.Н., Тугунов Д.Н., Дерипаскина Е.А., Кучербаева М.М., Мурзахметова М.К. Оценка детоксикационного потенциала сорбентов на основе рисовой шелухи.....	116
---	-----