

ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

# ХАБАРШЫ

Биология сериясы

---

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

# ВЕСТНИК

Серия биологическая

---

AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

# EXPERIMENTAL BIOLOGY

---

№3 (88)

Алматы  
“Қазақ университеті”  
2021



ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498

# ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ №3 (88) қыркүйек



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

Қуәлік № 16494-Ж

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

## ЖАУАПТЫ ХАТШЫ

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

## РЕДАКЦИЯ АЛҚАСЫ:

**Бисенбаев А.Қ.**, б.ғ.д., ҚР ҰҒА академигі (ғылыми редактор) (Қазақстан)  
**Бекманов Б.О.**, б.ғ.к., доцент (ғылыми редактордың орынбасары) (Қазақстан)  
**Төлеуханов С.Т.**, б.ғ.д., профессор (Қазақстан)  
**Айташева З.Г.**, б.ғ.д., профессор (Қазақстан)  
**Кистаубаева А.С.**, б.ғ.к. (Қазақстан)  
**Ивашенко А.Т.**, б.ғ.д., профессор (Қазақстан)  
**Мухитдинов Н.М.**, б.ғ.д., профессор (Қазақстан)  
**Нуртазин С.Т.**, б.ғ.д., профессор (Қазақстан)  
**Турусбеков Е.К.**, б.ғ.к., қауымдастырылған профессор (Қазақстан)

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

## ТЕХНИКАЛЫҚ ХАТШЫ

Смекенов Изат, PhD (Қазақстан)

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

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



## Жоба менеджері

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

## Редакторлары:

Гульмира Бекбердиева  
Агила Хасанқызы

## Компьютерде беттеген

Айгүл Алдашева

ИБ № 14932

Пішімі 60x84 <sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Көлемі 12,8 б.т. Тапсырыс № 8836.  
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, 2021

1-бөлім  
**БОТАНИКА**

---

Section 1  
**BOTANY**

---

Раздел 1  
**БОТАНИКА**

Ү. Мұқатай<sup>1\*</sup> , М. Кемелбек<sup>1</sup> ,  
С.А. Росс<sup>2</sup> , А.А. Жұбанова<sup>1</sup> 

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

<sup>2</sup>Миссисипи Университеті, АҚШ, Миссисипи қ.

\*e-mail: umit.muhatay@gmail.com

## **ARTEMISIA HEPTAPOTAMICA POLJAK. ЭНДЕМ ТҮРІНІҢ ЖАСТЫҚ ҚҰРАМЫ, САНЫ, ТЫҒЫЗДЫҒЫ**

Мақалада Солтүстік Тянь-Шань аймағында кездесетін *Artemisia heptapotamica* Poljak. эндем түрінің тіршілік ету ортасы, жастық құрамы, саны, тығыздығы және таралу ареалы сипатталды. Өсімдіктердің эндем түрлері ең әлсіз объектілер болып табылады. Олардың тіршілік ету ортасы тар, көбінесе антропогендік факторлардың әсеріне төтеп бермейді, сондықтан оларды зерттеу қазіргі таңда қолға алынуда.

Зерттеу мақсатына сәйкес ценопопуляциялардың саны, тығыздығы, жастық құрамын анықтау А.А. Уранов, О.В. Смирнов және Т.А. Работнов әдістері бойынша жүргізілді. Зерттеуге негізгі 3 популяция алынды, олар – Бартоғай су қоймасы, Іле Алатауы (популяция 1), Шоңжы маңы, Іле Алатауы (популяция 2), Көкпек ауылы, Іле Алатауы (популяция 3) ценопопуляциялары. Барлық ценопопуляцияларда 10 үлгі алаңшалары, 1м<sup>2</sup> салынды және түрдің саны, биіктігі, жайылу диаметрі, гүл саны, гүлдердің ұзындығы, топырақ типі және де қауымдастық типі анықталды.

*Artemisia heptapotamica* Poljak., түрінің барлық ценопопуляцияларындағы саны 170 дарак анықталды. Оның ішінде 1-ценопопуляцияда – 69 дарак, 2-ценопопуляцияда – 47 дарак, 3-ценопопуляцияда – 54 дарак. Зерттеу барысында, ценопопуляция 1-де абсолюттік максимум  $g_2$  (31,43%) піскен генеративтік тобына сәйкес келсе, осы ценопопуляцияда прегенеративтік дарактардағы ересек вегетативтік дарактар саны  $v_1$  (1,43%) өте аз көрсеткіш көрсетті, ересек вегетативтік дарактар санының аз болуы анықталды. Ценопопуляция 2-де қартайған генеративтік дақтарының саны  $g_3$  (46,81%) жоғары көрсеткіш көрсетумен бірге ересек вегетативтік дақтар саны табылмады.

Сонымен бірге алынған материалдарды статистикалық өңдеу SPSS Statistics және Excel-97 бағдарламасымен жүргізілді.

**Түйін сөздер:** *Artemisia heptapotamica* Poljak, эндем, биоалуантүрлілік, Іле Алатауы, жастық құрамы.

U. Mukatay<sup>1\*</sup>, M. Kemelbek<sup>1</sup>, S.A. Ross<sup>2</sup>, A.A. Zhubanova<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>The University of Mississippi, USA, Mississippi

\*e-mail: umit.muhatay@gmail.com

### **Age composition, density, number of the endemic species *Artemisia heptapotamica* Poljak.**

The article describes *Artemisia heptapotamica* Poljak, which is found in the northern Tian Shan region. The habitat, age composition, number, density and distribution range of the endemic species are described. The endemic species are the weakest objects. As their habitat is narrow and often does not withstand the impact of anthropogenic factors, the study shows a lack of vegetative individuals. As a result, the study is prioritized due to the extinction threat. The determination of the number, density, and age composition of coenopopulations was carried out using the methods of A. A. Uranov, O. V. Smirnov, and T. A. Rabotnov. Three main populations were taken for the study – Bartogai reservoir, coenopopulations of The Alatau (population 1), near of Shonji, the Alatau (population 2), villages of Kokpek, the Alatau (population 3). A total of 10 recording sites were constructed in all coenopopulations. 1m<sup>2</sup> plots were constructed and the number of species, height, grazing diameter, number of flowers, flower length, soil type and community type were determined.

170 individuals of *Artemisia heptapotamica* Poljak were identified in all coenopopulations. There are three populations, in the first coenopopulation – 69 individuals, in the second coenopopulation – 47 individuals, in the third coenopopulation-54 individuals. The study found that the absolute maximum of the coenopopulation at first corresponds to the mature generative group  $g_2$  (31.43%). In this coenopopulation the number of adult vegetative individuals in pregenerative individuals showed a very small

indicator v1(1.43%), a small number of adult vegetative individuals. In coenopopulation 2, the number of adult vegetative spots with a high g3 index (46.81 %) was not found.

In addition, statistical processing of the obtained materials was carried out by the SPSS Statistics and Excel-97 program.

**Key words:** *Artemisia heptapotamica* Poljak., endemic, biodiversity, the Ili mountain, age composition.

Ү. Мұкатай<sup>1\*</sup>, М. Кемелбек<sup>1</sup>, С.А. Росс<sup>2</sup>, А.А. Жубанова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Университет штата Миссисипи, США, г. Миссисипи

\*e-mail: umit.muhtai@gmail.com

### **Возрастной спектр, плотность, численность эндем вида *Artemisia heptapotamica* Poljak.**

В статье описаны среда обитания, возрастной состав, численность, плотность и ареал распространения эндем вида *Artemisia heptapotamica* Poljak., встречающегося в регионе Северного Тянь-Шаня. Эндем виды растений являются наименее изученными объектами. Ареал их обитания узкий, часто не выдерживает воздействия антропогенных факторов, поэтому их изучение ведется в настоящее время.

В соответствии с целью исследования определение численности, плотности, возрастного состава ценопопуляций проводили по методам А. А. Уранова, О. В. Смирнова и Т. А. Работнова. На исследование были взяты 3 популяции – Бартогайское водохранилище, Заилийского Алатау (популяция 1), вблизи Чунджы, Заилийского Алатау (популяция 2), село Кокпек, Заилийского Алатау (популяция 3). Во всех ценопопуляциях было построено 10 учетных площадок, 1м<sup>2</sup>, и определены численности видов, высота растений, диаметр кроны, количество цветов, длина цветов, тип почвы и тип сообщества.

Всего ценопопуляций вида *Artemisia heptapotamica* выявлено 170 особей. Из них на 1-й ценопопуляции – 69 особей, на 2-й ценопопуляции – 47 особей, на 3-й ценопопуляции – 54 особи. В ходе исследования установлено, что абсолютный максимум ценопопуляции сначала соответствует зрелой генеративной группе g<sub>2</sub> (31,43%), и в этой же ценопопуляции количество взрослых вегетативных особей у прегенеративных особей показало небольшой показатель v<sub>1</sub>(1,43%), небольшое количество взрослых вегетативных особей. В ценопопуляции 2 число стареющих генеративных особей с высоким показателем g<sub>3</sub> (46,81%), а число взрослых вегетативных особей не обнаружено.

При этом статистическая обработка полученных материалов проводилась программой SPSS Statistics и Excel-97.

**Ключевые слова:** *Artemisia heptapotamica* Poljak., эндем, биоразнообразие, Заилийский Алатау, возрастной состав.

## **Кіріспе**

Қазақстан аумағында 165 туыс және 44 тұқымдасқа жататын эндемнің 677 түрі өседі. Қазақстан флорасында эндем өсімдіктерді зерттеу биологиялық әртүрлілік туралы Конвенцияны жүзеге асырудың маңызды аспектісі болып табылады [1]. Биологиялық әртүрлілік туралы Конвенция кез-келген түрдің құндылығы, оның адамзат өмірі үшін пайдалы немесе зиян болуы, оны қорғауға еш күмән тудырмайды деп болжайды. Сонымен қатар, флора мен фаунаны сақтау тек жеке компоненттер үшін ғана емес, сонымен қатар халықтың әртүрлілігі үшін де қажет [2].

Өсімдіктердің эндем түрлері ең әлсіз объектілер болып табылады. Олардың тіршілік ету ортасы тар, көбінесе антропогендік факторлардың әсеріне төтеп бермейді [3].

Солтүстік Тянь-Шаньда Іле Алатауының флорасы жақсы зерттелген, бұл ірі ғылыми орталық – Алматы қаласы осы жотаның орталық бөлігіне жақын орналасуымен түсіндіріледі. «Қазақстан флорасы» жұмысының деректері бойынша осы аймақта өсімдіктердің 2000-ға жуық түрі бар. Ол шығысында Түрген өзені мен батысында Талғар өзенінің арасында 32 км жолақта орналасқан. Оңтүстік шекара Тоғызқас асуына жақын және Батыр мұздығы арқылы, Шелек өзенінің жоғарғы ағысымен Қосбұлақ-2 және тамшы өзендерінің арасындағы тау сілеміне дейін өтеді. Мұнда қорықтың қалған бөлігі – кіші бөлігі орналасқан, онда Іле Алатауының оңтүстік биік таулы қыраттары көрсетілген. Қорғалатын аймақ 1500-4979 м биіктікте орналасқан. қорықтың жалпы ауданы – 71,7 мың га. қорықтың флорасында жоғары сатыдағы өсімдіктердің 1100-ге жуық

түрі бар (бір дереккөзде 1078 саны көрсетілген) [4-5].

Қазақстанның өсімдіктері өте алуан түрлі. Ең бастысы, ең алдымен Еуразияда кең таралған өсімдік түрлерін атап өту керек. Ең үлкен аудандарды дала және шөлді өсімдік түрлері алып жатыр. Олардан басқа тундра, шалғын, орман, бұталы және батпақты түрлері тән [6]. Орта Азияның аридтік аймақтарымен байланысты сирек кездесетін ерекше түрлердің қатарына арша ормандары, умбеллар, саванноид, фриганоид (тікенді бұталы және таулы жусанды) түрлері, ал континенталды Азияның тауларымен криофитті-жастық түрлері жатады [7].

Жусан – Asteraceae тұқымдасына жататын шөптесін немесе жартылай бұталы ірі туыс [8]. Олардың көпшілігі хош иісті, ащы дәмді болып келеді [9].

Қазақстанның барлық жерінде – шөл-шөлейтті далада, таулы жерлерде өсетін *Artemisia* туысының 81 түрі бар. Оның ішінде 17 түрі эндем болып табылады [10]. Олар: *Artemisia tomentella* Trautv. Bull. Soc. Nat. Mosc., *Artemisia albicerata* Krasch, *Artemisia scopaeformis* Ldb. Fl. Ross., *Artemisia quinqueloba* Trautv. Bull. Soc. Nat. Mosc., *Artemisia succullenta* Ldb. Fl. Alt., *Artemisia halophila* Krasch., *Artemisia semiarida* Krasch. et Lavr., *Artemisia heptapotamica* Poljak., *Artemisia aralensis* Krasch., *Artemisia camelorum* Krasch., *Artemisia saissanica* Krasch., *Artemisia amoena* Poljak., *Artemisia transilliensis* Poljak., *Artemisia karatavica*., *Artemisia mucronulata* Poljak., *Artemisia cina* Berg. ex Poljak., *Artemisia valida* Krasch ex Poljak [10].

Жусанның биіктігі 10 – 60 см, кейде 1,5 – 2 м-дей болады. Сабағы тік немесе жерге жайылып өседі. Жапырағы кезектесіп орналасқан, қауырсын тәрізді, шеті тілімденген, кейде бүтін жиекті. Ұсақ гүлі қос жынысты, сары түсті, себеттері көп, әбден піскен кезде шашыраңқы иіліп келген сыпыртқы гүлшоғырын құрайды. Шілдеден қыркүйекке дейін гүлдейді. Жемісі – тұқымша. Жусанның 17 түрі – сирек кездесетін эндемик түрге жатады [11].

*A.heptapotamica* Poljak. – *Жемісу жусаны*. Өсімдік бойы сұрғылт боялған; тамыры ағашты, қалың, көптеген, тығыз жапырақты бедеу өсімділер шығарады, олар бірнеше жеміс сабақтарымен бірге кішкентай, борпылдақ келеді; 20-35(45) см биіктіктегі жеміс сабағы., қалың, ортасынан тармақталған [12].

Жеміссіз өскін және төменгі бағаналы жапырақтар ұзындығы 2,5 см-ге дейін созылған немесе ұзын-сопақша, және ені 1,5 см-ге дейін,

екі жағында да сұрғылт-жасыл, соңғы жапырақ жарнақтары тар сызықты, ұзындығы 2-5 мм, қысқа ұшты.

Ортаңғы бағаналы жапырақтары сағақсыз, құлақшалармен бекітілген, сызықты, шашақгүлден ерекшеленбейді; себеттер овоидті немесе сопақша, тарылған, ұзындығы 3-4 мм., сағақсыз, жоғарыға бағытталған, бүйір бұтақтары бар, көлбеу жоғарыға бағытталған, бірақ сабаққа басылмаған.

Жапырақтары сұр-жасыл, сирек тор тәрізді, сыртқы сопақша, кішкентай, ішкі жағынан әлдеқайда қысқа, жиегінде қабыршақты; гүлдер қос жынысты, оның ішінде 3-4, күлтесі түтік тәрізді, сары. Гүлдеу уақытысы тамыз-қыркүйек айларына келеді [13].

Мақаланың мақсаты эндем *Artemisia heptapotamica* Poljak. түрінің таралған аймағы жағдайындағы санын, тығыздығын және жастық құрамын анықтау

Зерттеу нысаны: *Artemisia heptapotamica* Poljak. популяциялары мен ценопопуляциялары. Осы мақсатқа сәйкесінше қойылған міндеттер:

1. Бартоғай су қоймасы (Сольтүстік Тянь-Шань) жағдайындағы эндем *Artemisia heptapotamica* Poljak. түрі ценопопуляцияларының жастық құрамы, тығыздығы, саны (популяция 1).
2. Шоңжы маңы (Сольтүстік Тянь-Шань) жағдайындағы эндем *Artemisia heptapotamica* Poljak. түрі ценопопуляцияларының жастық құрамы, тығыздығы, саны (популяция 2).
3. Көкпек ауылы (Сольтүстік Тянь-Шань) жағдайындағы эндем *Artemisia heptapotamica* Poljak. түрі ценопопуляцияларының жастық құрамы, тығыздығы, саны (популяция 3).

### Зерттеу материалдары мен әдістері

Геоботаникалық сипаттама Бартоғай су қоймасы, Сольтүстік Тянь-Шань (популяция 1), N 44°20'52" E 78°32'39"; Шоңжы маңы, Сольтүстік Тянь-Шань (популяция 2), N 43°29'9" E 79°2'15"; Көкпек ауылы, Сольтүстік Тянь-Шань (популяция 3), N 43°27'29" E 78°55'34" аймақтарында жасалынды (1-сурет). Экспедиция уақыты: 13-14 қыркүйек 2020 жылы жүргізілді.

Зерттеу мақсатына сәйкес ценопопуляциялардың саны, тығыздығы, жастық құрамын анықтау А.А. Уранов, О.В. Смирнов және Т.А. Работнов әдістері бойынша жүргізілді [14.15].

Өсімдік жамылғысының биоалуантүрлілігін бағалау кезінде геоботаникалық зерттеулер қауымдастықтардың физиономиялық жағынан

ерекшеленетін барлық нұсқаларын қамтығаны жөн. Алайда, нақты сипаттамаға көбінесе зерттелетін аумақтың үлкен ауданы, оның жоғары әртектілігі және т.б. кедергі келтіреді. Бұл жағдайда нақты басымдықтарға байланысты әдет-

тегі немесе, керісінше, сирек кездесетін фитоценоздарды сипаттауға көп көңіл бөлуге болады. Алаңшалар жеткілікті болған кезде іріктеу әдісі талдау нәтижелеріне әсер етпейтіні көрсетілген [16-17].

1-кесте – Зерттеуге алынған аймақтардың ценопопуляциялық сипаттамалары

Зерттеу аймағы			
Ценопопуляция сипаттамалары	Бартоғай су қоймасы (Сольтүстік Тянь-Шань), популяция 1	Шоңжы маңы (Сольтүстік Тянь-Шань), популяция 2	Көкпек ауылы (Сольтүстік Тянь-Шань), популяция 3
Экспозиция	Оңтүстік-шығыс	-	-
Т.д. биіктігі	1140 м	1020 м	1050м
Қауымдастық	Жусанды әр түрлі шөпті	Адыраспан-жусанды жартылай бұталы	Адыраспан-жусанды әр түрлі шөпті
Түрлердің жобалық жабыны	50-60%	35-40%	40-45%
Доминант түрлер	<i>Artemisia heptapotamica</i> Poljak., <i>Limonium michelsonii</i> Lincz., <i>Orostachys spinosa</i> (L.) C.A. Mey., <i>Nanophyton erinaceum</i> (Pall.) Bunge.	<i>Artemisia heptapotamica</i> Poljak., <i>Peganum harmala</i> L., <i>Nanophyton erinaceum</i> (Pall.) Bunge., <i>Orostachys spinosa</i> (L.) C.A. Mey.	<i>Artemisia heptapotamica</i> Poljak., <i>Peganum harmala</i> L.,
Топырақ типі	Тау алды құба топырағы	Тау алды құба топырағы	Тау алды құба топырағы

Жеке қауымдастықтарды сипаттау үшін сынақ алаңшалын салу керек. Бұл алаңдар осы қауымдастық туралы толық түсінік беруі керек, сондықтан олардың саны өте аз болмауы керек. Шөптесін өсімдік қауымдастықтары үшін жеке қауымдастықтардың табиғи аумақтардың мөлшеріне байланысты 1-ден 100 м<sup>2</sup>-ге дейінгі алаңшалар салынады [18].

Тауларда көбінесе кіші алаңшалар қажет болады, өйткені мұнда экологиялық жағдайлардың өзгеруі кеңістіктегі өсімдіктер қауымдастықтарының тез өзгеруін тудырады. Сынақ алаңшалары қатаң анықталған немесе белгілі бір өлшемдер мен құрылымдардан аз болуы мүмкін [19].

Жобалық жабынды анықтаған кезде бақылаушы жоғарыдан төменге қарайды және барлық өсімдіктердің жерүсті бөліктерін жобалық жабын анықталған жалпы аймаққа қатынасын ескереді [20].

Ценопопуляция санын анықтау үшін есептеу бірлігін дұрыс таңдау керек, себебі әр өсімдіктің өзіндік өмір сүру формалары бар. Ценопопуляция санын анықтау барысында міндетті түрде стандартты өлшем бірлігін көрсету керек.

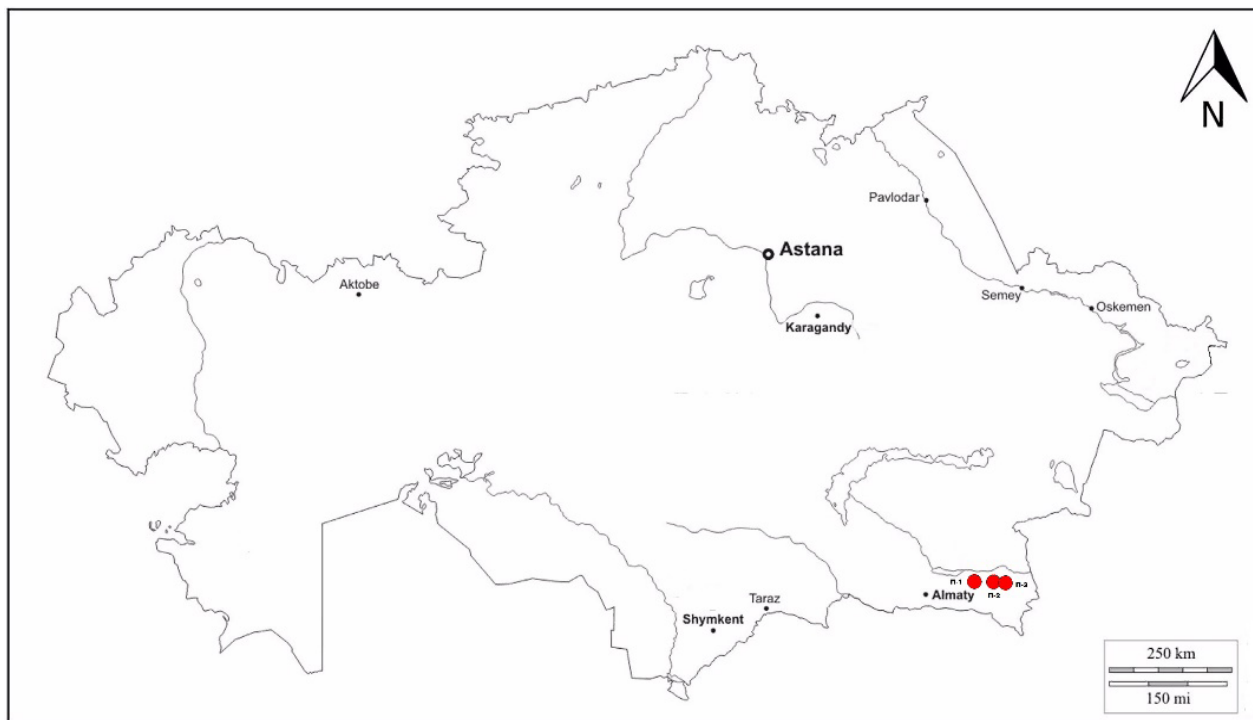
Көптеген өсімдіктердің түрлері үшін олардың санын анықтау мүмкін емес, сондықтан жиі жеке дарактардың тығыздығы туралы түсініктермен

немесе басқа есептеу бірліктерімен жұмыс істеу қажет [21].

Ценопопуляция тығыздығы – бір шаршы метрге (1кв/м) өсетін өсімдік дараларының саны. Бұл көрсеткішті анықтау үшін есептеу ауданының іріктеу әдісі қолданылады. Есептеу ауданы ценопопуляцияның тығыздығы мен даралар санының мөлшеріне байланысты болады. Кіші ценопопуляциялар үшін мұны популяция өрісіндегі барлық дарактарды (ценопопуляцияның жеке дарактары орналасқан аумақ) тікелей санау арқылы жасауға болады [22].

Ценопопуляцияның жастық спектрінің өзгеруі бірнеше көрсеткіштермен бағаланады. Бірінші – жастық индекстің вариация коэффициенті  $C_{\Delta}$ %. Жастық индексті А.А. Уранов (1975) популяцияның жастық құрамын интегралды бағалау үшін ұсынған болатын:  $\Delta = \frac{ki\Delta i}{N}$  бұл жерде  $k_i$  – тығыздық;  $i$  – жастық топ;  $\Delta i$  – жастық топтың салмағы;  $N$  – ценопопуляция тығыздығы [23-24].

Жастық спектрдің динамикасын білу үшін  $I_d$  – онтогенетикалық даму интенсивтілігі ұсынылған. Ол берілген түрдің барлық өсімдіктерінің бұрынғы алаңынан басқа жастық жағдайына өту матрицасының негізінде анықталады:  $I_d$  жастық құрылымы өзгеріп тұратын дарактар үлесіне тең келеді [25].



1-сурет – Зерттеуге алынған *Artemisia heptapotamica* Poljak., таралған аймағының карта-схемасы

**Ареалы.** Ол таулардың шөлді-дала белдеуінде 1000-1500 м биіктікте, қиыршық тасты немесе сазды топырақтарда және қызыл саздарда өседі. Солтүстік Тянь-Шаньда, Жоңғар Алатауында, Іле, Күнгей Алатауында, Кетменде, Теріскей Алатауында кездеседі [26].

### Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Зерттеуге негізгі 3 популяция алынды, олар – Бартоғай су қоймасы (популяция 1), Шонжы маңы (популяция 2), Көкпек ауылының (популяция 3) ценопопуляцияларының саны, жастық құрамы, тығыздығы зерттеуге алынды.

Бартоғай су қоймасы маңында – популяция 1 анықталды. Зерттеу күні – 13 қыркүйек 2020. Түрдің популяция аумағы – ауқымды емес. Геоботаникалық сипаттама популяциядағы бір шаршы алаңдағы (жалпы салынған алаңшалар саны – 10) түрдің саны, биіктігі, жайылу диаметрі, гүл саны, гүлдердің ұзындығы, топырақ типі және де қауымдастыққа тип берілуден басталды (2-сурет). Барлық ценопопуляцияларда 10 үлгі алаңшалары, 1 м<sup>2</sup> салынды.

*Artemisia heptapotamica* Poljak., түрінің барлық ценопопуляцияларындағы саны 170 дарак анықталды. Оның ішінде 1 – ценопопуляцияда – 69 дарак, 2 – ценопопуляцияда – 47 дарак, 3 – ценопопуляцияда – 54 дарак.

Шонжы маңы маңындағы түрдің популяциядағы (популяция 2,3) саны да айтарлықтай көп емес. Осы мақсатқа сәйкес түрдің саны, тығыздығын анықтау негізгі міндетке қойылды. Түрдің жалпы жобалық жабыны: 35%-дан 45%-ға дейінгі аралықта өзгерді. Екі популяцияның да түрлік құрамы айтарлықтай түрге бай емес. Оны топырақ типі мен жауын шашынның түсу мөлшерімен түсіндіруі мүмкін. Мысалы, топырақтың беткі қабаты – тығыздалған, шиыршықты-тасты келген. Осы себепті, бұл популяцияда негізінен көп жылдық өсімдіктермен қамтылған және түрдің гүлдеу мерзімінің ерте күз уақытына тура келетіндігіне байланысты болуымен түсіндіріледі.

Ценопопуляция 1-дегі түрдің орташа тығыздығы 6,9 дана/м<sup>2</sup>. Дәл осылай, ценопопуляция 2-де түрдің орташа тығыздығы – 4,7 дана/м<sup>2</sup>. Ал, ценопопуляция 3 – орташа тығыздығы 5,4 дана/м<sup>2</sup> құрайды.





а – түрдің таралу аумағы

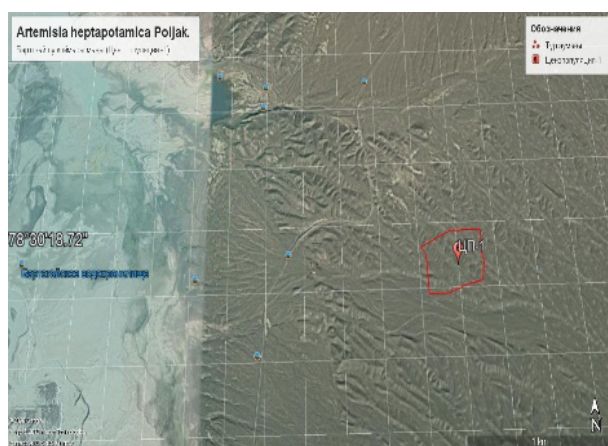


б – түр *Artemisia heptapotamica* Poljak.

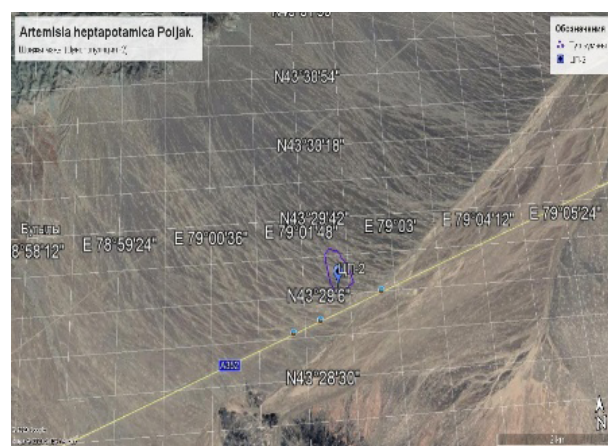


в – кенешөп үлгісі

2-сурет – Бартоғай су қоймасы, Солтүстік Тянь-Шань (популяция 1)

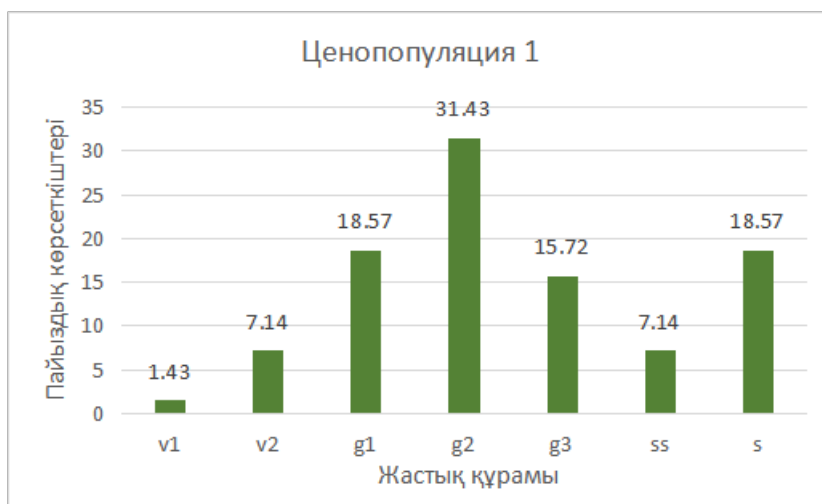


а – Іле Алатауы, Бартоғай су қоймасы



б – Солтүстік Тянь-Шань Шоңжы маңы

3-сурет – *Artemisia heptapotamica* Poljak., табылған популяцияларының космостық кескіні



4-сурет – Бартоғай су қоймасы маңындағы (ЦП-1) *Artemisia heptapotamica* Poljak. түрінің жастық құрамы

Зерттеу барысында, ценопопуляция 1-де абсолюттік максимум  $g_2$  (31,43%) піскен генеративтік тобына сәйкес келсе, осы ценопопуляцияда прегенеративтік дарақтардағы ересек вегетативтік дарақтар саны  $v_1$ (1,43%) өте аз көрсеткіш көрсетті, ересек вегетативтік дарақтар санының аз болуы, бұл популяция орналасқан беткейдегі

көктемгі жауын-шашынның көп болуы себебі Бартоғай су қоймасына жақын орналасуына байланысты болуымен бірге желдің ұйытқу жылдамдығы жоғары болуымен байланысты болуы мүмкін (4-сурет). Бұл жағдайда бұл өсімдіктің жас дарақтарының бойшаң болуына және түрдің дамуына кері әсерін тигізеді.



5-сурет – Шоңжы және Көкпек ауылы маңындағы (ЦП-2,3) *Artemisia heptapotamica* Poljak. түрінің жастық құрамы

Ценопопуляция 2-де қартайған генеративтік дақтарының саны  $g_3$  (46,81%) жоғары көрсеткіш көрсетумен бірге ересек вегетативтік дақтар саныны табылмады. Бұның себебі, популяция орны жазық жерге орналасқан, желдің ұйытқу жылдамдығы жоғары, жауын-шашын аз болуына байланысты болуы мүмкін. Ценопопуляция 3-те виргинилдік жас дарақтар 9,26 % – 11,11 % аралығында өзгерді. Ценопопуляция жағдайы жақсы деңгейде, желінген өсімдіктер кездеспейді. Жастық құрамы бойынша барлық жастық күйлер кездеседі. Ал генеративтік дарақтар 11,11 % – 22,22% аралығында өзгерді. Ценопопуляция 3-те ең көп пайызда сенильдік постгенеративтік дарақтар кездесті.

### Қорытынды

Қазіргі таңда *Artemisia* туысына жататын 81 түр бар. Соның ішіндегі эндем түрлерді зерттеу, олардың тіршілік ету ортасына, тіршілік күйіне баға беру осы уақытта актуалды болуда. Бұл жұмыста эндем *Artemisia heptapotamica* Pol-

jak. түрінің санын, тығыздығын, оның жастық құрамына баға берілді. Жалпы, 3 популяция және 3 ценопопуляция анықталды. Түрдің саны, биіктігі, жайылу диаметрі, гүл саны, гүлдердің ұзындығы, топырақ типі және де қауымдастыққа тип берілді.

*Artemisia heptapotamica* Poljak., түрінің барлық ценопопуляцияларындағы саны 170 дарақ анықталды. Оның ішінде 1-ценопопуляцияда – 69 дарақ, 2-ценопопуляцияда – 47 дарақ, 3-ценопопуляцияда – 54 дарақ. Ал түрдің орташа тығыздығы 4,7 және 6,9 дана/м<sup>2</sup> аралығында өзгерді.

Жастық құрамын талдау бойынша ценопопуляция 1 де абсолюттік максимум  $g_2$  (31,43%) піскен генеративтік тобына сәйкес келсе, осы ценопопуляцияда прегенеративтік дарақтардағы ересек вегетативтік дарақтар саны  $v_1$ (1,43%) өте аз көрсеткіш көрсетті, ересек вегетативтік дақтар санының аз болуы анықталды.

Ценопопуляция 2-де қартайған генеративтік дақтарының саны  $g_3$  (46,81%) жоғары көрсеткіш көрсетумен бірге ересек вегетативтік дақтар

саныны табылмады. Бұның себебі, популяция орны жазық жерге орналасқан, желдің ұйытқу жылдамдығы жоғары, жауын-шашын аз болуына байланысты болуы мүмкін.

Ценопопуляция 3-те виргинилдік жас дарақтар 9,26 % – 11,11 % аралығында өзгерді. Ценопопуляция жағдайы жақсы деңгейде, желінген өсімдіктер кездеспейді. Жастық құрамы бойынша барлық жастық күйлер кездеседі. Ал генеративтік дарақтар 11,11 % – 22,22% аралығында

өзгерді. Ценопопуляция 3-те ең көп пайызда сенильдік постгенеративтік дарақтар кездесті.

Сонымен бірге, *Artemisia heptapotamica* Poljak., түрінің таралу ареалы бойынша зерттелген аймақтардың карта-схемасы құрылды. Зерттелген аймақтардың контуры бойынша космостық кескіндер қолданылды. Сонымен бірге алынған материалдарды статистикалық өңдеу SPSS Statistics және Excel-97 бағдарламасымен жүргізілді.

### Әдебиеттер

- 1 Охрана окружающей среды в Республике Казахстан: статистический сборник. Агентство Республики Казахстан по статистике, 2000.
- 2 Materials of the project workshop: Planning for the conservation of biological diversity at the national level to support the implementation of The strategic plan of the Convention on biological diversity in the Republic of Kazakhstan for 2010-2011. The UNDP project on National biodiversity Strategy and databases. – Almaty, December 2012.
- 3 Павлов Н.В. Флора Центрального Казахстана. – Т. 3. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1938. – 400-428 с.
- 4 Национальная стратегия и план действий по сохранению биоразнообразия. Кокшетау, 1999 г.
- 5 Who O. Traditional Medicine. Fact Sheet. 2007. no. 134, Revised May 2003.
- 6 Global strategy for plant conservation. Kew. – 2002. P- 62.
- 7 Akeroyd J. A rational look at extinction // Plant Talk. – 2002. – Vol. 28. –P. 35-37.
- 8 Атажанова Г.А. Перспективы использования в медицинской практике эфирных масел растений флоры Казахстана // Химия и применение природных и синтетических биологически активных соединений. – Алматы: Комплекс, 2004. – С. 230-235.
- 9 Valles, J., McArthur, E.D. Artemisia systematics and phylogeny: Cytogenetic and molecular insights. In: McArthur, E. D., Fairbanks, D. J. (comp.) Shrubland Ecosystem Genetics and Biodiversity: Proceedings, 13–15 June 2000, Provo, UT. Proc. RMRS-P-21. U.S. – Ogden: Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, 2001. – P. 67–74.
- 10 Флора Казахстана. – Алма – Ата: Наука, 1966. – Т. 9. – С. 76 – 140.
- 11 Bora, K.S., Sharma, A. The genus Artemisia: a comprehensive review // Pharm. Biol. – 2011. – №49. – P. 101–109.
- 12 Abad MJ, Bedoya LM, Apaza L, Bermejo P. The Artemisia L. genus: areview ofbioactiveessentialoils//Molecules. – 2012.- №17(3). – P. 2542-2566.
- 13 Дудченко Л. Г., Козьяков А. С., Кривенко В. В. Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения: Справочник / Отв. ред. К. М. Сытник. – К.: Наукова думка, 1989. – 304 с. – 100 000 экз.
- 14 Уранов А.А. , Серебрякова Т.И. Ценопопуляции растений (основные понятия, структура). М., Наука, 1976.
- 15 Смирнова О.В. Численность и возрастной состав популяций некоторых компонентов травяного покрова дубрав. – В кн. «Вопросы морфогенеза цветковых растений и строения их популяций», М. «Наука» / 1969.
- 16 Марков М. В.\* Общая геоботаника. М., Высшая школа, 1962.
- 17 Миркин Б. М., Розенберг Г. С. Фитоценология. М., Наука, 1978.
- 18 Работинов Т.А. Жизненный цикл многолетних травянистых растений в луговых ценозах. – Тр. бот. ин-та АН СССР, серия 3, Геоботаника, вып 6. М.-Л. Изд- во АН СССР. 1950.
- 19 Смирнова О.В. Объем счетной единицы при изучении ценопопуляций растений различных биоморф. – В кн. «Ценопопуляции растений (основные понятия и структура)». М. «Наука». 1976.
- 20 Работнов Т.А. Метода изучения семенного размножения травянистая растений в сообществах. – ~ кн. «Полевая геоботаника», вып. II, М.-Л. Изд-во АН СССР, 1960.
- 21 Работнов Т.А. Фитоценология. Изд-во МУ. 1903.
- 22 Kiyak V. G. Small plant populations: problems and prospects of research / V. G. Kiyak // Botany and Mycology: problems and prospects for 2011-2020.- 2011, P. 18-20.
- 23 Мұхитдинов Н.М. Геоботаника (оқулық) – Алматы: Дәуір, – 2011. – 300-344 б.
- 24 Мұхитдинов Н.М. Биогеоценология негіздері (оқу құралы) – Алматы: Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, – 2007. – 110-139 б.
- 25 Мұхитдинов Н.М., Альмерекова Ш.С., Сербасева А.Д. Өсімдіктер ценопопуляциясы(оқу құралы). Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, – 2019. – 102-130 б.
- 26 Флора СССР. – М.: Изд – во АН СССР, 1964. – Т. 26. –78 с.

## References

- 1 Abad MJ, Bedoya LM, Apaza L, Bermejo P. (2012) The *Artemisia* L. genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules*, №17(3), pp. 2542-2566.
- 2 Akeroyd J (2002). A rational look at extinction. *Plant Talk*, Vol. 28. pp. 35-37.
- 3 Atazhanova G.A. (2004) Perspektivy ispol'zovaniya v meditsinskoy praktike efirnykh masel rasteniy flory Kazakhstana. *Khimiya i primeneniye prirodnikh i sinteticheskikh biologicheskikh aktivnykh soyedineniy*. – Almaty: Kompleks, pp. 230-235.
- 4 Bora, K.S., Sharma, A. (2011) The genus *Artemisia*: a comprehensive review. *Pharm. Biol.*, №49, pp. 101–109.
- 5 Dudchenko L. G., Koz'yakov A. S., Krivenko V. V. (1989) Pryano-aromaticheskiye i pryano-vkusovyye rasteniya. *Spravochnik. Otv. red. K. M. Sytnik*. – K.: Naukova dumka, p. 304, 100 000 ekz.
- 6 Flora Kazakhstana (1966) *Alma – Ata: Nauka*, Vol. 9, pp. 76 – 140.7 Flora SSSR (1964). *M. Izd – vo AN SSSR*, Vol. 26, p. 78.
- 8 Global strategy for plant conservation (2002). *Kew*, p 62.
- 9 Kiyak V. G. (2011) Small plant populations: problems and prospects of research. *V. G. Kiyak, Botany and Mycology: problems and prospects for 2011-2020*, pp. 18-20.
- 10 Markov M. V. (1962) *Obshchaya geobotanika. M. Vysshaya shkola*.
- 11 Materials of the project workshop: Planning for the conservation of biological diversity at the national level to support the implementation of The strategic plan of the Convention on biological diversity in the Republic of Kazakhstan for 2010-2011(2012). *The UNDP project on National biodiversity Strategy and databases*. – Almaty.
- 12 Mirkin B. M., Rozenberg G. S. (1978) *Fitotsenologiya. M, Nauka*.
- 13 Mukhitdinov N.M. (2011) *Geobotany [textbook]. Almaty Daur*, pp. 300-344.
- 14 Mukhitdinov N.M. (2007) *Basics of biogeocenology [textbook]. Almaty, Al-Farabi Kazakh National University*, pp. 110-139.
- 15 Mukhitdinov N.M., Almerkova Sh.S., Serbaeva A.D. (2019) *Cenopopulation of plants (textbook). Al-Farabi Kazakh National University*, pp. 102-130.
- 16 *Natsional'naya strategiya i plan deystviy po sokhraneniyu bioraznoobraziya (1999) Kokshetau*.
- 17 *Okhrana okruzhayushchey sredy v Respublike Kazakhstan: statisticheskiy sbornik (2000) Agentstvo Respubliki Kazakhstan po statistike*.
- 18 Rabotiov T.A. (1950) *Zhiznennyy tsikl mnogoletnikh travyanistykh rasteniy v lugovykh tsenozakh*. – *Tr. bot. in-ta AN SSSR, Geobotanika, M.-L. Izd- vo AN SSSR. № 3, Vol 6*.
- 19 Rabotnov T.A. (1960) *Metoda izucheniya semennogo razmnozheniya travyanistaya rasteniy v soobshchestvakh. kn. "Pol-evaya geobotanika", M.-L. Izd-vo AN SSSR. Vol. II*.
- 20 Rabotnov T.A. (1903) *Fitotsenologiya. Ied-vo MU*.
- 21 Pavlov N.V. (1938) *Flora Tsentral'nogo Kazakhstana. M. L. Izd-vo AN SSSR, Vol. 3, pp. 400-428*.
- 22 Smirnova O.V. (1969) *Chislennost' i vozrastnoy sostav populyatsiy nekotorykh komponentov travyanogo pokrova dubrav. V kn. "Voprosy morfogeneza tsvetkovykh rasteniy y stroshshya ikh populyatsiy", M. "Nauka"*.
- 23 Smirnova O.V. (1960) *Ob'yem schetnoy yedinitiy pri izuchenii tsenopopulyatsiy rasteniy razlichnykh biomorf. V kn. "Tsenopopulyatsii rasteniy (osnovnyye ponyatiya i struktura)". M. "Nauka"*.
- 24 Uranov A.A. , Serebryakova T.I. (1976) *Plant cenopopulations (basic concepts, structure). M., Science M., Nauka*.
- 25 Valles, J., McArthur, E.D. (2001) *Artemisia systematics and phylogeny: Cytogenetic and molecular insights*. In: McArthur, E. D., Fairbanks, D. J. (comp.) *Shrubland Ecosystem Genetics and Biodiversity: Proceedings, 13–15 June 2000, Provo, UT. Proc. RMRS-P-21. U.S. – Ogden: Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station*, pp. 67–74.
- 26 *Who O. (2003) Traditional Medicine. №134*.

**З.И. Сакбаева<sup>1\*</sup>**, **Н.А. Карабаев<sup>2</sup>**, **Г.С. Калаева<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Жалал-Абадский государственный университет имени Б. Осмонова, Кыргызстан, г. Жалал-Абад

<sup>2</sup>Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, Кыргызстан, г. Бишкек

\*e-mail: sakbaevazulfia11@rambler.ru

## **СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА И ГЕНОФОНДА РЕЛИКТОВЫХ ОРЕХОПЛОДОВЫХ ЛЕСОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ БИОСФЕРНОЙ ПРОГРАММЫ «ОРЕХ КЫРГЫЗСТАНА»**

В данной статье рассматривается современное состояние плодородия почв самых высокоплодородных почв мира – горнолесных черно-коричневых почв естественных, реликтовых орехоплодовых лесов (ОПЛ) Кыргызской Республики. Реликтовые орехоплодные леса занимают самые крупные массивы одноклассных лесов Земного Шара и включены штаб-квартирой ООН в список всемирных биосферных резерватов ЮНЕСКО как важное Всемирное природное наследие нашей планеты. Данные леса защищают все компоненты биосферы ОПЛ от чрезмерной антропогенной нагрузки и природной деградации в условиях глобального изменения климата и представляют природную кладовую по накоплению чистой воды, кроме того, являются регионом широкого развития экотуризма, рекреационных сетей пансионатов и курортов и оказывают неоценимый вклад как естественный генофонд при введении в производство перспективных сортов ореховых и плодовых растений мира, тем самым оказывая неоценимую услугу при решении проблем продовольственной безопасности стран Центральной Азии и Евразийского Экономического Союза (ЕАЭС), что намного приумножается при внедрении в жизнь межгосударственной мега-эколого-биосферной программы «Орех Кыргызстана», направленной на снабжение международного рынка востребованными, экологически чистыми и целебными продуктами питания.

**Ключевые слова:** реликтовые, орехоплодовые, леса, почва, плодородие, деградация, компоненты, биосферы, антропогенное воздействие, межгосударственная, мега-эколого-биосферная, программа «Орех Кыргызстана».

Z.I. Sakbaeva<sup>1\*</sup>, N.A. Karabaev<sup>2</sup>, G.S. Kalaeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jalal-Abad State University named after B. Osmonov, Kyrgyzstan, Jalal-Abad

<sup>2</sup>Kyrgyz National Agrarian University named after K. I. Skryabin, Kyrgyzstan, Bishkek

\*e-mail: sakbaevazulfia11@rambler.ru

### **Current state of soil cover and gene pool of relict nut-bearing forests and prospects for their use for the biosphere program «Nut of Kyrgyzstan»**

Considers the current state of soil fertility of the most highly fertile soils in the world – mountain-forest black-brown soils of natural relict walnut-fruit forests (WFF) of the Kyrgyz Republic, which occupy the largest tracts of the same type of forests on the Earth and is included by the UN headquarters in the list of UNESCO world biosphere reserves, as an important World natural heritage of our planet, and they protect all components of the OPF biosphere from excessive anthropogenic load and natural degradation in the context of global climate change and represent a natural storehouse for the accumulation of clean water, is a region of widespread development of ecotourism, recreational networks of boarding houses and resorts, and make an invaluable contribution as a natural gene pool when introducing promising varieties of nut and fruit plants in the world into production, thereby providing an invaluable service in solving the problems of food security of the countries of Central Asia and the Eurasian Economic Union (EAEU), which is greatly multiplied by the implementation of the interstate mega-ecological-biosphere program “Nut of Kyrgyzstan”, aimed at supplying the international market with demanded, environmentally friendly and healing food products.

**Key words:** relict, nut-fruit, forests, soil, fertility, degradation, components, biosphere, anthropogenic impact, interstate, mega-ecological-biosphere, the program “Nut of Kyrgyzstan”.

З.И. Сакбаева<sup>1\*</sup>, Н.А. Карабаев<sup>2</sup>, Г.С. Калаева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Б. Осмонов атындагы Жалал-Абад мемлекеттик университети, Кыргызстан, Жалал-Абад к.

<sup>2</sup>К.И. Скрябин атындагы Кыргыз улттык аграрлык университети, Кыргызстан, Бишкек к.

\*e-mail: sakbaevazulfia11@rambler.ru

**Реликті жаңғақ жемісті ормандардың топырақ жамылғысы мен гендік қорының қазіргі жағдайы және оларды «Қырғызстан жаңғағы» биосфералық бағдарламасы үшін пайдалану перспективалары**

Мақалада әлемдегі ең құнарлы топырақ типіне жататын Қырғыз Республикасының ең үлкен учаскелерін алып жатқан реликтілі жаңғақ-жеміс ормандарындағы (ЖЖО) таулы-орманды жерлердегі қара-қоңыр топырақтары құнарлығының қазіргі жағдайы қарастырылған. Реликтілі жаңғақты-жеміс ормандары мен олардың қара-қоңыр топырағы БҰҰ-ның штаб-пәтері ЮНЕСКО-ның дүниежүзілік биосфералық резерваттар тізіміне енгізілген. Бұл ормандар біздің планетамыздың маңызды дүниежүзілік табиғи мұрасы болып табылады және жаңғақты-жеміс ормандары сол жердің биосфералық барлық компоненттерін шамадан тыс антропогендік жүктемеден және жаһандық климат өзгерісі жағдайында табиғи деградациядан қорғап, азайып келе жатқан табиғи таза су қорының жиналатын орны болып табылады. Зерттелген жаңғақты-жеміс ормандары жергілікті экотуризмді, пансионаттар мен курорттардың рекреациялық желілерін кеңінен дамытатын аймақ және әлемдегі жаңғақтар мен жеміс өсімдіктерінің перспективалы сорттарын өндіріске енгізу кезінде табиғи генофонд ретінде пайдалануда баға жетпес үлес қосады. Жаңғақты-жеміс ормандары Орталық Азия мен Еуразиялық экономикалық одақ (ЕАЭО) елдерінің азық-түлік қауіпсіздігі бойынша мәселелерін, экологиялық таза және пайдалы тамақ өнімдерімен халықаралық нарықта сұраныспен қамтамасыз етуге бағытталған «Қырғызстан жаңғағы» мемлекетаралық мега экологиялық-биосфералық бағдарламасы арқылы жүзеге асырылуына мүмкіндік береді.

**Түйін сөздер:** реликт, жаңғақ-жеміс, ормандар, топырақ, құнарлылық, деградация, компоненттер, биосфера, антропогендік әсер, мемлекетаралық, мегаэкологиялық-биосфера, «Қырғызстан жаңғағы» бағдарламасы.

### **Сокращения и обозначения**

ОПЛ – орехово-плодовые леса, ГК – гуминовая кислота, ФК – фульвокислота

### **Введение**

Кыргызстанцы должны гордиться и всегда помнить, что основные площади реликтовых орехоплодовых лесов Мира сосредоточены в регионе Центральной Азии, и они являются неоценимым национальным богатством и неисчерпаемым естественным генофондом растений наших стран.

Однако, мы пока не преумножили богатства этих лесов и не использовали их потенциал для поднятия экономики страны и защиты экологии региона.

Со времен функционирования древнего Шелкового Пути: орех, миндаль, фисташка, яблоня, груша, урюк, виноград и другие растения, произрастающие в реликтовых орехово-плодовых лесах (ОПЛ) Кыргызстана, распространились во все концы света. Это подтверждается исследованиями академика Н.И. Вавилова, который считал регион распространения этих лесов одним из центров происхождения культурных орехо-

во-плодовых растений. Многие лесные районы в Кыргызстане содержат первоначальные генетические источники многих плодовых и ореховых деревьев, которые широко культивируются в странах с умеренным климатом. Например, Кара-Алма и Арсланбоб в Джалал-Абадской области являются местом для некоторых из крупнейших ореховых лесов, где деревья произрастают в обширных, почти чистых насаждениях на высоте 1 000–2 000 м над уровнем моря [1].

Безусловно, регион ОПЛ КР дал продукт питания человеку с древнейших времен и был «золотой колыбелью» возникновения древних цивилизаций.

Наши ОПЛ имеют огромные эколого-ландшафтное (водоохранное, водорегулирующее, почвозащитное), хозяйственное (плоды, ягоды, лекарственные растения, ценная древесина и др.), экономическое (продажи экологически чистых -ореха, плодов, ягод, мёда, лекарственных трав) и рекреационное значение (экотуризм, санатории, курорты).

В древности – более две тысячи двухсот лет тому назад, до этих лесов -Арсланбоба добрались воины Александра Македонского и затем культивировали ореховые сады в Греции. И из Греции орех распространялся на территорию

Российской империи под брендом – ореха грецкого.

Мы на примере Лесного хозяйства Кара-Алма (Кок-Артская долина Джалал-Абадской области) показываем уникальность компонентов биосферы наших ОПЛ, где на десятках тысяч гектаров произрастают ценнейшие виды деревьев и кустарников, лекарственных и медоносных, кормовых травянистых растений и почвы представлены высокоплодородными черно-коричневыми почвами. Причем по определению Ленинградских ученых они в течении 26 млн. лет произрастают и сами производят виды и сорта ореховых и плодовых растений, т.е. без вмешательства человека. Они являются неопенимым естественным генофондом и в перспективе будут служить человеческой цивилизации еще много веков.

Поэтому реликтовые ОПЛ Южного Кыргызстана являются одним из неповторимых чудес природы и внесены ЮНЕСКО в список Всемирных биосферных резерватов.

Кроме того, горно-лесные черно-коричневые почвы ОПЛ по показателям плодородия служат эталоном плодородия для почв Центральной Азии [2, 3].

В Лесхозе Кара-Алма среди лесобразующих древесно-кустарниковых растений доминантным является орех королевский (*Juglans regia*).

Наибольшую ценность составляют фисташка, миндаль, груша, несколько видов яблонь и дикой алычи, боярышник, барбарис, черемуха-магалебка, разные виды шиповника.

Эти леса предотвращают эрозионные процессы почвенного покрова, участвуют в урегулировании речного стока, уменьшают весенний поаводок и более равномерно распределяют сток в летний период.

Негативное антропогенное воздействие, как вырубка деревьев, сбор лекарственных растений, выпас скота, сенокошение, разрушение местообитаний при отчуждении под пахотные земли усугубляет негативное влияние глобального изменения климата и приводит к сокращению ареалов распространения реликтовых растений, снижению численности и воспроизводству видов растений и вызывает деградации почв. На участках ОПЛ, где происходит чрезмерная антропогенная нагрузка, наблюдается деградация (эрозия) почвенного покрова и на их восстановление плодородия приходится много веков.

Масштабное антропогенное воздействие на почвы и биотические сообщества приводят к тяжелым экологическим последствиям, способ-

ствующим снижению лесозащитной, почвоохранной роли компонентов биосферы ОПЛ.

Разрушение естественных природных сообществ этих лесов вызвало исчезновение ряда эндемичных растений. В недалеком будущем множество видов растений, которые сегодня сокращаются в численности, также окажутся под угрозой исчезновения.

Горько отметить, что до сих пор в Кыргызской Республике не используется заложенный природой мощный потенциал естественных орехово-плодовых лесов, а также международный бренд – признание ЮНЕСКО, когда признан прародиной одних из чудес природы Земли – орехоплодовые леса Кыргызстана.

Самое главное, нами пока не задействована межгосударственная мега-эколого-биосферная программа «Орех Кыргызстана», направленная на снабжение международного рынка востребованными, экологически чистыми и целебными продуктами питания, что оказывает неопенимую услугу при решении проблем продовольственной безопасности стран Центральной Азии.

Это программа открывает перед нашей страной магистральный путь к процветанию и благополучию и при их реализации естественный генофонд ОПЛ окажет неопенимую услугу.

Поэтому мы должны беречь природные богатства ОПЛ КР.

### **Объект, материалы и методы исследований**

Объектом исследования являются ОПЛ Кара-Алминского лесхоза, который расположен на территории Сузакского административного района Джалал-Абадской области и занимает горную территорию, расположенную от 800 до 3000 м над уровнем моря.

Растительность объекта исследований имеет ярко выраженный характер высотной поясности и включает в себя 5 растительных поясов [4,5].

1. Пояс пустынных фисташковых редколесий и мелких кустарников занимает низкие и частично высокие адыры (предгорья) в пределах от 700 до 900 над уровнем моря. Почвы – типичные сероземы.

2. Пояс фисташкового редколесья злаковых лугов и степей, простирающийся к высоким адырам, расположенный на высоте от 900 до 1100 м над уровнем моря (иногда 1300 м). Почвы представлены типичными и темными сероземами. Растительность разнообразна: в нижней части произрастают заросли фисташки, имеют

вид многоствольного кустарника с шарообразной кроной.

3. Лесной пояс лежит на высоте от 1100-1300 м и до 2000-2200 м над уровнем моря. Древесная растительность лесного пояса представлена орехо-яблоневыми лесами. Яблоневые леса состоят из яблонь Кыргызов и Сиверса, как правило, корнеотпрыскового происхождения и занимают южные местоположения. Почвы – горно-лесные черно-коричневые.

4. Субальпийский кустарниково-луговой пояс находится на высоте 2000-2500 м, местами достигая до 3000 м над уровнем моря. Основными компонентами этого пояса являются редкостойные кленовики из клена туркестанского, арчи, ели, заросли кустарников и субальпийские луга. В самой нижней части местами встречаются редкостойные участки орехового леса и яблони.

5. Альпийский низкотравный луговой пояс расположен на высоте 2500 м и местами выше 2500 м над уровнем моря и занимает в основном вершины гор, скалы и осыпи, лишенные растительности. Меньшая часть пояса занята альпийскими лугами. Древесная растительность почти отсутствует, кустарники встречаются в виде отдельных экземпляров. Почвы – лугово-степные.

Климатические условия района формируются под влиянием вертикальной поясности распространения почвенных типов и растительных сообществ.

Гидротермическая характеристика лесного пояса несколько отличается от субальпийского пояса более высокими среднемесячными температурами.

Разнообразие климатических условий свойственно не только территории всего лесхоза и отдельным участкам, но и по склонам различных экспозиций при разных абсолютных отметках над уровнем моря.

В данной работе изучены горнолесные черно-коричневые почвы и лесорастительные особенности этой территории Кара-Алминского лесхоза.

Почвенные разрезы были изучены и описаны по морфологическим характеристикам, разделены на генетические горизонты. Пробы почв отбирались из генетических горизонтов. Лабораторные исследования почвенных образцов определены по общепринятым методикам, принятые в Кыргызской Республике и содержание гумуса, общего азота и углерода определяли в лаборатории Республиканской почвенно-агрохимической станции Кыргызстана. Органический углерод определяли по методу Тюрина, общий

азот по Кьельдалю [6]. Содержание гуминовых и фульвокислот определяли в соответствии с методикой по Faithfull [7].

### Результаты исследований и их обсуждение

Горно-лесные черно-коричневые почвы Кара-Алминского лесхоза развиваются под пологом орехово-плодовых лесов на юго-западных склонах Ферганского хребта в пределах 1400-2100 м абсолютной высоты над уровнем моря.

Орехо-плодовые леса Кара-Алминского лесхоза характеризуются следующими лесорастительными условиями: грецкий орех (*Juglans regia*), наряду с яблоней (*Malus kirghisorum* Theod. Fed и *Malus niedzwetzkyana* Dick) и кленом (*Acer turkestanica*). В первом ярусе леса растут орех королевский, в нижнем ярусе яблони и клен.

Кустарниковый ярус составляет жимолость, алыча, экзехорда, абелия, миндаль и другие кустарниковые растения.

Этим лесам присущ довольно густой и мощный травостой. Основу травостоя составляют: хорошо развитая коротконожка, недотрога, щавель, тысячелистник, душица и другие, а также нитрофильные травы – змееголовник, котовник, разные виды лютика, герань холмовая, сныть. Также шире распространены злаковые травы.

Под уникальными лесорастительным покровом сформированы горно-лесные черно-коричневые почвы и они характеризуются высоким плодородием и отличаются богатым содержанием гумуса, питательных веществ и широкой емкостью поглощения [8].

Данные таблицы 1, дают возможность анализировать современное состояние органического вещества горно-лесных черно-коричневых почв ОПЛ КР.

Содержание гумуса отражает такую важную сторону почвообразования, как характер процессов накопления и разложения органического вещества [9, 10]. Содержание гумуса и мощность гумусового горизонта принимается в качестве важнейших признаков почвы. От содержания и состава гумуса зависит плодородие почв, образование почвенной структуры и деятельность почвенных микроорганизмов [11].

Гумусовое состояние горно-лесных черно-коричневых почв орехово-плодовых лесов отличаются очень высоким плодородием. В полуразложившемся лесном опаде содержится 11,3-12,0% гумуса, а в гумусово-аккумулятивном горизонте 8,3-9,3 % гумуса и его количество резко снижается вниз по профилю почв [12].



**Таблица 1** – Гумусовое состояние и количество азота горно-лесных черно-коричневых почв орехово-плодовых лесов лесхоза Кара-Алмы

Местность и почва	Глубина, см	Гумус, %	Углерод, %	Азот общий, %	C:N
Горно-лесные черно-коричневые почвы орехово-плодовых лесов					
Кара-Алма, орехо-плодовый лес (горно-лесная черно-коричневая, маломощная)	0-2	11,33	6,58	0,95	6,9
	2-14	8,30	4,82	0,55	8,76
	14-52	2,70	1,56	0,20	7,84
	52-105	0,88	0,51	0,09	5,68
	105-165	0,68	0,39	0,05	7,9
Кара-Алма, орехо-плодовый лес (горно-лесная черно-коричневая)	0-4	12,0	6,9	0,98	7,04
	4-18	9,30	5,4	0,64	8,43
	18-57	3,80	2,20	0,30	7,30
	57-91	2,65	1,54	0,14	11,0
	91-130	1,09	0,63	0,10	6,3
	130-185	0,88	0,51	0,06	8,5

Научные исследования показывают, что отдельные компоненты гумуса стимулируют те или иные физиологические процессы [13]. Уже давно доказано, что гумусовые вещества стимулируют рост корневых волосков и корневой системы в целом. Ферментативная активность гумуса увеличивает интенсивность поступления  $CO_2$  в приземный слой атмосферы, а повышение концентрации  $CO_2$  в воздухе интенсифицирует процесс фотосинтеза.

Как видно из таблицы 1, максимальное содержание общего азота и углерода наблюдалось в верхних слоях, с глубиной их содержания снижаются. Сравнивая круговорот углерода и азота в почве при различных климатических и почвенных условиях, Battle-Aguilar и др. [14] обнаружили более высокие содержания C и N в лесных почвах, чем в сельскохозяйственных почвах, в результате более сильного разложения подстилки. В целом, лесные участки, которые, как правило, имеют более высокое содержание лигнина, отношения C: N и лигнин: N, привели к большому накоплению органических веществ по сравнению с пастбищами или возделываемыми землями [15, 16, 17].

Таким образом, органическое вещество почвы и связанная с ней энергия обеспечивают стабильность биосферы ОПЛ КР. Истощение запаса гумуса в почвах этих лесов приведет к необратимым экологическим последствиям. Перед современным обществом стоит задача – возродить и сохранить оптимальное гумусное состояние почв реликтовых ОПЛ КР.

Высокое содержание гумуса этих почв объясняется особо благоприятными условиями гидротермического режима (около 1000 мм осадков в год), обеспечившим мощное развитие древесно-кустарниковой и травянистой растительности, поставляющей в почву обильный ежегодный лесорастительный опад. Тем самым повышается биологическая активность почв.

Гуминовые кислоты этих почв способствуют образованию хорошей структуры и других благоприятных физических свойств почвы.

Как видно из таблицы 2, гуминовые кислоты в слое 0-14 см горнолесных черно-коричневых почв составляют 662 мг/100 г почвы, а аналогичные показатели горных коричневых почв (пастбища) более чем в 1,5 раза меньше – 365 мг/100 г почвы.

Согласно Geissler [18], черноземы являются очень плодородными почвами из-за состава гуминовых веществ. Эти почвы имеют высокое содержание гуминовой кислоты; содержание фульвокислот относительно низкое. В почве гуминовые кислоты действуют как естественные ионообменники, которые поглощают щелочные соединения азота и снова высвобождают доступный для растений азот путем замещения катионов металлов [18, 19].

Количество гуминовых кислот нижних горизонтов почвенного профиля горнолесных черно-коричневых и горных коричневых почв снижаются, соответственно составляют 439 и 227 мг/100 г почвы.

Таблица 2 – Гумусовое состояние горно-лесных черно-коричневых и горных коричневых почв бассейна реки Кок-Арт

Местоположение	Гори-зонты	Гумус, %	Фульвокислоты (ФК)	Гуминовые кислоты (ГК)	ГК: ФК
			мг/100г	мг/ 100г	
Горно-лесные черно-коричневые почвы орехово-плодовых лесов					
Кара-Алма, орехово-плодовый лес	A <sub>0</sub> 0-14	11,3	158 ±4,09	662±15,10	4,1
	A <sub>1</sub> 14-30	8,30	110±9,07	439±12,14	3,9
	B 30-50	2,70	131±5,04	78±9,07	0,59
Горные коричневые почвы					
Калмак-Кырчын, пастбища	A <sub>0</sub> 0-14	1,30	98±6,10	365±6,13	3,72
	A <sub>1</sub> 14-30	0,70	69±9,06	227±7,10	3,28
	B 30-50	0,56	32±2,05	56±6,06	1,75
Калмак-Кырчын, богара	A <sub>0</sub> 0-14	1,20	72±6,10	262±9,10	3,63
	A <sub>1</sub> 14-30	0,38	56±5,05	223±8,06	3,98
	B 30-50	0,26	32±4,04	59±4,03	1,84

Очень резкое снижение гуминовых кислот наблюдается в 30-50 см слое горно-лесных черно-коричневых почвах – 78 мг/100 г почвы.

Верхние горизонты горно-лесных черно-коричневых почв (0-14 см) содержат 158 мг/100 г почвы фульвокислот, а аналогичные показатели целинных горных коричневых почв 98 мг/100 г почвы и богарных – 72 мг/100г почвы фульвокислоты. Такая же картина содержания фульвокислот наблюдается в нижеследующем, 14-30 см слое почвы – соответственно 110, 69 и 56 мг/100г почвы. В нижних слоях изучаемых почв наблюдается резкое снижение количества фульвокислот. На средиземноморских лесных почвах Traversa и др. [20] наблюдали изменение химических и спектроскопических свойств гуминовых кислот в зависимости от состава растительного покрова и образующихся гумусовых подстилок.

В изучаемых горно-лесных черно-коричневых почвах отношение гуминовых кислот к фульвокислотам достигает до 4,1, что является хорошим генетическим признаком вышеназванных почв. Эти показатели в нижних слоях почвенного профиля изучаемых почв снижаются. Это говорит об усиленной их миграции вниз по профилю богарных горных коричневых почв.

Качественный состав почв ОПЛ КР показывает их противоэрозионную устойчивость. В почве под орехово-плодовыми лесами наблюдается самая высокая водопроницаемость. Однако картина резко меняется при усиленном выпасе скота, сплошной лесосечной рубке и сборе уро-

жаев орехово-плодовых, ведущих к резкому ослаблению водорегулирующих и противоэрозионных свойств лесов. Из-за перегруженности пастбищ скотом на склонах образуются тропы. Часто тропы прорезают склоны во всех направлениях, растительность вытаптывается, образуются хорошо выраженные ромбы наполовину вытоптанной растительности.

Известно, что эрозии наиболее подвержены слабозадерненные растительностью склоны. На этих склонах почва смыта на 50-60%, а местами и больше. Смывается сначала верхний гумусовый горизонт, затем нижележащий более рыхлый и таким образом весь участок приходит в негодность. По результатам исследований за 25 лет содержание гумуса снизился больше чем на 50% под влиянием антропогенных факторов, длительно воздействующему на горно-лесные биоценозы [21].

Исследования Hardtle и др. [22] в стационарных и лабораторных условиях выявили различия между эродированными и неэродированными почвами. Эродированные темно-коричневые почвы были лишены от гумусового слоя в горизонте 15–20 см. В неэродированных почвах содержание гумуса в верхнем горизонте колебалось от 11 до 13%, в эродированных – от 1 до 2%.

При неправильной эксплуатации лесных пастбищ эрозия почв в поясе орехово-плодовых лесов протекает ускоренными темпами. Отсутствие борьбы с ней привело к тому, что большая часть южных, юго-восточных и юго-западных склонов с горно-лесными коричневыми почва-

ми превратилась в каменистые, почти лишенные почвенного покрова участки. Кроме плоскостной эрозии в поясе орехово-плодовых лесов интенсивна линейная эрозия.

Смываемость горно-лесных черно-коричневых почв орехово-плодовых лесов находится в теснейшей и прямой зависимости, прежде всего от водопрочности структурных элементов почвы, что в свою очередь в большей степени зависит от растительного покрова. Под лесами поверхностная водная эрозия не проявляется, влага переводится во внутрпочвенный ток, накапливается в почвенной толще, питает грунтовые воды.

Как видно из таблицы 3, в результате смыва значительно изменяются химические и водно-

физические свойства почв. Объемный вес несмытых почв на верхнем горизонте составляет 0,78-0,8 г/см<sup>3</sup>, в то же время у смытых 1,20-1,24 г/см<sup>3</sup>. Исследования почв в сербской долине Колубара показали сопоставимые результаты: различия в объемной плотности при изменении землепользования были достоверно проверены только для верхних 20 см почвы [23].

Физические особенности почв имеют большую экологическую значимость, так как они во многом определяют процессы обмена веществ между почвами и другими компонентами биогеоценоза. В горных условиях физические свойства почв приобретают первостепенное значение, поскольку от них в наибольшей мере зависит противоэрозионная устойчивость почв.

**Таблица 3** – Объемный вес несмытых и смытых горно-лесных черно-коричневых почв орехово – плодовых лесов, г/см<sup>3</sup>

Глубина, см	Горно-лесные черно-коричневые почвы			
	Р.61 несмытые	Р.62 несмытые	Р.63 смытые	Р.64 смытые
0-5	0.82	0.78	1.24	1.20
5-10	1.01	0.96	1.27	1.25
10-20	1.06	1.00	1.38	1.36
20-30	1.15	1.07	1.39	1.35
30-40	1.24	1.28	1.41	1.38
40-50	1.36	1.35	1.45	1.39

Объемный вес, определенная в верхних слоях неразрушенной черно-коричневой почвы, указывает на рыхлую структуру до глубины 20–30 см, которая значительно отличается от уплотненного верхнего слоя размытой почвы. Физические характеристики почв имеют большое экологическое значение, поскольку они во многом определяют обменные процессы между почвами и другими компонентами экосистемы. Проведенные исследования [4, 10, 12] показали, что свойства почв во многом определяются их устойчивостью к эрозии (содержание гумуса, наличие и объем лесной подстилки, карбонатность, объемность).

Лесная растительность способствует сохранению почвенного покрова, увлажнению занимаемой, а также прилегающей территории и в целом благоприятно сказывается на состоянии горных ландшафтов.

Деградация горной растительности сопровождается прогрессирующим иссушением склонов и всеобщей аридизацией климата. Аридизация

ведет к падению продуктивности растительного покрова. Поэтому нужно сохранить экологическое равновесие, приводящие к нежелательным последствиям.

По мнению большинства исследователей, основными причинами деградации лесов являются: а) промышленные заготовки древесины и пожары в прошлом;

б) интенсивный и усиливающийся выпас скота;

в) рост населения и личного скота в горных районах [24].

К мерам смягчения последствий изменения климата следует отнести мероприятия, направленные на максимальную охрану, лесовосстановление и лесоразведение на лесных непокрытых лесом землях.

В связи с вышеуказанным, необходимо провести мероприятия по лесовосстановлению и лесоразведению на территориях Кара-Алминского лесхоза, где наблюдается антропогенный прессинг [25].

Проводимые нами исследования еще раз доказывают о необходимости претворения в жизнь межгосударственной мега-эколого-биосферной программы «Орех Кыргызстана», направленная на оздоровление экологии региона и снабжение международного рынка востребованными, экологически чистыми и целебными продуктами питания.

Этот проект осуществляется закладкой обширных ореховых плантаций на тысячи гектарах земли, с внедрением инновационных поливов на предгорьях и адырах Чуйской, Таласской, Ферганской долинах и в Иссык-Кульской котловине. Такое масштабное преобразование природы оказывает комплексное воздействие на народное хозяйство Кыргызской Республики: создаются рекреационные регионы, повышается финансово-экономическое состояние народного хозяйства, искореняется бедность и улучшается социальное положение населения, улучшается почвоохранная, водонакапливающая ситуация горно-долинных и горных экосистем. Тогда под новыми рукотворными ореховыми насаждениями возродятся новые плодородные почвы – аналогичные высокоплодородным почвам естественных орехово-плодовых лесов Кыргызстана – прародины ореха греческого (королевского).

Самое главное, межгосударственной мега-эколого-биосферной программы «Орех Кыргызстана», помогает решить три главные проблемы:

- охрана и облагораживание окружающей среды, что благоприятно действует на всю территорию стран Центральной Азии;
- решение продовольственной безопасности КР;
- поднимает экономику и ВВП страны.

Кроме того, создается прекрасная база для разветвления аграрного и лесного зеленого экотуризма.

Такая рукотворная работа общественности и истеблишмента КР будет достойным ответом на инициативу ООН – о широком распространении в Земном Шаре природоохранной программы – биологизации аграрного и лесохозяйственного производства и внедрения зеленой экономики, что отвечает постулату всемирного проекта уменьшения парниковых газов в атмосфере.

При внедрении такого грандиозного экологического проекта в Кыргызстане можно ожидать всестороннюю поддержку ООН, т.е. для та-

кого природоохранного мероприятия общепланетарного значения, безусловно, привлекается международные инвестиции. Здесь надо больше внимание обратить на инвестиции Всемирного Зеленого климатического фонда.

## Выводы

1. Характерным диагностическим показателем для горно-лесных черно-коричневых почв Кара-Алминского лесхоза является высокое содержание гумуса, достигающее до 11 – 12% в гумусово-аккумулятивном горизонте, который создает благоприятные условия для лесной растительности. Однако, неконтролируемый антропогенный прессинг спровоцирует эрозии почв, когда смывается защитный гумусовый горизонт.

2. Необходимо претворить в жизнь межгосударственную мега-эколого-биосферную программу «Орех Кыргызстана» на оздоровление экологии региона и снабжение международного рынка востребованными, экологически чистыми и целебными продуктами питания.

3. Неконтролируемый антропогенный прессинг – пастьба скота, рубка леса влияет на изменение горно-лесных биоценозов, способствующих деградации почв, лесной растительности, которые приводят к иссушению склонов и аридизации климата. Поэтому необходимо провести ряд мероприятий по лесовосстановлению и лесоразведению на территориях Кара-Алминского лесхоза.

4. Регион ОПЛ КР оказывают неоценимый вклад как естественный генофонд при введении в производство перспективных сортов ореховых и плодовых растений мира, тем самым оказывая неоценимую услугу при решении проблем продовольственной безопасности стран Центральной Азии и Евразийского Экономического Союза (ЕАЭС), что намного приумножается при внедрении в жизнь межгосударственной мега-эколого-биосферной программы «Орех Кыргызстана», направленная на снабжение международного рынка востребованными, экологически чистыми и целебными продуктами питания.

## Конфликт интересов

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

**Благодарности**

Авторы статьи выражает благодарность ректорам Джалал-Абадского государственного университета и Кыргызского национального аграрного университета им. К.И.Скрябина и дирекции Лесхоза Кара-Алма за предоставленную возможность выполнения научно-исследовательской работы.

**Источник финансирования**

Настоящая работа была выполнена в Джалал-Абадском государственном университете как научно-исследовательская работа и поддержана международными программами Фулбрайт, ДААД и ОЕАД (научные стажировки в институте почвоведения, ФРГ и БОКУ, Вена, в Техасском университете США, где проведены лабораторные исследования).

**Литература**

- 1 G. E. Hemery, "Walnut seed-collecting expedition to Kyrgyzstan in Central Asia," *Quarterly Journal of Forestry*, vol. 92, 1998. – Pp. 153–157.
- 2 Карабаев Н.А. Жаңгак өстүрүүнүн перспективасы. – Бишкек: Кесип, 1994. – 56 с.
- 3 Грыза Э., Венгловский Б., Сарымсаков З., Карраро Г. Типология лесов Кыргызской Республики. – Бишкек, 2008. – 263 с.
- 4 Мамытов А.М. Почвы гор средней Азии и Южного Казахстана. – Фрунзе: Илим, 1982. – 310 с.
- 5 Ройченко Г.И. Почвы Южной Киргизии. – Фрунзе: Изд-во: Академия Наук Кирг. ССР, 1960. – 233 с.
- 6 Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 489 с.
- 7 Faithfull NT Determination of humic and fulvic acids. In: Faithfull NT Methods in agricultural chemical analysis: a practical handbook. Wallingford: CABI, 2002. – pp 68-71.
- 8 Кононова М.М. Органическое вещество почвы. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 314с.
- 9 Карабаев Н.А., Джунушбаев А.Д., Койчиев М.К. Проявление эрозионных процессов в почвах орехово-плодовых лесов Южной Киргизии в период использования их в качестве пастбищ// Труды КНИИ почвоведения. – Фрунзе, 1987. – №18. – С. 152-166.
- 10 Карабаев Н.А. Агрехимико-экологические основы плодородия и продуктивность горных почв Кыргызстана. – Бишкек: Илим, 2000. – 92 с.
- 11 Докучаев В.В. Русский чернозем. Избранные сочинения. Т. I. – М.: Сельхозгиз, 1948. – 480 с.
- 12 Ливеровский Ю.А. Горные почвы Южной Киргизии. – М.: Наука, 1987. – 332 с.
- 13 Тюрин И.В. Органическое вещество почвы и его роль в плодородии. – М.: Колос, 1966. – 280 с.
- 14 Batlle-Aguilar J, Brovelli A, Porporato A, Barry DA. Modelling soil carbon and nitrogen cycles during land use change: a review. 2011. – *Agron Sustain Dev* 31:251-274.
- 15 Lavahun MFE, Joergensen RG, Meyer B. Activity and biomass of soil microorganisms at different depths. 1996. – *Biol Fertil Soils* 23:38-42.
- 16 J. M. Melillo, J. D. Aber, A. E. Linkins, A. Ricca, B. Fry, and K. J. Nadelhoffer, "Carbon and nitrogen dynamics along the decay continuum: plant litter to soil organic matter," *Plant and Soil*, vol. 115, no. 2, 1989. – Pp. 189–198.
- 17 Tóth JA, Nagy PT, Krakomperger Z, Veres Z, Kotroczó Z, Kincses S, Fekete I, Papp M, Lajtha K. Effect of litter fall on soil nutrient content and pH, and its consequences in view of climate change (Síkfőkút DIRT Project). 2011. – *Acta Silv Lignaria Hung* 7:75-86.
- 18 Geissler G. Chemie des Bodens [online]. 1999.-To be found at <http://www.chids.de/dachs/expvotr/625.pdf> [quoted 28.11.2012].
- 19 Schroeder D, Blum WEH. Bodenkunde in Stichworten. – Berlin: Hirt, 1992. – 175 p.
- 20 Traversa A, Said-Pullicino D, D’Orazio V, Gigliotti G, Senesi N. Properties of humic acids in Mediterranean forest soils (Southern Italy) : influence of different plant covering. 2011. – *Eur J Forest Res* 130(6):1045-1054.
- 21 Сакбаева З. И. Почвы бассейна реки Кок-Арт и улучшение их экологического состояния. – Бишкек, 2013. – 131 с.
- 22 Härdtle W, Oheimb G von, Westphal C. Relationships between the vegetation and soil conditions in beech and beech-oak forests of northern Germany. 2005. – *Plant Ecol* 177(1):113-124.
- 23 Gajić B, Durović N, Dugalić G. Composition and stability of soil aggregates in Fluvisols under forest, meadows, and 100 years of conventional tillage. 2010. – *J Plant Nutr Soil Sci* 173(4):502-509.
- 24 Матвеев П.Н., Карабаев Н.А., Емельяненко Л.И. Система комплексного использования и охраны земель гослесфонда занятых орехово-плодовыми лесами// Рекомендация. – Фрунзе, 1988. – 42 с.
- 25 Сакбаева З.И., Карабаев Н.А., Токторалиев Б.А. и др. Рекомендации по улучшению экологического состояния почв бассейна реки Кок-Арт. – Бишкек, 2015. – 131 с.

## References

- 1 Arinushkina E.V. (1963) Rukovodstvo po himicheskomu analizu pochv. Izd-vo AN SSSR, Moskva, – 489 s.
- 2 Batlle-Aguilar J., Brovelli A., Porporato A., Barry D.A. (2011) Modelling soil carbon and nitrogen cycles during land use change: a review. – *Agron Sustain Dev* 31:251-274.
- 3 Dokuchaev V.V. (1948) Russkij chernozem. Izbrannye sochineniya. T. I. – M.: Sel'hozgiz, – 480 s.
- 4 Faithfull N.T. (2002) Determination of humic and fulvic acids. In: Faithfull NT Methods in agricultural chemical analysis : a practical handbook. Wallingford: CABI, – pp 68-71.
- 5 Geissler G. (1999) Chemie des Bodens [online]. – To be found at <<http://www.chids.de/dachs/expvotr/625.pdf>> [quoted 28.11.2012].
- 6 Gajić B, Durović N, Dugalić G. (2010) Composition and stability of soil aggregates in Fluvisols under forest, meadows, and 100 years of conventional tillage. – *J Plant Nutr Soil Sci* 173(4):502-509.
- 7 Gryza E., Venglovskij B., Sarymsakov Z., Karraro G. (2008) Tipologiya lesov Kyrgyzskoj Respubliki. Bishkek. – 263 s.
- 8 Hemery G. E. (1998) “Walnut seed-collecting expedition to Kyrgyzstan in Central Asia,” *Quarterly Journal of Forestry*, vol. 92, – pp. 153–157.
- 9 Härdtle W, Oheimb G von, Westphal C. Relationships between the vegetation and soil conditions in beech and beech-oak forests of northern Germany. 2005. – *Plant Ecol* 177(1):113-124.
- 10 Karabaev N.A. (2000) Agrohimičko-ekologičeskie osnovy plodorodija i produktivnost' gornyh pochv Kyrgyzstana. Bishkek: Ilim, – 92 s.
- 11 Karabaev N.A. (1994) Zhaŋgak östyryŋyn perspektivasy. – Bishkek: Kesip, – 56 s.
- 12 Kononova M.M. (1963) Organičeskoe veshchestvo pochvy. – M.: Izd-vo AN SSSR, – 314 s.
- 13 Karabaev N.A., Dzhunushbaev A.D., Kojchiev M.K. Proyavlenie erozionnyh processov v pochvah orekhovo-plodovyh lesov YUzhnoj Kirgizii v period ispol'zovaniya ih v kachestve pastbishch// *Trudy KNII pochvovedeniya*. – Frunze. 1987. – №18, – s.152-166.
- 14 Liverovskij YU.A. (1987) Gornye pochty YUzhnoj Kirgizii. Moskva: Nauka. – 332 s.
- 15 Lavahun MFE, Joergensen RG, Meyer B. Activity and biomass of soil microorganisms at different depths. 1996. – *Biol Fertil Soils* 23:38-42.
- 16 Melillo J. M., Aber J. D., Linkins A. E., Ricca A., Fry B., Nadelhoffer K. J. “Carbon and nitrogen dynamics along the decay continuum: plant litter to soil organic matter,” *Plant and Soil*, vol. 115, no. 2, 1989. – pp. 189–198.
- 17 Matveev P.N., Karabaev N.A., Emel'yanenko L.I. Sistema kompleksnogo ispol'zovaniya i ohrany zemel' goslesfonda zanyatyh orekhovo-plodovymi lesami// *Rekomendaciya*. – Frunze, 1988. – 42 s.
- 18 Mamytov A.M. Pochvy gor srednej Azii i YUzhnogo Kazahstana. Frunze Ilim, 1982. – 310 s.
- 19 Rojchenko G.I. Pochvy YUzhnoj Kirgizii. Izd-vo: Akademiya Nauk Kirg. SSR, Frunze, 1960. – 233s.
- 20 Schroeder D, Blum WEH. *Bodenkunde in Stichworten*. Berlin : Hirt, 1992. – 175 p.
- 21 Sakbaeva Z. I. (2013) Pochvy bassejna reki Kok-Art i uluchshenie ih ekologičeskogo sostoyaniya. – Bishkek. – 131s.
- 22 Sakbaeva Z.I., Karabaev N.A., Toktoraliev B.A. i dr. (2015) Rekomendacii po uluchsheniyu ekologičeskogo sostoyaniya pochv bassejna reki Kok-Art. – Bishkek. – 131s.
- 23 Tyurin I.V. (1966) Organičeskoe veshchestvo pochvy i ego rol' v plodorodii. – M.: Kolos. – 280s.
- 24 Tóth JA, Nagy PT, Krakomperger Z, Veres Z, Kotroczó Z, Kincses S, Fekete I, Papp M, Lajtha K. Effect of litter fall on soil nutrient content and pH, and its consequences in view of climate change (Síkfőkút DIRT Project). 2011. – *Acta Silvata Lignaria Hung* 7:75-86.
- 25 Traversa A, Said-Pullicino D, D'Orazio V, Gigliotti G, Senesi N. Properties of humic acids in Mediterranean forest soils (Southern Italy) : influence of different plant covering. 2011. – *Eur J Forest Res* 130(6):1045-1054.

**А.Н. Сарсенова<sup>1\*</sup>** , **С.А. Абиев<sup>1</sup>** , **Т.Е. Дарбаева<sup>2</sup>** 

<sup>1</sup>Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.

<sup>2</sup>М. Өтемісов атындағы Батыс Қазақстан университеті, Қазақстан, Орал қ.

\*e-mail: [assemgulsarsenova@gmail.com](mailto:assemgulsarsenova@gmail.com)

## **ЖАЙЫҚ ӨЗЕНІНІҢ ТӨМЕНГІ АҒЫСЫНДАҒЫ ОРМАНДЫ АЛҚАПТА АЛҒАШ РЕТ ТІРКЕЛГЕН БОР КЕЗЕҢІНІҢ РЕЛИКТІ *BATTARREA PHALLOIDES* (DICKS.) PERS.**

Батыс Қазақстан облысы аумағында Жайық өзенінің төменгі ағысы аңғарының орталық жайылмасында макромицеттердің түрлік құрамдарын анықтауға бағытталған зерттеулер барысында бор кезеңінің реликті, әдетте құрғақ, құмды жерлерде өсетін сапротрофты қалпақшалы саңырауқұлақтың – *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. жаңа ареалы анықталды. Бұл түрдің таралу аймағы Еуразияның далалы және шөлейтті аумағын алып жатыр. Қазақстанда шығыс және оңтүстік аймақтарда, сонымен қатар Іле, Шу, Шарын, Сырдария өзендері мен Итассай өзенінің төменгі ағысында анықталып, тіркелген. Бұл саңырауқұлақ сирек кездесетін, жойылу қаупі төнген реликт түрлердің қатарына жатады. Сондықтан да мұндай түрлерді жойылып кетуден сақтаудың алғышарттарына олардың таралу ауқымдарын және қазіргі жағдайларын айқындау болып табылады.

Зерттеу жұмыстары далалық және шөлейтті аймақтың шекарасында орналасқан Батыс Қазақстан облысы шегіндегі Жайық өзенінің төменгі ағысы аңғарының орталық жайылмасында, жер бедері табақша тәрізді келген ойышалардағы (жал аралық ойыстар) ақ теректі (*Populus alba* L.), шегіршінді (*Ulmus laevis* Pall.), талды (*Salix alba* L.) алқапты ұсақжапырақты қара теректі (*Populus nigra* L.) орманында 2020 жылдың көктем – күз айларында жүргізілді. Мақалада табылған үлгінің макро- және микроморфометриялық сипаттамалары, анықталған тіршілік ортасы мен табиғи кешеніне сипаттама берілді.

**Түйін сөздер:** *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers., реликт, Жайық өзені, жайылма, өзен аңғары.

A.N. Sarsenova<sup>1\*</sup>, S.A. Abiev<sup>1</sup>, T.E. Darbayeva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazakhstan, Nur-Sultan

<sup>2</sup>Makhambet Utemisov West Kazakhstan University, Kazakhstan, Uralsk

\* e-mail: [assemgulsarsenova@gmail.com](mailto:assemgulsarsenova@gmail.com)

### **The first find of a Cretaceous relic *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. in forest communities in the lower reaches of the Ural River valley**

This article reports on the first find of a relic of the Cretaceous period on the territory of the West Kazakhstan region, where today the mycobiota has been little studied. As a result of studying the species composition of macromycetes in the forest communities of the Ural River valley, a new habitat of the Cretaceous relic was discovered, a unique species common in arid regions around the world, also on sands in a temperate climate *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. Distribution area of *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. occupies the steppe and desert zones of Eurasia. In the Republic of Kazakhstan, the area of *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. includes the eastern and southern regions, and there were also finds along the river. Ili, Chu, Charyn, Syrdaria, in the lower reaches of the Ittas river. Currently, due to the anthropogenic factor, which poses a very high threat to nature, environmental protection and conservation of biodiversity is one of the main tasks. Conservation and identification of habitats of rare, relict and endangered species is the most important and responsible part of the conservation of biological diversity. Based on our research, for the first time in November 2020, on the border of the steppe and desert zones within the West Kazakhstan region in forest communities in the lower reaches of the Ural River, in the central floodplain along inter ridge depressions in a small-leaved black poplar (*Populus nigra* L.) forest in combination with white poplar (*Populus alba* L.), elm (*Ulmus laevis* Pall) and willow (*Salix alba* L.) groves revealed a new habitat of the humus saprotroph *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. The article shows the macro- and micromorphometric characteristics of the find, its location and natural complexes in the habitat of the species.

**Key words:** *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers., relic, Ural river, floodplain, river valley.

А.Н. Сарсенова<sup>1\*</sup>, С.А. Абиев<sup>1</sup>, Т.Е. Дарбаева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Казахстан, г. Нур-Султан

<sup>2</sup>Западно-Казахстанский университет им. М. Утемисова, Казахстан, г. Уральск

\*e-mail: assemgulsarsenova@gmail.com

### Первая находка реликта мелового периода *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. в лесных сообществах в нижнем течении реки Урал

В данной статье сообщается о первой находке реликта мелового периода на территории в Западно-Казахстанской области, где на сегодняшний день микобиота мало изучена. В результате изучения видового состава макромицетов в лесных сообществах долины реки Урал обнаружен новый ареал обитания реликта мелового периода, уникального вида, распространенного в аридных областях по всему свету, также на песках в умеренном климате *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. Ареал распространения *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. занимает степную и пустынную зоны Евразии. В Республике Казахстан ареал *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. включает восточный и южный районы, а также были находки по р. Или, Чу, Чарын, Сырдария, в нижнем течении р. Иттас.

В настоящее время из-за антропогенного фактора, который представляет очень высокую угрозу для природы, охрана окружающей среды и сохранение биоразнообразия являются одной из основных задач. Сохранение и выявление мест обитания редких, реликтовых и находящихся под угрозой исчезновения видов являются наиболее важной и ответственной частью сохранения биологического разнообразия. На основании исследования нами впервые в ноябре 2020 года на границе степной и пустынной зоны в пределах Западно-Казахстанской области, в лесных сообществах в нижнем течении реки Урал, в центральной пойме по межгрядным понижениям в мелколиственном чернотопольном (*Populus nigra* L.) лесу в сочетании с белотопольными (*Populus alba* L.), вязовыми (*Ulmus laevis* Pall.) и ивовыми (*Salix alba* L.) рощами было выявлено новое местообитание гумусового сапротрофа открытых пространств *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. В статье показаны макро- и микроморфометрические характеристики находки, ее места нахождения и природные комплексы в местах произрастания вида.

**Ключевые слова:** *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers., реликт, река Урал, пойма, долина реки.

#### Кіріспе

Палеонтологиялық мәліметтерге сәйкес, мезозой дәуіріндегі бор кезеңінің (137-67 млн. жыл бұрын) реликт түрлеріне, саңырауқұлақтардың шөлейттік түрлері – *күлтетәріздес подаксик* пен *көңілкештәріздес (веселкатәріздес) баттаррея* сияқты жаңбырқұлақтардың жақын туыстары жатады. Олар қазіргі кездері Қазақстан мен Орта Азия жерлерінде тіршілік етеді. Бұл түрлердің бүгінге дейін жетуінің бір себебі шөлейтті аймақтарды мекендегендіктен тіршілік ортасы үшін басқа түрлермен бәсекелестіктің (конкуренция) аздығы себеп болуы мүмкін [1].

*Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. (Basidiomycota, Agaricales) құрғақ, құмды жерлерде өсетін сапротрофты саңырауқұлақ. Аяқшасының ұзындығы 40 см-ге дейін жетеді, қалпақшасының жоғары бетінде споралары бар. Бір қарағанда биік түкті таяқтағы үлпілдек шарға ұқсас [2-5].

1801 жылдан бері *Battarrea* Pers. туысының 16 түрі сипатталған (Index Fungorum, <http://www.indexfungorum.org/>). Дегенмен бүгінде олардың басым көпшілігі *B. phalloides* синонимикасына кіргізілген, *Battarrea phalloides* үшін конспецификалық болып табылады [6, 7, 8, 9,

10]. Түрдің таралу аймағы кең, бүгінге дейін Антарктидадан басқа барлық континенттердегі 64 елде тіркелген [9]. Кең таралуына қарамастан, әдетте, жекеленген популяция түрінде кездеседі. Оның өзінде мұндай популяциялар бірнеше данадан ғана тұруы мүмкін. Еуропада сирек таралған: Австрияда, Чехияда, Францияда, Германияда, Венгрияда, Польшада, Испанияда және Ұлыбританияда Қызыл Кітапқа енгізілген. Германияда жойылу қаупі үстіндегі түр болып табылса, Ұлыбританияда мемлекет тарапынан арнайы қорғауға алынған. Қазіргі таңда Халықаралық табиғатты және табиғи қорларды қорғау одағының (ХТҚО) жойылу қаупі төнген түрлер Қызыл Кітабына енгізілу мақсатында сарапталу үстінде [12-16].

Сонымен қатар, *B. phalloides* Ресейдің микобиотасында *Battarrea* туысының жалғыз ғана өкілі болып табылады. Мұнда да түр өте сирек, тек қана аздаған популяциялар түрінде аңдасанда кездеседі. Ресейдің Волгоград, Ростов, Воронеж, Новосібір облыстары мен Краснояр өлкесі және Қалмақияның Қызыл Кітаптарына енген [17, 18, 19]. Ал Қазақстан аумағында бұл түрдің таралуы жөніндегі мәліметтер тек XX ғасырдың екінші жартысында жарық көрген



«Флора споровых растений Казахстана» атты кешенді еңбектің VI томында (Гастеромицеты) ғана келтіріледі [20]. Мұнда *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. Қазақстан аумағында анықталған жерлері келесідей көрсетілен: Шығыс Қазақстан облысы, Өрел ауылынан солтүстікке қарай, Бұқтырма өзенінің сол жағалауындағы қайыңды-көктеректі орманындағы шөптесін қауымдастығында 10.09.1961 ж., Г.И. Петько; Алма-Ата облысы, Іле елді-мекенінің маңы, Қапшағай шатқалы, 05.06.1937 ж., М.Н. Кузнецова және К. Параскив; осы аймақта Іле өзенінің төменгі ағысы, Тау-Құм құмдарының батыс бөлігінде, 15.06.1945 ж., Н.И. Суворов; Іле ауылынан 70 км жерде, Іле өзенінің сол жағалауында, 10.08.1958 ж., Н.Ф. Кашкарова; сол жерге жақын орналасқан Ағаш-аяқ ауылында, 19.10.1945 ж., Л.П. Гвоздева; сол жерде, Орта Бақанас құрғақ арнасының маңындағы дөңес құмдарда, 18.08.1948 ж., К. Русяева; Жоңғар қақпасында, 25.08.1959 ж., Л.Я. Курочкина; Шарын өзенінің жайылма үсті террасасы, теректер мен жыңғылдардың арасында, 09.24.1960 ж., З.В. Кубанская; Тасқарасу өзенінің сағасындағы құмдарда, 02.06.1965 ж., Г.И. Петько; Жамбыл облысы, Шу өзенінің сол жағалауы, Қосқұдық орманды саяжайында, 29.09.1940 ж., Б.И. Кравцев; Шу өзенінің төменгі ағысында, 10.08.1964 ж., О.У. Лушпа; Шымкент облысы, Мойынқұм құмдарынан 30 км оңтүстікке қарай Жуантөбе ауылының маңы, 10.07.1960, В.И. Терехов; Қызыл-Орда облысы, Шиелі станциясының төңірегіндегі сексеуілдікте, 19-26.10.1946 ж., Б.А. Быков; Сырдария өзенінің сол жағалауы, Қызылорда қаласының төңірегінде, 14.05.1948 ж., С.Р. Шварцман; Қаратаудың бөктері, Жаңа-Қорған станциясының қасындағы сексеуілді далада, 10.08.1948 ж., А.П. Гамаюнова; Дариялық тақыр, Қызыл-жыңғыл шатқалында, 09.07.1957 ж., М.П. Васягина; Қызылорда қаласынан 20 км жерде, 14.07.1957 ж., М.П. Васягина; осы аймақта Сырдария өзенінің сол жақ жағалауы, Қара-Өзек темір жол бекеті маңында, 12.08.1958 ж., О.У. Лушпа; сол жерде, Жосалы ауылының маңы, Иіркөл маңы, 28.08.1958 ж., Н.Ф. Писарев және Н.М. Филимонова; Ақтөбе облысы, Итассай өзенінің төменгі ағысы, қыраттарда, 06.07.1962, Н.Ф. Писарев; Шалқар темір жол бекетіне жақын орналасқан қыстау маңы, 29.07.1965 ж., Е.И. Андреева [20]. Байқағанымыздай құмдарда, тақырларда, алювиалды тақырлы, құмды топырақтарда, құмды және сазды шөлдер мен жартылай шөлейттерде, кейде ағаштар арасында және өте сирек бол-

са да, таулы-қыратты жерлерде де кездеседі [20, 21].

Соңғы жылдардағы зерттеулерде *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. Шарын өзенінің жайылмасындағы құмдақты топырақта С.Б. Нурашов 04.10.2004 жылы тіркеген, осы автор 20.07.2015 жылы бұл түрді Үлкенсай шатқалында (N 43°21'18.1" EО 79°56'34.0"), №6 қорықша бөлімшесі, теңіз деңгейінен 1795 м биіктікте табылғанын мәлімдеді. Ал 27.09.2017 жылы С.Б. Нурашов Чакрамбал шатқалының оңтүстік беткейінде, теңіз деңгейінен 2321 биіктікте (N 43°07'54.3" EО 80°08'07.3") анықтаған [22].

Сонымен, *Battarrea phalloides* Еуразияның шегінде далалық және шөлейтті құрғақ (аридті) зонаға тән ксероморфты түр деп бағалауға негіз бар.

Осыған орай, **жұмыстың мақсаты:** Батыс Қазақстан облысы шегіндегі Жайық өзені аңғарында алғаш рет анықталған Agaricaceae тұқымдасына жататын *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. саңырауқұлағының таралу жағдайына сипаттама беру.

### Материалдар мен әдістемелер

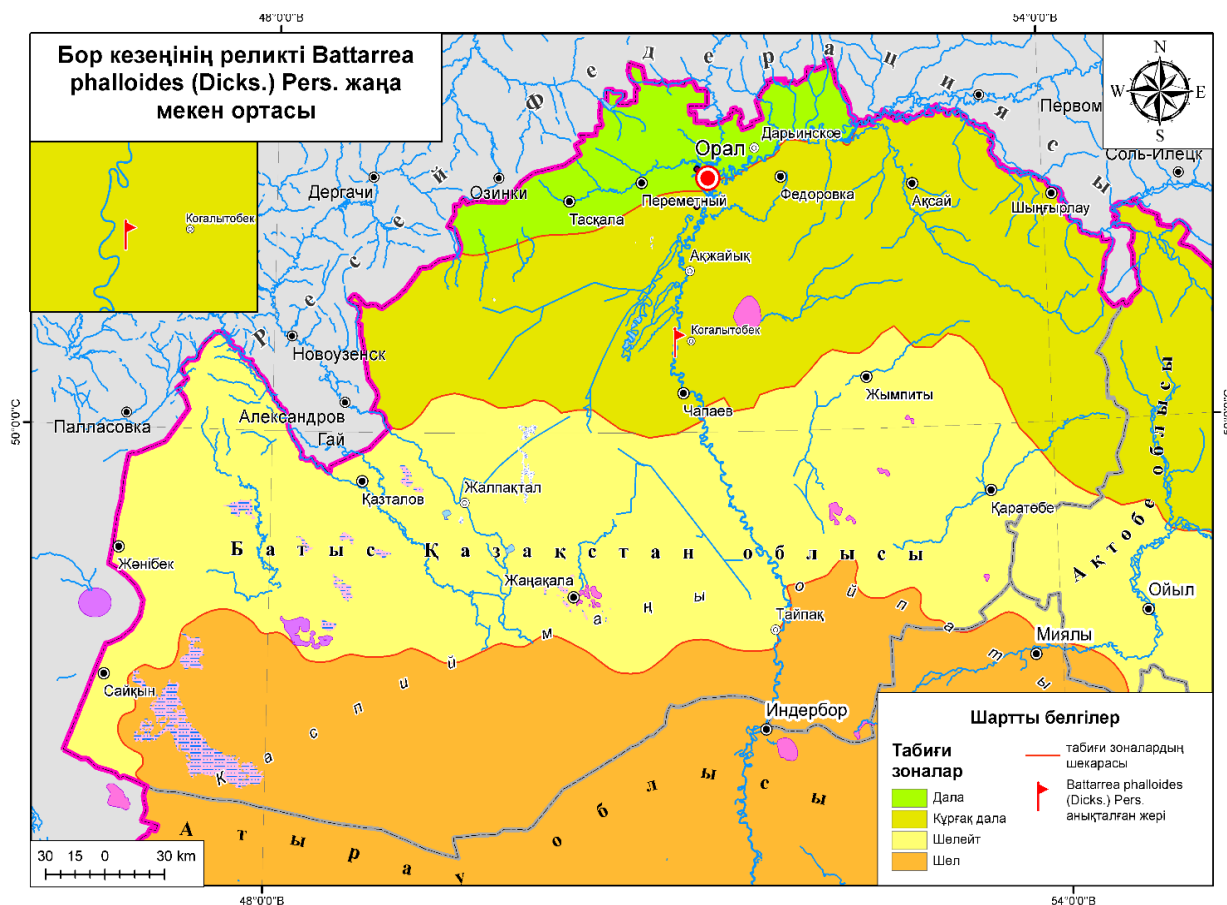
**Зерттеу нысаны:** *Battarrea* туысының өкілі *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. Бұл туыс өкілдері Бор дәуірінің жәдігерлері болып табылды және бүкіл әлемдегі құрғақ (аридті) зоналарда кең таралған, қоңыржай климат жағдайында тек құмды-шөлді саздақ топырақты далаларда кездеседі. Әдебиет көздеріне сүйенсек, *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. ареалы Еуразияның далалы және шөлейтті аумағын алып жатыр [1, 15-21]. Қазақстан Республикасында шығыс және оңтүстік аймақтарда, сонымен қатар Іле, Шу, Шарын, Сырдария өзендері мен Итассай өзенінің төменгі ағысында анықталып, тіркелген [20, 22]. 1-суретте *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. саңырауқұлағының үлгілері жиналған жерлердің GPS навигатор бойынша координаттары келтірілген: N 50°26.007 E 051°08.510, теңіз деңгейінен биіктігі 11 м.

**Зерттеу әдістері:** Зерттеу жұмыстары Батыс Қазақстан облысы шегінде Жайық өзені аңғары орманды алқабының территорияларында 2019-2020 жж. алдын-ала белгіленген жоспарлы ғылыми экспедициялық зерттеулер негізінде маршрутты әдіспен жүргізілді.

Саңырауқұлақтың жемісті денелерін жинау, кептіру және сақтау, олардың таралу ерекшеліктерін, субстраттарын, өсіп тұрған ортасындағы өсімдіктер қауымдастығын анықтау микологиялық және ботаникалық зерттеулерде қолданылып жүрген

әдістерге сүйене отырып жүргізілді [23]. Үлгілердің жемісті денесін суретке түсіру үшін Canon EOS 4000D камерасы қолданылды. Гербарилеуге және ұзақ мерзімге сақтауға арналған саңырауқұлақтың жемісті денелері зиянкестерден залалсыздандыру кептіргіш шкафтарда 50-55°C-та 30-40 мин бойы

жүргізілді. Әрбір саңырауқұлақ үлгісі тиісті өңдеуден өткізілген соң арнайы нөмірленген қаптамада сақтауға қойылды. Әр қаптамада саңырауқұлақ үлгісінің реестрлік номері, түрлік атауы, жиналған жері мен күні және коллектордың аты-жөні көрсетілді.



1-сурет – *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. популяциясының анықталған жері

Саңырауқұлақ түрлерін идентификациялау үлгінің морфологиялық сипаттамасы негізінде арнайы анықтағыштардың көмегімен жүргізілді. Саңырауқұлақтың жемісті денелерінің, базидияларының және спораларының макро- және микроөлшемдері бинокулярлық лупаларды және EVOS® FL/FL Colog флуоресцентті микроскопын пайдалана отырып жасалды, суретке түсірілді [20, 24, 25, 26, 27].

Өсімдіктердің латынша атауы, таксондардың номенклатуралық өзгерістері С.К.Черепанов (1995) [28] және «Қазақстанның түікті өсімдіктерінің тізімі» (1999) [29] бойынша келтірілді. Саңырауқұлақтардың номенклатурасы Index

Fungorum ([www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org)) мәліметтер базасына [6] сәйкес көрсетілді.

### Нәтижелер мен талқылаулар

Батыс Қазақстан облысы шегінде Жайық өзені аңғары орманды алқабының макромицеттер алуантүрлілігін зерттеу мақсатында жүргізілген ғылыми экспедиция барысында Теректі ауданы, Қоғалытөбек ауылы маңындағы кара теректі-кияқөлеңді орманды қауымдастықта кесілген ағаш түбірінің қасынан біздің аймақ үшін алғаш рет бор дәуірінің реликті *Battarrea Persoon* [30], 1801 (Basidiomycota, Agaricaceae)

туысының өкілі *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. анықтадық (2-сурет).

Жас жемісті денелерінің қалпақшасы шар немесе жұмыртқа тәріздес, көлемдері көлденеңінен 3-6 см, түсі қою сарғыш, ақшыл, ескі жемісті денелерінде қоңыр, жіңішке ұзын қабыршақтармен жабылған. Жемісті дененің ішін борпылдақ глеба деп аталатын тін толтырып тұрады.

Есейе келе онда қуыстар пайда болады, піскен кезде ұнтаққа айналады. Жемісті дененің ішін қаптап тұрған эндоперидий қабаты жұқа, тегіс, ол экватор бағытта ажырағанда жемісті дененің жоғарғы бөлігі толығымен түсіп, тек аяғына бекітілген төменгі, дөңес бөлігі ғана қалады. Әдетте жемісті дененің төменгі бөлігі қабысқан жартылай шар тәрізді, диаметрі 3-10 см.



2-сурет – Далалық зерттеу барысында жиналған *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers үлгілерінің жалпы көрінісі

Гимения қуыстарының қабырғаларын симметриялы емес палисадтық қабат қаптап тұрады. Базидиялар шоқпар тәрізді 1-4 стеригмалары бар. Споралары шар тәрізді (3-сурет), үш қабатты қабығы бар, кейде қырлы, диаметрі 4,8-12 мкм болып келеді: сыртқы түссіз, жұқа түтікшелі, ортаңғысы боялған және ішкісі түссіз. Капиллиций жіптәрізді, немесе аздап тармақталған, қалыңдығы 4,8-12 мкм, түссіз. Глебада капил-

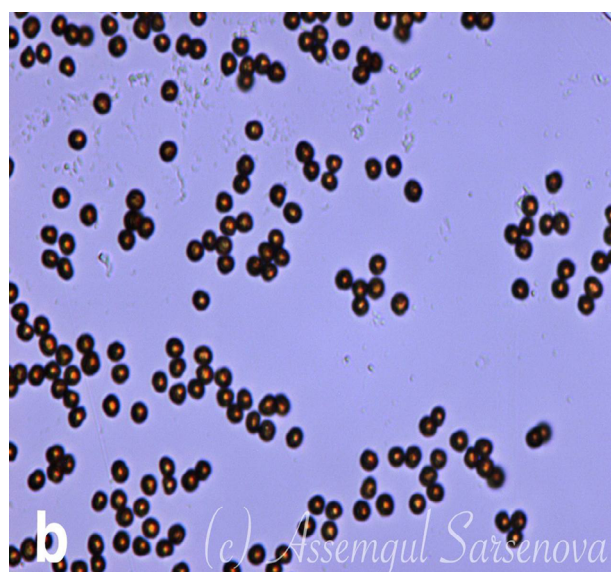
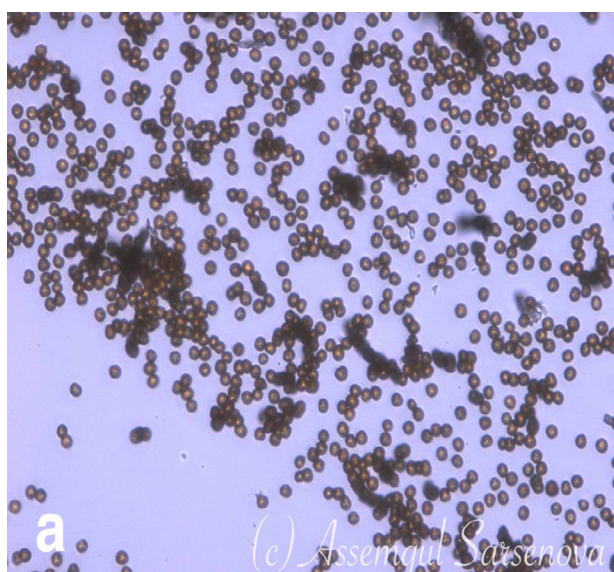
ляциядан басқа сақина немесе спираль тәрізді бұралған элатерлер де бар.

Аяқшасы цилиндр тәрізді, ұзындығы 15,5-46 см, қалыңдығы 1,2-4 см, қуыс, сүректенген, жоғарғы және төменгі бөлігіне қарай аздап жіңішкерген. ұзындығы 20-32 см, қалыңдығы 1-1,5 см (4-сурет). Перидийі екі қабаттан тұрады. Экзоперидий қабаты қалың, көп ұзамай ажырап түседі де, кейін тек эндоперидийге

жабысқан ұсақ топырақ түйіршіктерімен бірге аяқшаның негізінде вольва түрінде қалады. Вольва тостағанша, немесе кері конус тәрізді, қос қабатты, биіктігі 11-5, ені 5-8 см, қасаң болып келеді.

Зерттеу аумағы екі ірі Еуразиялық-далалық және Сахара-Гобилік шөлейтті ботаникалық-географиялық аймақ, Бореальды және Ежелгі жерортатеңіздік патшалық тармақтың тоғысында жататын Жайық өзенінің орталық жайылмасын алып жатыр. Жер бедері арна жайылма-

сында толқынды құм жалдарынан құрылған, орталық жайылмада жалпылай тегістеу болып келеді, кейде көтеріңкі жалдар мен созылыңқы, немесе табақша тәрізді келген ойпатшалар кездеседі. Терраса маңындағы жайылма орталық жайылмамен салыстырғанда төмен деңгейде орналасады. Орталық жайылмада жал аралық ойыстармен бөлінген параллельді доғатәріздес жалдар байқалады. Жал аралық ойыстар биік терраса маңы мен орталық жайылмада орналасқан.



3-сурет – *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. 40x (a) 60x (б) ұлғайтылған споралары



4-сурет – *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. қалпақшасының үстіндегі спорасы мен қалпақшасының астындағы спорасы

Жайық өзенінің төменгі ағысында жайылманың шалғынды топырақтары түрлі үйлесімде кездеседі: нашар жетілген құмдақты, аллювийлі-шалғынды карбонатты ауыр саздақты, аллювийлі-шалғынды сортаңданған саздақты, аллювийлі-шалғынды топтырақтар, аллювийлі-шалғынды көмілген қабаты бар сортаңды орташа

саздақты, аллювийлі-шалғынды қоңыр түсті ауыр немесе орташа саздақты, шалғынды ақшыл сортаңданған ауыр саздақты, шалғынды ауыр саздақты сортаңдар, шалғынды сорлар, батпақтанған шалғындар т.б.

Жайық өзенінің жайылмасында интразоналды жайылма топырақтар таралған. Жайылма

түріне байланысты пайда болатын топырақтардың қасиеттері де әртүрлі. Мысалы, арна маңы жайылмасында механикалық құрамы құмды, құмдақты топырақтар пайда болса, орталық жайылманың ойыс бөліктері мен терраса етегінде ауыр механикалық құрамды жайылма топырақтар пайда болған.

Арна маңы жайылманың нашар жетілген топырағының механикалық құрамы жеңіл, яғни құмдақты болып келуі көктемде жайылған су тасқынымен келген құрамы әртүрлі түйірлердің шөгуімен байланысты. Яғни, алдымен құмды және құмдақты бөлшектер шөгеді, ал ортаңғы және терраса маңы жайылмаларында ұсақ саз бөлшектерінің шөгуіне орай механикалық құрамы ауыр саздақты, немесе сазды болып келеді.

Зерттеу нысаны орналасқан жайылмалы ормандарда жайылмалы орманды-шалғынды топырақтар басым.

Зерттеу аумағындағы орман қауымдастығының басым түрін *Populus nigra* L. құраса, 2-ярустағы негізгі орман құраушы ағаштарға *Populus alba* L., *Salix alba* L., *Ulmus laevis* Pall., *Acer negundo* L. жатады. Орман ағаштарының бұталы ярусын *Prunus spinosa* L., *Rosa canina* L., *Rhamnus cathartica* L., *Lonicera tatarica* L. құрайды. Шөптесін жамылғыда *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth., *Leonurus cardiaca* L., *Cynoglossum officinale* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Dracocephalum ruyschiana* L., *Arctium lappa* L. және т.б. өседі (5-сурет).



5-сурет – Зерттеу аумағының орман қауымдастығы

Біз бұл реликт түрді (*Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers.) 2020 жылдың қараша айында Жайық өзенінің төменгі ағысындағы жал аралық ойыста қара теректі-қиякөленді (*Populus nigra* L., *Carex acutiformis* Ehrh.) қауымдастықтан тіркедік. Түрдің анықталған орындары реликт көл болып табылатын ұзындығы 7 км, ені 50-60 м, тереңдігі 5 метрге дейінгі, айналасын түгел дерлік қара теректі-талды тоғай қоршаған Бобровое көлінің маңы (N 50°26'01.6» E 51°08'03.8») мен Жайық өзені орталық жайылмасының жал

аралық ойыстарында кең таралған түрлі орман қауымдастықтарының арасы.

Орталық жайылманы ақ теректі (*Populus alba* L.), қара теректі (*Populus nigra* L.), шегіршінді (*Ulmus laevis* Pall.) орман алқаптары мен шалғынды қауымдастықтар – қылтанақсыз арпабасты (*Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub), жатаған бидайықты (*Elytrigia repens* (L.) Nevski), үшкірлеу қиякөленді (*Carex acutiformis* Ehrh.) және қызыл миялы (*Glycyrrhiza glabra* L.) қауымдастықтар алып жатыр.

Плакорларды қоршап жатырған өсімдік жамылғысы Каспий маңы ойпатында басымдық көрсететін қара жусанды (*Artemisia pauciflora* Weber), ақ жусанды (*Artemisia lercheana* Weber ex Stechm.), жатаған изенді (*Kochia prostrata* (L.) Schrad) және бұтақты қияқты (*Leymus ramosus* (Trin.) Tzvelev) бұташықтармен көрініс табады.

### Қорытынды

Зерттеу нысанымыз *Agaricaceae* тұқымдасына жататын *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. әдетте, ашық шөлейтті-далалық топырақтық гастеромицет болып табылады. Мезозой дәуірінің, бор кезеңінде пайда болып, біздің заманымызға дейін жеткен реликт.

Біздің зерттеуіміздің нәтижесінде бұл саңырауқұлақты алғаш рет 2020 жылы далалық және шөлейтті аймақтың шекарасында орналасқан Батыс Қазақстан облысы шегінде Жайық өзенінің төменгі ағысы аңғарынының орталық жайылмасында ақ теректі (*Populus alba* L.), шегіршінді (*Ulmus laevis* Pall), талды (*Salix alba* L.) алқапта Бобровое реликт көлі маңындағы ұсақжапырақты қара теректі (*Populus nigra* L.) орман қауымдастығында анықтадық. Бұл түрдің осы аймақта алғаш тіркелуі.

Зерттеу аумағы Бударин мемлекеттік қорықшасының территориясына кіреді. Жайық өзені

аңғарының орманды алқабының микофлоралық кешенінің дамуына және сақталуына қорықша аумағында экожүйенің әртүрлі антропогендік әсерлерден қорғалуының тікелей қатысы бар. Ерекше микроклиматтық жағдайына байланысты және айрықша қорғалатын аймақ болғандықтан экожүйенің қалыпты сақталуынан болар бұл ортаны реликт түрлердің анклавы іспеттес. Өйткені, бұл аумақта құнды макромицеттерден өзге үштік дәуірдің реликт өсімдіктері – су жаңғағы (*Trapa natans* L.) мен жүзгіш сальвиния да (*Salvinia natans* L.) тіршілік етеді.

Адам факторына байланысты табиғи кешендердің бұзылуы, әсіресе соңғы ғасырларда, әлемдік сипат алып, үдей түсуде. Мұндай жағдай сирек кездесетін, реликт және эндемдік түрлер үшін өте қауіпті. Бұлардың Жер бетінен мүлдем жойылып кетуіне әкеп соқтыруы мүмкін. Сондықтан да сирек және жойылу қаупі төнген түрлердің қазіргі кездегі жағдайын, таралу аралы анықтап, биоэкологиялық ерекшеліктерін зерттеп, осы зерттеулер нәтижесінде оларды кешенді қорғау бағдарламаларын жасап, іске асыру еліміздің биоалуантүрлілігін сақтаудың басты кепілі болып табылады. Осы орайда мақаланың нысаны *Battarrea phalloides* (Dicks.) Pers. жайлы берілген мәліметтер жоғарыда айтылған басты мақсатқа – маңызды үлес болады деген ойдамыз.

### Әдебиеттер

- 1 Гарибова Л.В. В царстве грибов. – М.: Лесн. промыш-сть, 1981. – 192 с.
- 2 Ellis JB, Ellis MB. Fungi without gills (Hymenomycetes and Gasteromycetes): an identification handbook. – London: Chapman & Hall, 1990. – p. 342.
- 3 Watling R., Gücin F., Isiloglu M. *Battarraea phalloides* – its history, biology and extention to its distribution. //Nova Hedwigia – 1995 – 60 (1/2) – 13-18.
- 4 Gibson I. *Battarrea phalloides* (DICKS.: PERS.) PERS. Desert drumstick. – In Klinkenberg, B., (Ed.), E-Flora BC: Electronic atlas of the plants of British Columbia [eflora.bc.ca]. – Lab for Advanced Spatial Analysis, Department of Geography, University of British Columbia, Vancouver, 2013. (Accessed: 09 Feb 2021).
- 5 Abdel-Azeem AM, Nafady NA. New records on the genus Tomophagus and Battarrea for mycobiota of Egypt.// Current Research in Environmental & Applied Mycology – 2019 – 9(1) – 77–84 – Doi 10.5943/cream/9/1/8
- 6 Index Fungorum Database. Available from <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp> (accessed: 09 Feb 2021)
- 7 Martín MP, Johannesson H. *Battarrea phalloides* and *B. stevenii*, insight into a long-standing taxonomic puzzle. //Mycotaxon – 2000 – 76 – 67–75.
- 8 Jeffries P, McLain L. Synonymy between *Battarrea phalloides* and *B. stevenii*. // English Nature Research Reports – 2004 – 625 p.
- 9 Ivancevic B, Mesic A, Tkalec Z, Kusan I, Horjan I. Studies on Croatian Basidiomycota 3: the first record of *Battarrea phalloides* (Agaricales) with a worldwide taxonomic review of *Battarrea species* // Nova Hedwigia – 2016 – 102 – 197 – 209 – DOI: 10.1127/nova\_hedwigia/2015/0300
- 10 Kantharaja, R.; Krishnappa, M. Morphological and molecular phylogenetic studies on *Battarrea phalloides* (Agaricales): a new report to Indian mycobiota. // Journal of Threatened Taxa – 2020 – 12(8) – 15881 – 15888 – DOI: <https://doi.org/10.11609/jott.5679.12.8.15881-15888>
- 11 Shepherd LD, Cooper JA. First record of the fungus *Battarrea phalloides* (Agaricaceae) in New Zealand. // New Zealand Journal of Botany – 2017 – 1 – 6 – DOI: 10.1080/0028825X.2017.1385491

- 12 Martín MP, Rusevska K, Dueñas M, Karadelev M. *Battarrea phalloides* in Macedonia: genetic variability, distribution and ecology. // *Acta Mycologica* – 2013 – 48(1) – 113 – 122.
- 13 Ivancevic, B. *Battarrea phalloides*. In: IUCN 2019. The Global Fungal Red List Initiative. -2017. Accessed on 09 February 2021. [http://iucn.ekoo.se/iucn/species\\_view/159853/](http://iucn.ekoo.se/iucn/species_view/159853/)
- 14 ECCF (2019) Red List candidates. <http://www.eccf.eu/candlist-subtotals.xls> Edgar RC
- 15 Lacheva A M. New data of some rare larger fungi of Agaricaceae (Agaricales) in Bulgaria. // *Science and Technologies* – 2012 с – 2(6) – 24–29.
- 16 Uzunov B. New Localities of *Battarrea phalloides* (Basidiomycota) in Bulgaria. /*Annual of Sofia University “St. Kliment Ohridski”*. Faculty of Biology. Book 2 – Botany – 2014 – 99 – 71–75.
- 17 Моров В.П., Солтанов А.В. Первая находка грибов рода *Battarrea* Persoon (Agaricomycetes, Tulostomataceae) в Самарской области // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2019 – Т. 28, № 3 – 172-173 – DOI 10.24411/2073-1035-2019-10251
- 18 Саркина И. С., Багрикова Н. А. Заносные виды микобиоты на Южном берегу Крыма: макромицеты // *Экосистемы*. – 2017 – Вып. 11(41). – С. 3-9.
- 19 Саркина И. С. Напочвенные макромицеты парков Никитского ботанического сада // *Научные записки природного заповедника «Мыс Мартьян»* – 2014а – Вып. 5. – С. 45 – 60.
- 20 Шварцман С.Р., Филимонова Н.М. Флора споровых растений Казахстана. Гастеромицеты. – Алма-Ата: Наука, 1970. – Т.6. – 318 с.
- 21 Howladar S, Mahmoud Y Ag, Meriseel, A. *Battarrea phalloides* – new for Saudi Arabia. // *Österr. Z. Pilzk* – 2013- 22 – 1–6.
- 22 Рахимова Е.В., Нам Г.А., Ермакова Б.Д., Джетиғенова У.К., Кызметова Л.А., Есенгулова Б.Ж. Разнообразие грибов пустынных низкогорий юго-востока Казахстана и хребта Кетмень. – Алматы, 2017. – 296 с.
- 23 Бондарцев А. С., Зингер Р. А. Руководство по сбору высших базидиальных грибов для научного их изучения // *Тр. Ботан. ин-та АН СССР*. – 1950 – Сер. 2, вып. 6. – С. 499–543.
- 24 Гарибова Л.В., Сидорова И.И. Грибы. Энциклопедия природы России. – М.: ABF, 1997. – 352 с.
- 25 Сержанина Г.И. Шляпочные грибы Белоруссии: Определитель и конспект флоры. – Минск: Наука и техника, 1984. – 406 с.
- 26 Сосин П.Е. Определитель гастеромицетов СССР. – Л.: Наука, 1973. – 163 с.
- 27 [https://www.mushroomexpert.com/battarrea\\_phalloides.html](https://www.mushroomexpert.com/battarrea_phalloides.html)
- 28 Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). – СПб.: Мир и семья, 1995. – 992 с.
- 29 Абдулина С.А. Список сосудистых растений Казахстана. – Алматы, 1999. – 187 с.
- 30 Ferretti, A., Saar, I., & Knijn, A. (2020). On two endangered species (*Myriostoma coliforme* and *Battarrea* sp.) sharing the same microhabitat. // *Italian Journal of Mycology* – 2020 – 49(1) – 1–7 – DOI: <https://doi.org/10.6092/issn.2531-7342/10039>

## References

- 1 Abdel-Azeem AM, Nafady NA. New records on the genus *Tomophagus* and *Battarrea* for mycobiota of Egypt.// *Current Research in Environmental & Applied Mycology* – 2019 – 9(1) – 77–84 – Doi 10.5943/cream/9/1/8
- 2 Abdullina S.A. (1999) Spisok sosudistyxh rasteniy Kazakhstana [List of vascular plants of Kazakhstan]. – Almaty. – 187p.
- 3 Bondarcev A.S., Zinger R.A. (1950) Rukovodstvo po sboru vysshih bazidial'nyh gribov dlja nauchnogo ih izucheniya [Guidance on the collection of higher basidiomycetes for the scientific study of], *Trudy Botanicheskogo instituta im. V. L. Komarova. Ser. 2.* – Vol. 6. –P. 499 – 543.
- 4 Cherepanov S.K. (1995) Sosudistye rasteniya Rosii i sopredelnyh gosudarstv [Vascular plants of Russia and neighboring states (within the former USSR)]. – SPb.: Mir i sem'ya. – 992 p.
- 5 ECCF (2019) Red List candidates. <http://www.eccf.eu/candlist-subtotals.xls> Edgar RC
- 6 Ellis JB, Ellis MB. Fungi without gills (Hymenomycetes and Gasteromycetes): an identification handbook. – London: Chapman & Hall, 1990. – p. 342.
- 7 Ferretti, A., Saar, I., & Knijn, A. On two endangered species (*Myriostoma coliforme* and *Battarrea* sp.) sharing the same microhabitat. // *Italian Journal of Mycology* – 2020 – 49(1) – 1–7 – DOI: <https://doi.org/10.6092/issn.2531-7342/10039>
- 8 Garibova L.V. V carstve gribov (1981) [In the kingdom of mushrooms]. – М.: Lesn. prom-st'. – 192 p.
- 9 Garibova LV, Sidirova II (1997) Mushrooms. Encyclopedia of Russian nature [Griby. Enciklopedija prirody Rossii]. – Moscow: ABF. – 352 p.
- 10 Gibson I. *Battarrea phalloides* (DICKS.: PERS.) PERS. Desert drumstick. – In Klinkenberg, B., (Ed.), *E-Flora BC: Electronic atlas of the plants of British Columbia [eflora.bc.ca]*. – Lab for Advanced Spatial Analysis, Department of Geography, University of British Columbia, Vancouver, 2013. (Accessed: 09 Feb 2021).
- 11 Howladar S, Mahmoud Y Ag, Meriseel, A. *Battarrea phalloides* – new for Saudi Arabia. // *Österr. Z. Pilzk* 2013 – 22 – 1 – 6.
- 12 [https://www.mushroomexpert.com/battarrea\\_phalloides.html](https://www.mushroomexpert.com/battarrea_phalloides.html)
- 13 Index Fungorum Database. Available from <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp> (accessed: 09 Feb 2021)
- 14 Ivancevic B, Mesic A, Tkalec Z, Kusan I, Horjan I. Studies on Croatian Basidiomycota 3: the first record of *Battarrea phalloides* (Agaricales) with a worldwide taxonomic review of *Battarrea species* // *Nova Hedwigia* – 2016 – 102 – 197–209 – DOI: 10.1127/nova\_hedwigia/2015/0300

- 15 Ivancevic B. *Battarrea phalloides*. In: IUCN 2019. The Global Fungal Red List Initiative. -2017. Accessed on 09 February 2021. [http://iucn.ekoo.se/iucn/species\\_view/159853/](http://iucn.ekoo.se/iucn/species_view/159853/)
- 16 Jeffries P, McLain L. Synonymy between *Battarrea phalloides* and *B. stevenii*. // English Nature Research Reports – 2004 – 625 p.
- 17 Kantharaja R.; Krishnappa M. Morphological and molecular phylogenetic studies on *Battarrea phalloides* (Agaricales): a new report to Indian mycobiota. // Journal of Threatened Taxa – 2020 – 12(8) – 15881–15888 – DOI: <https://doi.org/10.11609/jott.5679.12.8.15881-15888>
- 18 Lacheva A M. New data of some rare larger fungi of Agaricaceae (Agaricales) in Bulgaria. // Science and Technologies – 2012 c – 2(6) – 24 – 29.
- 19 Martín MP, Johannesson H. *Battarrea phalloides* and *B. stevenii*, insight into a long-standing taxonomic puzzle. // Mycotaxon – 2000 – 76 – 67–75.
- 20 Martín MP, Rusevska K, Dueñas M, Karadelev M. *Battarrea phalloides* in Macedonia: genetic variability, distribution and ecology. // Acta Mycologica – 2013 – 48 (1) – 113 – 122.
- 21 Morov V.P., Soltanov A.V. (2019) Pervaya nakhodka gribov roda *Battarrea* Persoon (Agaricomycetes, Tulostomataceae) v Samarskoj oblasti [First find of mushrooms *Battarrea* Persoon (Agaricomycetes, Tulostomataceae) in Samara region.] // Samarskaya Luka: problemy regional'noj i global'noj ekologii. – V. 28, № 3 – 172 – 173 – DOI 10.24411/2073-1035-2019-10251
- 22 Rahimova E.V., Nam G.A., Ermekova B.D., Dzhetigenova U.K., Kyzmetova L.A., Esengulova B.ZH. (2017) Raznoobrazie gribov pustynnyh nizkogorij yugo-vostoka Kazahstana i hrebta Ketmen' [Variety of fungi of desert low mountains of the southeast of Kazakhstan and the Ketmen ridge] – Almaty. – 296 p.
- 23 Sarkina I. S. (2014a) Napochvennyye makromicety parkov Nikitskogo botanicheskogo sada [Soil macromycetes in the parks of the Nikitsky Botanical Garden] // Nauchnye zapiski prirodnogo zapovednika «Mys Mart'yan». – Iss.5. – 318 p.
- 24 Sarkina I. S., Bagrikova N. A. (2017) Zanosnye vidy mikrobioty na Yuzhnom beregu Kryma: makromicety [Aliens species of mycobiota on Southern Coast of the Crimea: macromycetes] // Ekosistemy. – Iss.11(41). – pp. 3-9.
- 25 Schwartzman S. R., Filimonova N. M. (1970) Flora sporovykh rasteniy Kazahstana. T. 6. Gasteromitsety [Flora of the spore plants of Kazakhstan. Vol. 6. Gasteromycetes]. – Alma-Ata: Nauka. – 318 p.
- 26 Serzhanina, G.I. (1984) Shlyapochnye griby Belorussii: opredelitel' i konspekt flory [Agaricales in Belarus: Guide to Identification and Diversity]. – Moscow: Nauka i Tekhnika. – 406 p.
- 27 Shepherd LD, Cooper JA. First record of the fungus *Battarrea phalloides* (Agaricaceae) in New Zealand. // New Zealand Journal of Botany – 2017 – 1 – 6–DOI: 10.1080/0028825X.2017.1385491
- 28 Sossin P. E. (1973) Opredelitel gasteromicetov SSSR [Handbook of the gasteromycetes of the USSR]. – Leningrad: Nauka. – 164 p.
- 29 Uzunov B. New Localities of *Battarrea phalloides* (Basidiomycota) in Bulgaria. /Annual of Sofia University “St. Kliment Ohridski”. Faculty of Biology. Book 2 – Botany. – 2014 – 99 – 71 – 75.
- 30 Watling R., Gücin F., Isiloglu M. 1995. *Battarraea phalloides* – its history, biology and extention to its distribution. //Nova Hedwigia – 1995 – 60 (1/2) – 13 – 18.



2-бөлім  
**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

---










Section 2  
**BIOTECHNOLOGY**

---

Раздел 2  
**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

МРНТИ 34.27.29, 34.25.29

<https://doi.org/10.26577/eb.2021.v88.i3.04>

М.С. Алексюк\* , А.П. Богоявленский , П.Г. Алексюк ,  
И.А. Зайцева , Е.С. Молдаханов , К.С. Аканова ,  
Н.С. Соколова , Э.С. Омиртаева , В.Э. Березин 

ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», Казахстан г. Алматы

\*e-mail: madina.a06@gmail.com

## АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИОФАГА CEC\_KAZ\_2018 ПРОТИВ ШТАММОВ *E. COLI*, ВЫЗЫВАЮЩИХ КОЛИБАКТЕРИОЗ ЦЫПЛЯТ

В соответствии с Европейским агентством по безопасности пищевых продуктов (EFSA) кампилобактериоз, сальмонеллез и эшерихиоз являются основными патогенами пищевого происхождения и как следствие серьезной проблемой для общественного здравоохранения. Из-за неконтролируемого использования антибиотиков в качестве пищевых добавок птицеводческая отрасль одной из первых столкнулась с проблемой распространения антибиотикоустойчивости среди бактериальных патогенов. Возникновение инфекций с множественной лекарственной устойчивостью и неэффективность антибиотиков является одной из основных проблем современной ветеринарии. Постепенное увеличение числа бактерий с множественной лекарственной устойчивостью привело к росту исследований по использованию бактериофагов для борьбы с бактериальными инфекциями. Фаготерапия является весьма перспективным направлением, благодаря высокой специфичности бактериофагов, их безвредности и способности размножаться непосредственно на патогене. Кроме того, бактериофаги обнаруживают в каждой экосистеме и их приблизительная численность на Земле может достигать  $10^{31}$ , что более чем в 10 раз превышает количество охарактеризованных бактерий, которые являются практически неисчерпаемым источником для выделения новых, более эффективных штаммов.

В данном исследовании был проведен анализ распространения штаммов *E. coli* на птицеводческих хозяйствах Алматинской области, а также изучение морфологии бактериофага CEC\_KAZ\_2018 и его литических свойств по отношению к вновь выделенным штаммам *E. coli*.

Из органов цыплят с признаками колибактериоза было изолировано и идентифицировано 15 культур *Escherichia coli*. Анализ филогенетических групп изолятов показал, что большинство (73,4%) относились к филогруппе D. При этом было выявлено, что до 50% изолятов проявляли устойчивость к антибиотикам III поколения: цефтазидиму, азтреонаму и цефтазидим/клавуланату.

В результате изучения спектра литической активности было установлено, что бактериофаг CEC\_KAZ\_2018 способен лизировать 10 из 15 изолированных культур. Тем самым данный бактериофаг является весьма перспективным кандидатом для создания на его основе антибактериальных препаратов для борьбы с колибактериозом цыплят.

**Ключевые слова:** колибактериоз, АРЕС, антибиотикорезистентность, бактериофаг, BIOLOG®.

M.S. Alexyuk\*, A.P. Bogoyavlenskiy, P.G. Alexyuk, I.A. Zaitseva, Y.S. Moldakhanov,  
K.S. Akanova, N.S. Sokolova, E.S. Omirtaeva, V.E. Berezin

LLC "Research and Production Center for Microbiology and Virology", Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: madina.a06@gmail.com

### Activity of CEC\_KAZ\_2018 bacteriophage against *E. coli* strains causing colibacillosis in chickens

According to the European Food Safety Agency (EFSA) campylobacteriosis, salmonellosis and escherichiosis are major foodborne pathogens and, as a consequence, a serious public health problem. Due to the uncontrolled use of antibiotics as food additives, the poultry industry was one of the first faced the problem of spreading antibiotic resistance among bacterial pathogens. The emergence of multidrug-resistant infections and the ineffectiveness of antibiotics is one of the main problems of modern veterinary medicine. The gradual increase in the number of multidrug-resistant bacteria has led to an increase in research on the use of bacteriophages to combat bacterial infections. Phage therapy is a very promising alternative approach, due to the high specificity of bacteriophages, their harmlessness and the ability to reproduce directly on the pathogen. In addition, bacteriophages are the most abundant organisms and

their approximate number on Earth can reach  $10^{31}$ , and are an almost inexhaustible source for isolating new, more effective strains.

In this study, the distribution of *E. coli* strains on poultry farms in the Almaty region were analyzed, as well as studied the morphology of the CEC\_KAZ\_2018 bacteriophage and its lytic properties in relation to newly isolated *E. coli* strains.

From samples of internal organs of chickens with signs of colibacillosis, 15 cultures of *Escherichia coli* were isolated and identified. Analysis of the phylogenetic groups of isolates showed that the majority (73.4%) belonged to phylogroup D. It was revealed that up to 50% of the isolates showed resistance to antibiotics of the third generation: ceftazidime, aztreonam, and ceftazidime / clavulanate.

Findings of the current study on the spectrum of lytic activity showed that the bacteriophage CEC\_KAZ\_2018 is able to lyse 10 out of 15 isolated cultures. Thus, this bacteriophage is a very promising candidate for the creation of antibacterial agents to combat colibacillosis in chickens.

**Key words:** colibacillosis, APEC, antibiotic resistance, bacteriophage, BIOLOG®.

М.С. Алексюк\*, А.П. Богоявленский, П.Г. Алексюк, И.А. Зайцева, Е.С. Молдаханов, К.С. Аканова, Н.С. Соколова, Э.С. Омиртаева, В.Э. Березин

«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС, Қазақстан, Алматы қ.

\*e-mail: madina.a06@gmil.com

### CEC\_KAZ\_2018 бактериофагының тауық колибактериозын тудыратын *E. coli* штамдарына қарсы белсенділігі

Азық-түлік қауіпсіздігі жөніндегі Еуропалық агенттікке (EFSA) сәйкес қарастырғанда кампилобактериоз, сальмонеллез және эшерихиоз-тамақтанудың негізгі қоздырғыштары және нәтижесінде денсаулық сақтау үшін үлкен мәселе тудырады. Антибиотиктерді тағамдық қоспалар ретінде бақылаусыз қолданудың арқасында құс шаруашылығы алғашқылардың бірі болып бактерияларды қоздырғыштар арасында антибиотикке төзімділіктің таралу проблемасына тап болды. Көптеген дәрілерге төзімді инфекциялардың пайда болуы және антибиотиктердің тиімсіздігі қазіргі ветеринарияның негізгі проблемаларының бірі болып табылады. Көптеген дәрілерге төзімді бактериялар санының біртіндеп артуы бактериялық инф. Фаготерапия бактериофагтардың жоғары ерекшелігіне, олардың зиянсыздығына және патогенге тікелей көбейту қабілетіне байланысты өте перспективалы бағыт болып табылады. Инфекциялармен күресу үшін бактериофагтарды қолдану бойынша зерттеулердің өсуіне әкелді. Сонымен қатар, бактериофагтар әр экожүйеде кездеседі және олардың жер бетіндегі шамамен саны  $10^{31}$ -ге жетуі мүмкін, бұл сипатталған бактериялардың санынан 10 есе көп және жаңа, тиімді штамдарды шығарудың іс жүзінде таусылмайтын көзі болып табылады.

Бұл зерттеуде біз *E. coli* штамдарының Алматы облысындағы құс фабрикаларында таралуын талдадық, сонымен қатар CEC\_KAZ\_2018 бактериофагының морфологиясын және оның жаңадан оқшауланған *E. coli* штамдарына қатысты литикалық қасиеттерін зерттедік.

Колибактериоз белгілері бар тауық мүшелерінен 15 *Escherichia coli* дақылдары оқшауланып анықталды. Изоляттардың филогенетикалық топтарын талдау көрсеткендей, көпшілігі (73,4%) d филогруппасына жатады. Сонымен қатар, изоляттардың 50%-ына дейін үшінші буындағы антибиотиктерге: цефтазидим, азтреонам және цефтазидим / клавуланатқа төзімділік көрсететіні анықталды.

Литикалық белсенділіктің спектрін зерттеу нәтижесінде CEC\_KAZ\_2018 бактериофагының 15 оқшауланған дақылдардың 10-ынан лизис алуға қабілетті екендігі анықталды. Осылайша, бұл бактериофаг тауықтардағы колибактериозбен күресу үшін оның негізінде бактерияға қарсы дәрі-дәрмектер құрудың өте перспективалы үміткері болып табылады.

**Түйін сөздер:** колибактериоз, APEC, антибиотикке төзімділік, бактериофаг, BIOLOG®.

## Введение

*E. coli* является одной из составляющей нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта не только млекопитающих, но и птиц [1]. Являясь комменсальным организмом, некоторые штаммы кишечной палочки могут приобретать патогенность и стать причиной развития у цыплят таких болезней как перикардит, воздуш-

ный саккулит, перигепатит, перитонит и другие внекишечные заболевания, в совокупности, называемые колибактериозом.

Патогенные штаммы *E. coli* ставшие причиной развития любой локальной или системной инфекции, получили обозначение APEC – Avian Pathogenic *E. coli*.

APEC принадлежит объединяет микроорганизмы нескольких серотипов; и остается одним

из самых распространенных бактериальных заболеваний, поражающим птицеводство во всем мире [1]. АРЕС может стать причиной массовой смертности среди поголовья цыплят на птицефабриках, что приводит к серьезным экономическим потерям, при этом выжившие цыплята, в основном имеют недостаточный вес, что делает не рентабельным их дальнейшее содержание [2, 3]. Из-за стресса, вызванного сопутствующими инфекциями и плохими условиями содержания колибактериоз может развиваться и у взрослой птицы [4]. Кроме того, АРЕС может поражать и яйца птицы вызывая перитонит яиц и инфекцию желточного мешка [5–7]. Клинические признаки колибактериоза малоспецифичны и проявляются в виде внезапной смерти, слабости, летаргии, депрессии, снижении аппетита, замедлении роста и, диареи. Тяжесть заболевания определяется возрастом, длительностью инфекции, условий ведения и существующих сопутствующих инфекций [8, 9]. АРЕС может быть охарактеризована на основе факторов вирулентности, серотипа, филогенетической группы и лекарственной устойчивости и принадлежит в основном к группе B2 и D [10, 11].

Типичная стратегия профилактики АРЕС включают строгий контроль предрасполагающих факторов, введение антибиотиков на начальных стадиях заболевания, а также вакцинацию. К сожалению, чрезмерное использование антибиотиков без определения к ним чувствительности у микроорганизмов и отсутствие комплексного подхода приводит к формированию множественной лекарственной устойчивости у *E. coli*, что в дальнейшем значительно снижает эффективность антибиотикотерапии вспышек колибактериоза [12, 13]. Кроме того, с точки зрения экологии, безопасности конечного продукта и здравоохранения, необходимо минимизировать использование антибиотиков при выращивании сельскохозяйственных животных, включая домашнюю птицу [14].

На сегодняшний день наиболее часто применяемыми антибактериальными препаратами для лечения колибактериоза являются тетрациклины, фторхинолоны и сульфаниламиды, вследствие чего регистрируют высокие показатели устойчивости к данным препаратам [15]. Например, в ходе проведенных исследований была выявлена устойчивость более чем у 80% штамма *E. coli*, выделенной из печени бройлеров 10 различных хозяйств Китая, к фторхинолонам, налидиксовой кислоте, тетрациклину и другим классам антибиотиков [16]. При исследовании

штаммов АРЕС была обнаружена 100% устойчивость к антибиотикам тетрациклину и сульфаметоксазол/триметоприму, и 79% этих же штаммов показали устойчивость к хлорамфениколу, ампициллину, ципрофлоксацину и энрофлоксацину [17].

Ранее проведенные исследования по разнообразию антигенного состава *E. coli* среди поголовья кур на некоторых предприятиях малого бизнеса, занимающихся выращиванием бройлеров на территории Республики Казахстан, показали, что частота распространения разных серогрупп *E. coli* варьировала. Группа патогенного серотипа O157 и патогенных групп так называемых не O157 серогрупп: O26, O111, O103, O145 составляла 62% среди анализируемых последовательностей, группа птичьих серогрупп (O1, O18, O78) составляла 15% последовательностей, а на долю остальных 11 групп приходилось 23% последовательностей. Также при изучении антибиотикорезистентности изолированных от погибших цыплят 12 и 19 дневного возраста с явными клиническими признаками колибактериоза штаммов *E. coli* на тест планшетах с 12 антибиотиками беталактамов и цефалоспоринов показало, что некоторых из них устойчивы не только к группе беталактамов, но и цефалоспоринов 3 и 4 поколения [18]. В поисках альтернативных стратегий профилактики и борьбы с бактериальными инфекциями одним из наиболее популярных предложений на Генеральной Ассамблеи ООН 21 сентября 2016 года являлся пересмотр практики терапии бактериофагами [19].

Бактериофагами называются вирусы, встречающиеся в окружающей среде, способные контролировать численность бактериальной популяции. Эти вирусы не имеют патогенное воздействие на животных или растения. Благодаря этой характеристике они могут быть использованы в борьбе с некоторыми бактериальными заболеваниями сельскохозяйственных животных [20]. Большим преимуществом бактериофагов является то, что они существуют в огромном количестве в природе и безопасны для использования в качестве альтернативы антибиотикам. Применение фаготерапии в пищевой и сельскохозяйственной промышленности значительно сократит глобальное использование антибиотиков. В некоторых развитых странах фаги одобрены для использования и имеются в продаже; например, ListShield™ и EcoShield™ были одобрены Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов

США (FDA) для борьбы с патогенами пищевого происхождения [21-24].

В данном исследовании был проведен анализ распространения штаммов *E. coli* на птицеводческих хозяйствах Алматинской области, а также изучение морфологии бактериофага СЕС\_KAZ\_2018 и его литических свойств по отношению к вновь выделенным штаммам *E. coli*.

### Материалы и методы

В исследованиях использовали бактериофаг СЕС\_KAZ\_2018 из коллекции ТОО «НПЦ микробиологии и вирусологии». Бактериофаг был выделен на культуре *E. coli* Фаес.А1К, вызывающей колибактериоз птиц. Ранее проведенное полногеномное секвенирование данного фага позволило установить, что он принадлежит к порядку *Caudovirales*, семейству *Siphoviridae* [25].

**Выделение бактериальных культур.** Все культуры *E. coli* были изолированы патолого-анатомическим методом из туш бройлеров с признаками колибактериоза. Отбор туш проводили с птицефабрик алматинской области (АО «Алатау Кус», «Сорбулак»). Все бактериальные культуры были изолированы из органов погибших бройлеров с признаками колибактериоза и фекалий. Образцы желудка, почек, печени, кишечника и фекалий всех цыплят-бройлеров помещали на агар MacConkey. Инокулированные чашки Петри инкубировали в течение ночи при температуре 37 °С. После инкубирования были изолированы колонии розовато-красного цвета и бесцветные, предположительно лактозонегативные и лактозопозитивные культуры.

Идентификацию изолированных культур проводили с помощью системы определения микроорганизмов Biolog GEN III (Biolog, USA).

В микропланшетах Biolog GEN III анализировали микроорганизмы по 94 фенотипическим тестам: использования 71 источника углерода и чувствительности к 23 химическим веществам. Все необходимые питательные и биохимические вещества предварительно нанесены на микропланшет Biolog GEN III производителем. Для колориметрической индикации окислительно-восстановительной активности использовали соли тетразолия. В лунки планшета наносили суспензию тестируемой бактериальной культуры объемом 100 мкл, заранее подготовленной согласно протоколу производителя. Планшеты с нанесенной культурой инкубировали в течение 18-24 часов при температуре 33 °С. По истечении времени инкубации планшеты анализировали при помощи программного обеспечения системы идентификации OmniLog® Data Collection.

**Определение филогрупп выделенных штаммов.** ПЦР для определения филогрупп была проведена с использованием праймеров, нацеленных на четыре основные филогенетические группы (А, В1, В2 и D) по методу, описанному Clermont et al [26]. Вкратце, ПЦР проводили в объемах 25 мкл, содержащих 2,5 мкл реакционного буфера, 2,5 мкл 2мМ dNTP, 0,5 мкл каждого праймера, 0,4 мкл ДНК-полимеразы Taq Pol (Thermo Scientific) и 1 мкл ДНК. Условия ПЦР были следующими: денатурация 5 мин при 94 °С; 30 циклов по 30 секунд при 94 °С, 30 секунд при 55 °С и 30 секунд при 72 °С; и последняя стадия удлинения 7 мин при 72 °С. Продукты ПЦР визуализировали в ультрафиолетовом свете после электрофореза в 1% агарозном геле. Отнесение к филогенетической группе А, В1, В2 и D зависело от обнаружения генов *YjaA*, *TspE4.C2* и *ChuA* или их комбинации, как описано Clermont et al (2000). Детали использованных праймеров перечислены в Таблице 1.

**Таблица 1** – Последовательности праймеров для определения филогенетических групп *E. coli* и размеры ампликонов

Ген	Последовательность праймера (5' – 3')	Размер ампликона (пн)
ChuA	F: GACGAACCAACGGTCAGGAT R: TGCCGCCAGTACCAAAGACA	279
yjaA	F: TGAAGTGTTCAGGAGACGCTG R: ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC	211
TspE4.C2	F: GAGTAATGTCGGGGCATTCA R: CGCGCCAACAAAGTATTACG	152

**Тестирование выделенных бактериальных культур на лекарственную устойчивость.**

Определение антибиотикочувствительности изолированных культур проводили согласно протоколу производителя при помощи набора СЕНСИ-ЛА-ТЕСТ Г-II (Erba Mannheim, Чехия) для определения чувствительности бактерией сем. *Enterobacteriaceae* к антибактериальным препаратам. Выбор концентраций антибиотика и интерпретация результатов основаны на европейских стандартах EUCAST ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)) от 05.01.2011. Набор содержал следующие антибиотики: Пиперациллин/тазобактам, Меропенем, Цефепим, Цефтазидим, Азтреонам, Тигециклин, Нетилмицин, Цефтазидим/клавуланат. Метод основан на регидратировании лунок с антибиотиками с помощью суспензионной среды и последующим внесением бактериальной суспензии. Результаты чувствительности микроорганизмов учитывали через 18-24 ч инкубации визуально.

**Выделение бактериальной ДНК.** Бактериальную ДНК выделяли из суточной культуры при помощи набора Pure Link Genomic DNA (Invitrogen, USA). Из полученной ДНК были сделаны аликвоты для использования в ПЦР.

**Определение спектра литической активности бактериофага СЕС\_KAZ\_2018.** Спектр литической активности бактериофага СЕС\_KAZ\_2018 определяли путём его совместного культивирования с изолированными бактериями в микропланшетах. В лунки микропланшета вносили 150 мкл МПБ, 50 мкл фаголизата и 50 мкл суточной бактериальной суспензии с индексом мутности 1 McF. В качестве контроля роста бактериальной тест-культуры использовали образцы, содержащие вместо бактериофага 50 мкл стерильного натрий-фосфатного буфера, pH 7,4. В качестве отрицательного контроля использовали образец, содержащий только 250 мкл стерильной питательной среды. Каждый эксперимент проводили минимум в 3 повторностях. Динамику роста бактерий оценивали по изменению оптической плотности суспензии при 600 нм. Сканирование микропланшетов проводили на многоканальном спектрофотометре Tecan Infinite 200 Pro через каждые 30 минут в течении всего срока культивирования [27].

**Морфологическое исследование бактериофага с помощью электронной микроскопии.** Структуру бактериофага СЕС\_KAZ\_2018 изуча-

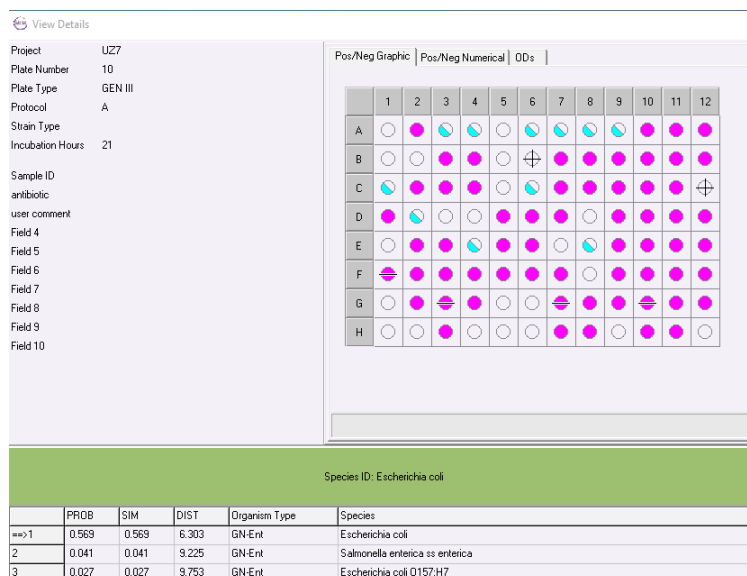
ли методом трансмиссионной электронной микроскопии при инструментальном увеличении в 60 – 80 тысяч раз. Перед нанесением образца на сеточки бактериофаг концентрировали методом ультрацентрифугирования. Образцы негативно контрастировали 3% фосфорно-вольфрамовой кислотой (pH 6,8) методом флотационного или капельного окрашивания. В качестве подложки для препаратов использовали органические смолы на основе виниловых полимеров.

**Результаты исследований и их обсуждение**

В результате исследований и посева органов цыплят с признаками эшерихиоза методом отпечатка на селективную среду было выделено 20 культур, предварительно относящихся к лактозонегативным и лактозопозитивным представителям семейства *Enterobacteriaceae*. Родовая и видовая идентификация изолятов в системе Biolog, подтвердила, что 15 изолятов относились к семейству *Enterobacteriaceae*, роду *Escherichia*, виду *Escherichia coli* с максимальной вероятностью и сходством до 56,9% (рисунок 1, таблица 2).

ПЦР-амплификация, нацеленная на гены *ChuA*, *ujaA* и *TspE4.C2*, классифицировала 15 изолятов АРЕС на филогенетические группы В1, В2 и D. В таблице 3 представлены гены и / или их комбинации, филогенетическая группа и доля изолятов *E. coli* в каждой категории.

В результате изучения антибиотикочувствительности изолятов *E. coli* было показано, что 7 из 15 изолятов не проявляли устойчивость ни к одному из исследуемых антибиотиков. 6 изолятов проявляли устойчивость к трем антибиотикам: цефтазидиму, азтреонаму и цефтазидим/клавуланату, 1 изолят (Kid. m/l 04.06) помимо 3-х перечисленных проявлял устойчивость к комбинированному антибиотику пиперациллин/тазобактаму и к нетилмицину. 1 изолят (Sor. int. bc2) была устойчива лишь к азтреонаму. Препараты меропенем, цефепим и тигециклин подавляли рост всех изолированных культур. Резистентность минимум к трем классам противомикробных препаратов; и, следовательно, множественная лекарственная устойчивость была выявлена у одного изолята (Kid. m/l 04.06). На рисунке 2 представлен средний процент резистентных изолятов к каждому из протестированных антибиотиков.



**Рисунок 1** – «Метаболический отпечаток» одной из исследуемых культур в системе идентификации OmniLog® Data Collection

**Таблица 2** – Биохимическая идентификация изолированных бактериальных культур по базе данных OmniLog® Data Collection

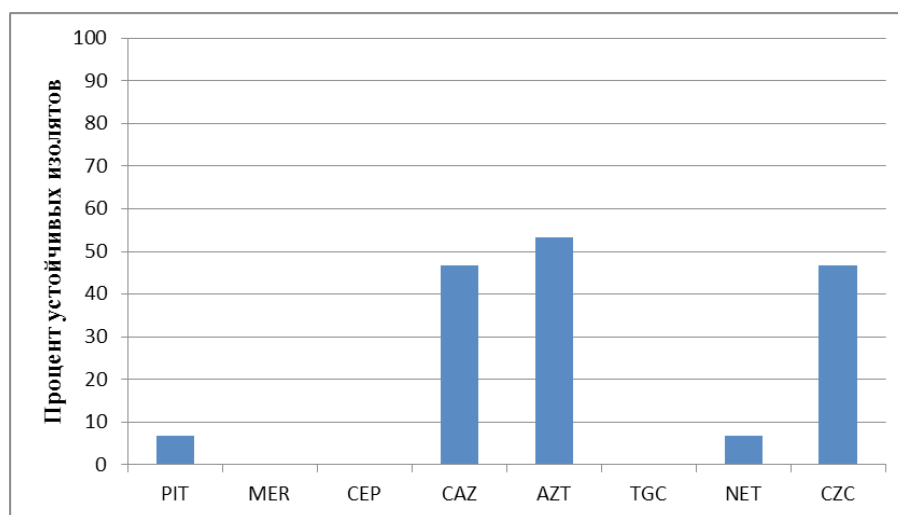
Название изолята <i>E. coli</i>	Вероятность	Сходство
Sor. stom. bc1	51%	51%
Sor. lb. sc2	56,9%	56,9%
Sor. bron. bc1	50,5%	50,5%
Sor. kid. bc1	55,0%	55,0%
Sor. bron. sc2	52,6%	52,6%
Sor. stom. sc2	52,9%	52,9%
Int. m/l 04.06	56,9%	56,9%
Liv. m/l 04.06	53%	53%
Kid. m/l 04.06	52,3%	52,3%
Faec. H. m/l Uz.	54,2%	54,2%
Sor. liv. sc2	52,9%	52,9%
Sor. kid. sc2	55,5%	55,5%
Sor. liv. bc2	51%	51%
Sor. int. bc2	50,3%	50,3%
Yun 3d pas	50,4%	50,4%

**Таблица 3** – Филогенетические группы изолятов

Название изолята <i>E. coli</i>	ПЦР – продукт			Фило – группа	Частота, n =15 (100%)
	chuA	yjaA	TSPE4.C2		
Sor.stom. bc1	-	-	+	B1	13,3%
Sor.bron.bc1	-	-	+	B1	

Продолжение таблицы 3

Название изолята <i>E. coli</i>	ПЦР – продукт			Фило – группа	Частота, n =15 (100%)
	chuA	yjaA	TSPE4.C2		
Faec.H.m/1 Uz.	+	+	-	B2	13,3%
Int. m/1 04.06	+	+	+	B2	
Liv. m/1 04.06	+	-	-	D	73,4%
Kid. m/1 04.06	+	-	-	D	
Sor. liv. sc2	+	-	+	D	
Sor. kid. sc2	+	-	+	D	
Sor. liv. bc2	+	-	+	D	
Sor. int. bc2	+	-	+	D	
Sor.stom sc2	+	-	+	D	
Yun 3d pas	+	-	-	D	
Sor. kid. bc1	+	-	+	D	
Sor.bron. sc2	+	-	+	D	
Sor. lb. sc2	+	-	-	D	



По оси ординат различные антибиотики: PIT – пиперацillin/тазобактам, MER – меропенем, CEP – цефепим, CAZ – цефтазидим, AZT – азтреонам, TGC – тигециклин, NET – нетилмицин, CZC – цефтазидим/клавуланат

**Рисунок 2** – Средний процент устойчивости к исследуемым антибиотикам среди всех полученных изолятов *E. coli*

Высокий уровень устойчивости АРЕС к противомикробным препаратам, продемонстрированный в этом исследовании, требует строгих правил использования антибиотиков на птицефабриках. Кроме того, из-за проблем, связанных с разработкой новых антибиотиков, высокий уровень резистентности подтверждает необходимость введения альтернативных средств, таких как фаготерапия. В связи с чем были изучены биологические свойства ранее выделенного

бактериофага CEC\_KAZ\_2018 и возможность его применения для лизиса выделенных изолятов *E. coli*.

Спектр литической активности бактериофага CEC\_KAZ\_2018 оценивали по его способности лизировать выделенные штаммы *E. coli* при совместном культивировании. Титр фаголизата по Грациа составлял не менее  $10^5$ - $10^6$  вирусных частиц в мл, индекс мутности суточной бактериальных суспензий составлял 1



McF. Количественное определение роста бактерий при совместном культивировании с бактериофагом проводили в микропланшетах на многоканальном спектрофотометре в течении 6 часов.

В результате было установлено (таблица 4), что бактериофаг СЕС\_KAZ\_2018 обладал литической активностью против 10 из 15 изолированных культур. При этом полностью подавлял рост 3-х изолятов *E. coli*. Рост двух изолятов *E. coli* Фаес.Н. m/l Uz. и Int. m/l 04.06 подавлял на 76 % и 73% соответственно. Рост изолятов Kid. m/l 04.06, Sor. liv. sc2, Sor. kid. sc2, Sor. int. bc2, Sor. stom sc2 сдерживал в пределах 30%.

ческой активностью против 10 из 15 изолированных культур. При этом полностью подавлял рост 3-х изолятов *E. coli*. Рост двух изолятов *E. coli* Фаес.Н. m/l Uz. и Int. m/l 04.06 подавлял на 76 % и 73% соответственно. Рост изолятов Kid. m/l 04.06, Sor. liv. sc2, Sor. kid. sc2, Sor. int. bc2, Sor. stom sc2 сдерживал в пределах 30%.

**Таблица 4** – Спектр литической активности бактериофага СЕС\_KAZ\_2018

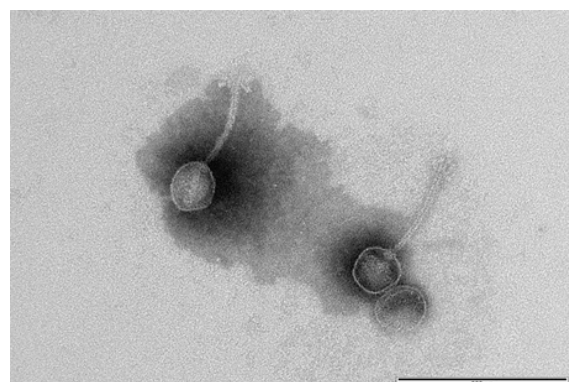
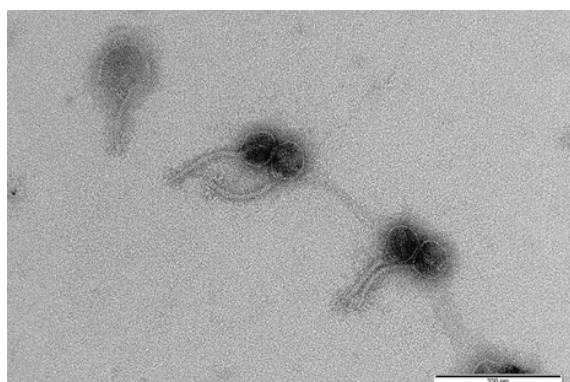
Название изолята <i>E. coli</i>	Уровень литической активности фага	Название изолята <i>E. coli</i>	Уровень литической активности фага
Sor.stom. bc1	-	Sor. liv. bc2	+++
Sor.bron.bc1	-	Sor. int. bc2	+
Фаес.Н. m/l Uz.	++	Sor.stom sc2	+
Int. m/l 04.06	++	Yun 3d pas	+++
Liv. m/l 04.06	-	Sor. kid. bc1	-
Kid. m/l 04.06	+	Sor.bron. sc2	-
Sor. liv. sc2	+	Sor. lb. sc2	+++
Sor. kid. sc2	+		

\* – +++ – подавление роста бактериальной культуры на 100-80%; ++ – подавление роста бактериальной культуры на 80-40%; + – подавление роста бактериальной культуры на 40-20%; -

Судя по результатам, касающихся диапазона хозяев, максимальное количество, которое лизировал бактериофаг СЕС\_KAZ\_2018, было 10 из 15 (около 67%). Это характеризует его как хорошего кандидата для включения в состав новых антибактериальных препаратов созданных на основе бактериофагов, которые будут использованы в качестве альтернативного терапевтического средства в птицеводстве.

Однако существует потребность в получении большего количества фагов с более широким кругом хозяев.

В результате исследования бактериофага СЕС\_KAZ\_2018 при помощи трансмиссионной электронной микроскопии было показано, что фаг имеет округлую головку с тонким, длинным, слегка изогнутым хвостом с ярко выраженными шипами (рисунок 3).



**Рисунок 3** – Фотографии электронной микроскопии бактериофага СЕС\_KAZ\_2018

По морфологическим признакам бактериофаг СЕС\_KAZ\_2018 был классифицирован как представитель отряда *Caudovirales* и семейства *Siphoviridae*, что дает возможность использования данного вируса даже против капсулообразующих микроорганизмов.

### Заключение

В результате проведенной работы, из органов цыплят с признаками колибактериоза, было изолировано 20 культур, относящихся к семейству *Enterobacteriaceae*, из которых 15 при помощи их «метаболического отпечатка» в системе Biolog были идентифицированы как *Escherichia coli*. Анализ филогенетических групп изолятов показал, что большинство (73,4%) относились к филогруппе D. В ходе исследования распространения антибиотикоустойчивости среди выделенных культур было выявлено, что около 50% изолятов проявляли устойчивость к трем антибиотикам: цефтазидиму, азтреонаму и цефтазидим/клавуланату. Была выявлена культура с резистентностью к трем разным классам противомикробных препаратов. В результате изучения спектра литической активности было установлено, что бактериофаг СЕС\_KAZ\_2018

обладал литической активностью против 10 из 15 изолированных культур.

Результаты данного исследования указывают, что фаговая терапия может быть эффективной альтернативой антибиотикам в борьбе с инфекциями АРЕС в птицеводстве. Между тем эффективность фаговой терапии во многом зависит от выявления циркулирующих бактериальных штаммов, изучения литических свойств и спектра активности выделенных фагов, их точный подбор и успешные эксперименты *in vivo*.

### Конфликт интересов

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

### Источник финансирования

Работа выполнена по теме проекта АР08052089 «Литические бактериофаги против эшерихиоза кур как основа новых терапевтических препаратов» выполняемому в рамках Договора от 13 мая 2020 года №61 на грантовое финансирование молодых учёных (2020-2022гг.)

### Литература

- 1 Dziva F., Stevens M.P. Colibacillosis in poultry: unravelling the molecular basis of virulence of avian pathogenic *Escherichia coli* in their natural hosts // *Avian Pathol.* – 2008. – Vol. 37. – P. 355–366.
- 2 Matin M.A., Islam M.A., Khatun M.M. Prevalence of colibacillosis in chickens in greater Mymensingh district of Bangladesh // *Vet World.* – 2017. – Vol. 10. – P. 29–33.
- 3 Stacy A.K., Mitchell N.M., Maddux J.T., De La Cruz M.A., Dura'n L., Giro'n J.A., et al. Evaluation of the prevalence and production of *Escherichia coli* common pilus among avian pathogenic *E. coli* and its role in virulence // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086565>.
- 4 Panth Y. Colibacillosis in poultry: A review // *J Agric Nat Resour.* – 2019. – Vol. 2. – P. 301–311.
- 5 Dou X., Gong J., Han X., Xu M., Shen H., Zhang D., et al. Characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated in eastern China // *Gene.* – 2015. – Vol. 576. – P. 244–248.
- 6 Paixao A.C., Ferreira A.C., Fontes M., Themudo P., Albuquerque T., Soares M.C., et al. Detection of virulence-associated genes in pathogenic and commensal avian *Escherichia coli* isolates // *Poult Sci.* – 2016. – Vol. 95. – P. 1646–1652.
- 7 Subedi M., Luitel H., Devkota B., Bhattarai R.K., Phuyal S., Panthi P., et al. Antibiotic resistance pattern and virulence genes content in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) from broiler chickens in Chitwan, Nepal // *BMC Vet Res.* – 2018. – Vol. 14. – P. 1–6.
- 8 Abalaka S., Sani N., Idoko I., Tenuche O., Oyelowo F., Ejeh S., et al. Pathological changes associated with an outbreak of colibacillosis in a commercial broiler flock // *Sokoto J Vet Sci.* – 2017. – Vol. 15. – P. 95–102.
- 9 Kabir L.S.M. Avian colibacillosis and salmonellosis: A closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns // *Int J Environ Res Public Health.* – 2010. – Vol. 7. – P. 89–114.
- 10 Johnson J.R., Stell A.L. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise // *J Infect Dis.* – 2000. – Vol. 181. – P. 261–272.
- 11 Picard B., Garcia S., Gouriou S., Duriez P., Brahim N., Bingen E., et al. The Link between Phylogeny and Virulence in *Escherichia coli* Extraintestinal Infection // *Infect Immun.* – 1999. – Vol. 67. – P. 546–553.
- 12 Gregova G., et al. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from a poultry slaughterhouse // *Ann Agric Environ Med.* – 2012. – Vol. 19. – P. 75–77.

- 13 Amara A., Ziani Z., Bouzoubaa K. Antibioresistance of E.coli strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis // *Veterinary microbiology*. – 1995. – Vol. 43(4). – P. 325–30.
- 14 Singer R.S., Hofacre C.L. Potential impacts of antibiotic use in poultry production // *Avian diseases*. – 2006. – Vol. 50(2). – P. 161–72.
- 15 Zhao S., Maurer J.J., Hubert S., De Villena J.F., McDermott P.F., Meng J., Ayers S., English L., White D.G. Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic Escherichia coli isolates // *Veterinary Microbiology*. – 2005. – Vol.107. – P. 215-224.
- 16 Yang H., Chen S., White D.G., Zhao S., McDermott P., Walker R., Meng J. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant Escherichia coli isolates from diseased chickens and swine in China // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2004. – Vol. 42. – P. 3483-3489.
- 17 Li X.S., Wang G.Q., Du X.D., Cui B.A., Zhang S.M., Shen J.Z. Antimicrobial susceptibility and molecular detection of chloramphenicol and florfenicol resistance among Escherichia coli isolates from diseased chickens // *Journal of Veterinary Science* – 2007. – Vol. 8. – P. 243-247.
- 18 Молдаханов Е.С., Алексюк М.С., Алексюк П.Г., Бияшев К.Б., Богоявленский А.П. Разнообразие антигенных свойств E.coli среди поголовья кур // *Исследования, результаты*. – 2019. – №1 (81). – С. 20-28.
- 19 Lin D.M., Koskella B., Lin H.C. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance // *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*. – 2017. – Vol. 8(3). – P. 162-173.
- 20 Huff W.E., Huff G.R., Rath N.C., Donoghue A.M. Immune interference of bacteriophage efficacy when treating colibacillosis in poultry // *Poultry Science*. – 2010. – Vol. 89. – P. 895-900.
- 21 Doffkay Z., Kovarcs T., Rarkhely G. Bacteriophage therapy against plant, animal and human pathogens // *Acta Biol Szegegd.* – 2015. – Vol. 59. – P. 291–302.
- 22 Miller R.W., Skinner E.J., Sulakvelidze A., Mathis G.F., Hofacre C.L. Bacteriophage therapy for control of necrotic enteritis of broiler chickens experimentally infected with Clostridium perfringens // *Avian Dis.* – 2010. – Vol. 54. – P. 33–40.
- 23 Wernicki A., Nowaczek A., Urban-chmiel R. Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry // *Virology*. – 2017. – Vol. 14. – P.1–13.
- 24 Kazibwe G., Katami P., Alinaitwe R., Alafi S., Nanteza A., Nakavuma J.L. Bacteriophage activity against and characterisation of avian pathogenic Escherichia coli isolated from colibacillosis cases in Uganda // *PLoS ONE*. – 2020. – Vol.15. – e0239107.
- 25 Moldakhanov Y.S., Alexyuk M.S., Bogoyavlenskii A.P., Alexyuk P.G., Turmagambetova A.S., Zaitseva I.A., Sokolova N.S., Akanova K.S., Anarkulova E.I., Omirtaeva E.S., Berezin V.E. Complete genome sequence of Escherichia-infecting phage CEC\_KAZ\_2018, isolated from soil // *Microbiol. Resour. Announc.* – 2019. – Vol. 8. – e00540-19.
- 26 Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E. Rapid and Simple Determination of the Escherichia coli Phylogenetic Group // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2000. – Vol. 66. – P. 4555–4558.
- 27 Alves D., Pérez Esteban P., Kot W., et al. A novel bacteriophage cocktail reduces and disperses Pseudomonas aeruginosa biofilms under static and flow conditions // *Microbial Biotechnology*. – 2016. – Vol. 9. – P. 61 – 74.

## References

- 1 Abalaka S., Sani N., Idoko I., Tenuche O., Oyelowo F., Ejeh S., et al. (2017) Pathological changes associated with an outbreak of colibacillosis in a commercial broiler flock. *Sokoto J Vet Sci.*, vol. 15, pp. 95–102.
- 2 Alves D., Pérez Esteban P., Kot W., et al. (2016) A novel bacteriophage cocktail reduces and disperses Pseudomonas aeruginosa biofilms under static and flow conditions. *Microbial Biotechnology.*, vol. 9, pp. 61 – 74.
- 3 Amara A., Ziani Z., Bouzoubaa K. (1995) Antibioresistance of E.coli strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis. *Veterinary microbiology.*, vol. 43(4), pp. 325–30.
- 4 Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E. (2000) Rapid and Simple Determination of the Escherichia coli Phylogenetic Group. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 66, pp. 4555–4558.
- 5 Doffkay Z., Kovarcs T., Rarkhely G. (2015) Bacteriophage therapy against plant, animal and human pathogens. *Acta Biol Szegegd.*, vol. 59, pp. 291–302.
- 6 Dou X., Gong J., Han X., Xu M., Shen H., Zhang D., et al. (2015) Characterization of avian pathogenic Escherichia coli isolated in eastern China. *Gene.*, vol. 576, pp. 244–248.
- 7 Dziva F., Stevens M.P. (2008) Colibacillosis in poultry: unravelling the molecular basis of virulence of avian pathogenic Escherichia coli in their natural hosts. *Avian Pathol.*, vol. 37, p. 355–366.
- 8 Gregova G., et al. (2012). Antibiotic resistance of Escherichia coli isolated from a poultry slaughterhouse. *Ann Agric Environ Med.*, vol. 19, pp.75-77.
- 9 Huff W.E., Huff G.R., Rath N.C., Donoghue A.M. (2010) Immune interference of bacteriophage efficacy when treating colibacillosis in poultry. *Poultry Science.*, vol. 89, pp. 895-900.
- 10 Johnson J.R., Stell A.L. (2000) Extended virulence genotypes of Escherichia coli strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J Infect Dis.*, vol. 181, pp. 261–272.
- 11 Kabir L.S.M. (2010) Avian colibacillosis and salmonellosis: A closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. *Int J Environ Res Public Health.*, vol. 7, pp. 89–114.
- 12 Kazibwe G., Katami P., Alinaitwe R., Alafi S., Nanteza A., Nakavuma J.L. (2020) Bacteriophage activity against and characterisation of avian pathogenic Escherichia coli isolated from colibacillosis cases in Uganda. *PLoS ONE.*, vol.15, e0239107.

- 13 Li X.S., Wang G.Q., Du X.D., Cui B.A., Zhang S.M., Shen J.Z. (2007) Antimicrobial susceptibility and molecular detection of chloramphenicol and florfenicol resistance among *Escherichia coli* isolates from diseased chickens. *Journal of Veterinary Science.*, vol. 8, pp. 243-247.
- 14 Lin D.M., Koskella B., Lin H.C. (2017) Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics.*, vol. 8(3), pp. 162-173.
- 15 Matin M.A., Islam M.A., Khatun M.M. (2017) Prevalence of colibacillosis in chickens in greater Mymensingh district of Bangladesh. *Vet World.*, vol.10, pp. 29–33.
- 16 Miller R.W., Skinner E.J., Sulakvelidze A., Mathis G.F., Hofacre C.L. (2010) Bacteriophage therapy for control of necrotic enteritis of broiler chickens experimentally infected with *Clostridium perfringens*. *Avian Dis.*, vol. 54, pp. 33–40.
- 17 Moldakhanov Y.S., Alexyuk M.S., Alexyuk P.G., Biyashev K.B., Bogoyavlenskiy A.P. (2019) Raznoobrazie antigennyh svoystv *E.coli* sredi pogolov'ya kur [Diversity of antigenic properties of *E. coli* among chickens]. *Issledovaniya, rezul'taty.*, vol. №1 (81), pp. 20-28.
- 18 Moldakhanov Y.S., Alexyuk M.S., Bogoyavlenskiy A.P., Alexyuk P.G., Turmagambetova A.S., Zaitseva I.A., Sokolova N.S., Akanova K.S., Anarkulova E.I., Omirtaeva E.S., Berezin V.E. (2019) Complete genome sequence of *Escherichia*-infecting phage CEC\_KAZ\_2018, isolated from soil. *Microbiol. Resour. Announc.*, vol. 8, e00540-19.
- 19 Paixao A.C., Ferreira A.C., Fontes M., Themudo P., Albuquerque T., Soares M.C., et al. (2016) Detection of virulence-associated genes in pathogenic and commensal avian *Escherichia coli* isolates. *Poult Sci.*, vol. 95, pp. 1646–1652.
- 20 Panth Y. (2019) Colibacillosis in poultry: A review. *J Agric Nat Resour.*, vol.2, pp.301–311.
- 21 Picard B., Garcia S., Gouriou S., Duriez P., Brahimi N., Bingen E., et al. (1999) The Link between Phylogeny and Virulence in *Escherichia coli* Extraintestinal Infection. *Infect Immun.*, vol. 67, pp. 546–553.
- 22 Singer R.S., Hofacre C.L. (2006) Potential impacts of antibiotic use in poultry production. *Avian diseases.*, vol. 50(2), pp. 161–72.
- 23 Stacy A.K., Mitchell N.M., Maddux J.T., De La Cruz M.A., Dura'n L., Giro'n J.A., et al. (2014) Evaluation of the prevalence and production of *Escherichia coli* common pilus among avian pathogenic *E. coli* and its role in virulence. *PLoS One.*, vol. 9, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086565>.
- 24 Subedi M., Luitel H., Devkota B., Bhattarai R.K., Phuyal S., Panthi P., et al. (2018) Antibiotic resistance pattern and virulence genes content in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) from broiler chickens in Chitwan, Nepal. *BMC Vet Res.*, vol. 14, pp. 1–6.
- 25 Wernicki A., Nowaczek A., Urban-chmiel R. (2017) Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry. *Virologia*, vol. 14, pp. 1–13.
- 26 Yang H., Chen S., White D.G., Zhao S., McDermott P., Walker R., et al. (2004) Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. *Journal of clinical microbiology.*, vol. 42(8), pp. 3483–9.
- 27 Zhao S., Maurer J.J., Hubert S., De Villena J.F., McDermott P.F., Meng J., Ayers S., English L., White D.G. (2005) Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Veterinary Microbiology.*, vol.107, pp. 215-224.

IRSTI 68.35.49

<https://doi.org/10.26577/eb.2021.v88.i3.05>

K. Zhapar<sup>1</sup>, D. Daurov<sup>1</sup>, D. Volkov<sup>1</sup>, A. Daurova<sup>1</sup>,  
D. Tolegenova<sup>1</sup>, Z. Abay<sup>1</sup>, A. Argynbaeva<sup>1</sup>, H.S. Kim<sup>2</sup>,  
S.S. Kwak<sup>2</sup>, M. Shamekova<sup>1\*</sup>, K. Zhambakin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Plant Breeding and Biotechnology Laboratory, Institute  
of Plant Biology and Biotechnology (IPBB), Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>Plant Systems Engineering Research Center, Korean Research Institute  
of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Korea, Daejeon

\*e-mail: shamekov@gmail.com

## SELECTION OF SWEETPOTATO CULTIVARS WITH HIGH YIELDS IN ALMATY REGION, KAZAKHSTAN

Sweetpotato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) is an attractive and industrial starch crop for ensuring global food and nutrition security in the face of the climate crisis. To select the proper cultivar with high yields at Almaty region, Kazakhstan, seven sweetpotato cultivars with different coloured tuberous roots were cultivated in 2018, 2019 and 2020. The results show that quantitative indicators of sweetpotato growth in southeast Kazakhstan are significantly dependent on cultivars and climatic conditions of cultivation years. 'A1' (31.2 t/ha) and 'Tainong 71' (22.1 t/ha) cultivars may be good candidates for the mass cultivation of sweetpotato in the Almaty region. The contents of vitamin C showed a diversity (1.0 ~ 6.7 g/100 g) depending on cultivars. Regarding sucrose content, the cultivars showed an average of 5.6 and 7.4 g/100 g in 2018 and 2019, respectively. Sucrose was a major component of total soluble solids in the studied cultivars, which corresponds with other literary data. The best cultivation practice of sweetpotato including plastic film mulching and fertilization remains to be studied to increase yields for commercial production in Kazakhstan.

**Key words:** Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.), cultivar, yield, tuberous root quality, Kazakhstan.

К. Жапар<sup>1</sup>, Д. Дауров<sup>1</sup>, Д. Волков<sup>1</sup>, А. Даурова<sup>1</sup>, Д. Толегенова<sup>1</sup>, Ж. Абай<sup>1</sup>,  
А. Аргынбаева<sup>1</sup>, Х.С. Ким<sup>2</sup>, С.С. Квак<sup>2</sup>, М. Шамекова<sup>1\*</sup>, К. Жамбакин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Селекция және биотехнология лабораториясы, Өсімдіктер биологиясы  
және биотехнологиясы институты, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>Өсімдік жүйелерінің инженерия зерттеу орталығы, Кәріс биология  
және биотехнология ғылыми-зерттеу институты, Корея, Теджон қ.

\*e-mail: shamekov@gmail.com.

### Қазақстанның Алматы облысындағы тәтті картоптың жоғары өнімді генотиптерін іріктеу

Тәтті картоп климаттық дағдарыс жағдайында ғаламдық азық-түлік пен тағамдық қауіпсіздік үшін тартымды өндірістік крахмалды дақыл. Өнімділігі жоғары қолайлы генотипті іріктеу үшін 2018, 2019 және 2020 жылдары Қазақстанның Алматы облысындағы тәтті картоптың түйнектері әр түрлі түсті жеті генотип өсірілді. Тәжірибеде алынған нәтижелері көрсеткендей, Қазақстанның оңтүстік-шығысында, яғни Алматы облысында тәтті картоп өсіру бойынша сандық көрсеткіштері генотип пен жылдың климаттық жағдайына едәуір тәуелді. А1 (31,2 т / га) және Tainong 71 (22,1 т / га) генотиптері Алматы облысында тәтті картопты жаппай өсіруге жақсы үміткерлер бола алады. Сахарозаның құрамына келетін болсақ, зерттелген генотиптер 2018 және 2019 жылдары сәйкесінше орташа 5,6 және 7,4 г / 100 г көрсетті. Сахароза зерттелген генотиптердегі TSS (жалпы еріген зат) негізгі компоненті болды, ол басқа әдебиеттермен сәйкес келеді. Тәтті картоп егінінің сапасы туралы мәліметтері жылдар бойынша және тәтті картоптың генотиптері арасындағы айырмашылықтардың маңызды болғанын көрсетті. Тәтті картоп өсірудің озық жаңа әдістері Қазақстанда коммерциялық өндірістің өнімділігін арттыру үшін әлі зерттеп енгізу керек.

**Түйін сөздер:** тәтті картоп (*Ipomoea batatas* L.), сорт, өнімділік, түйнектердің сапасы, Қазақстан.

К. Жапар<sup>1</sup>, Д. Дауров<sup>1</sup>, Д. Волков<sup>1</sup>, А. Даурова<sup>1</sup>, Д. Толегенова<sup>1</sup>, Ж. Абай<sup>1</sup>,  
А. Аргынбаева<sup>1</sup>, Х.С. Ким<sup>2</sup>, С.С. Квак<sup>2</sup>, М. Шамекова<sup>1\*</sup>, К. Жамбакин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория селекции и биотехнологии, Институт биологии  
и биотехнологии растений, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>Исследовательский центр инженерии растительных систем,  
Корейский научно-исследовательский институт биологии и биотехнологии, Корея, г. Тэджон  
\*e-mail: shamekov@gmail.com.

### Отбор генотипов высокоурожайного сладкого картофеля в Алматинской области Казахстана

Сладкий картофель (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) – привлекательная культура для здорового питания и обеспечения глобальной продовольственной безопасности. Для выбора подходящего генотипа с высокой урожайностью семь генотипов сладкого картофеля с клубнями разных цветов были выращены в Алматинской области Казахстана в 2018, 2019 и 2020 годах. Результаты, полученные в эксперименте, показывают, что количественные показатели роста сладкого картофеля существенно зависят от генотипа и климатических условий года выращивания. Генотипы «А1» (31,2 т / га) и «Тайнонг 71» (22,1 т / га) могут быть хорошими кандидатами для массового выращивания сладкого картофеля в Алматинской области. При этом по содержанию сахарозы исследованные генотипы показали в среднем 5,6 и 7,4 г / 100 г в 2018 и 2019 годах соответственно. Сахароза была основным компонентом TSS (общее количество растворенных веществ) в изученных генотипах, что согласуется с другими литературными данными. Показано, что различия по качественным показателям между годами выращивания и генотипами сладкого картофеля были значительными. Для повышения урожайности при массовом производстве в Казахстане необходимо изучить и внедрить новые методы культивирования сладкого картофеля.

**Ключевые слова:** Сладкий картофель (*Ipomoea batatas* L.), сорт, урожайность, качество клубней, Казахстан.

## Introduction

Sweetpotato belongs to the *Ipomoea* genus of the *Convolvulaceae* family, native to south and central America [1]. The optimum temperature for growth and development of sweetpotato is near 24°C [2], which means that it is relatively sensitive to low temperatures. Therefore, the minimum requirement for the cultivation of sweetpotato is a frost-free period lasting at least 4 months.

According to the World Food Organization, sweetpotato is planted on 9 million hectares annually and more than 112 million tons were harvested in 2017 [3]. The simplicity and high processability of sweetpotatoes are considered a part of food safety culture and a staple food in many countries [4, 5, 6]. The role of sweetpotato as a food crop is growing rapidly in other parts of the world, including sub-Saharan Africa and south America [3]. Sweetpotato has the high potential to address issues of food and nutrition security in the context of a changing global climate [7].

Sweetpotato is rich in complex carbohydrates, dietary fibre, potassium and antioxidants such as vitamin C, vitamin E,  $\beta$ -carotene (provitamin A), vitamin B2, polyphenols [8]. Studies have confirmed that sweetpotatoes are a low glycemic index (GI) food that can be beneficial for diabetics and fat people [9, 10]. With further research in this area, it may be possible to recommend the consumption of sweetpotato or extracts for people with diabetes or insulin resistance to control blood glucose concentrations. This therapy

should be cheaper than conventional medicines and may have fewer side effects [11, 12].

For Kazakhstan, sweetpotato can become a new source of healthy nutrition food due to high antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory, anti-diabetic and anti-inflammatory effects [13]. The problem of diabetes is relevant in Kazakhstan with over 300,000 people having diabetes, and this figure only includes patients who were directly diagnosed by doctors [14]. In Kazakhstan, sweetpotatoes are rarely consumed by the population. Sweetpotato in Kazakhstan is mostly imported from China and consumed by Kazakh repatriates and immigrants from east Asian countries. However, it has recently become known to the Kazakhstan people as a source of healthy nutrition. In this respect, the mass cultivation of sweetpotato is required for national food and nutrition security in southern Kazakhstan. For this purpose, we cultivated various cultivars of sweetpotatoes in the Almaty region to select proper cultivars for future commercial production.

## Materials and methods

### *Plant materials*

The main plant materials were provided for Kazakhstan in the framework of the “Memorandum of Cooperation in Research and Development between the Korean Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB) and the Institute of Plant Biology and Biotechnology (IPBB)” which was signed on April 2,

2013. From this, 20 cultivars were transferred based on previous research and 6 promising cultivars were selected, including ‘Rizi0603’, ‘Beauregard’, ‘Tainong 71’, ‘Xushu 28’, ‘Xushu 25’, and ‘Sinzami’ [15, 16]. One cultivar (‘A1’) was provided by a local farmer.

#### *Study area*

The field trial with sweetpotato occurred on the experimental field of the Institute of Plant Biology and Biotechnology in the Almaty region, Uzynagash village (43°10’41.1” N 76°19’53.5” E) in 2018, 2019 and 2020. The experimental field was located at an absolute altitude of 829 m a.s.l. The average air temperature in Uzynagash is 7.9°C and the annual precipitation is 426 mm (climate-data.org). The soil composition is predominantly meadow-chestnut, according to the Almaty region soil map. The previous crop cultivation was onion (*Allium cepa*).

#### *Growing sweetpotato plants in the field*

For the production of 30 cm long sweetpotato plantlets, storage roots of sweetpotatos were planted horizontally in 2/3 parts soil with vermiculite. After the formation of vines, vines were cut into 4~5 internode plantlets, removing the bottom 2~3 leaves. The plantlets were then placed in water for root formation (5~6 days). Plantlets were planted according to the hillock system. The distances between hillock rows and between the plantlets was 0.8 m and 0.3 m, respectively, resulting in 41667 plants/ha. Planting was carried out at the end of May. Irrigation was done with an interval of 4~6 days. Hilling and weeding were carried out manually. Chemical and natural fertilisers were not used during the experiment. Sweetpotato harvesting was carried out in one step at the end of September.

#### *Analyses of carbohydrate and vitamin C*

A randomly selected 500 g fresh weight of each sweetpotato cultivar was used for qualitative carbohydrate analysis. Carbohydrate composition was

measured by the research laboratory at the Almaty University of Technology according to State Union Standard number (31669-2012). The method is based on high-performance liquid chromatography (HPLC) with a refractometric detector and a thermostatic chromatographic column.

For qualitative analysis of vitamin C, 500 g of fresh weight of each sweetpotato cultivar was randomly selected. The content of vitamin C composition was measured by the “Nutritest” according to State Union Standard number (PEH 14130-2010). The method is based on the extraction of vitamin C from samples by metaphosphoric acid solution, subsequent reduction of L(+)-dehydroascorbic acid to L(+)-ascorbic acid, and determination of total content of L(+)-ascorbic acid by HPLC with spectrophotometric detection at a 265 nm wavelength.

#### *Statistical analyses*

The results were analysed by standard ANOVA techniques, using SPSS 23 software. Data are expressed as mean±standard error (total  $N=20$ ). Means separation was done using the least significant difference (LSD) test when model and treatment effects were significant ( $P < 0.05$ ).

#### *Morphological parameters of cultivar*

For each variety, the morphological parameters of tubers were evaluated (Table 1), using the corresponding international descriptor for sweetpotatos [17]. Assessment of morphological characteristics was carried out on tuberous roots of seven cultivars (Figure 1). The following parameters of tuberous roots were evaluated: shape, main skin colour, secondary skin colour, main flesh colour, secondary flesh colour and depth of eyes. Variability in morphological features within each cultivar was not detected.



**Figure 1** – Longitudinal section of tuberous roots of sweetpotato; a-‘Rizi0603’, b-‘Beauregard’, c-‘Tainong 71’, d-‘Xushu 28’, e-‘Xushu 25’, f-‘Sinzami’, g-‘A1’

**Table 1** – Morphological characteristics of the studied sweetpotato cultivars

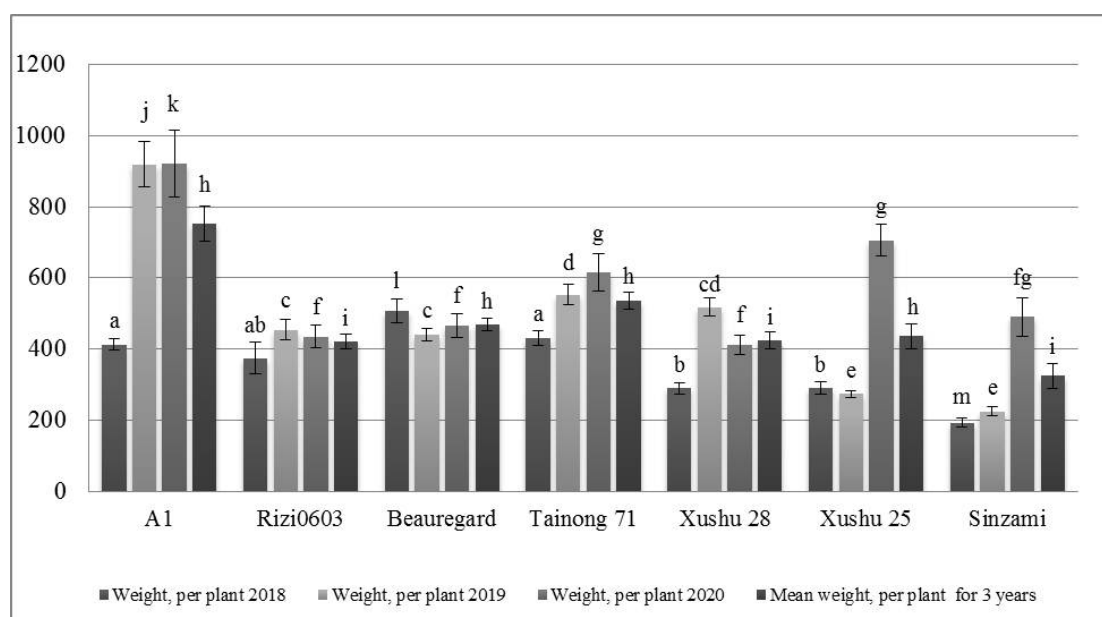
Cultivar	‘Rizi0603’	‘Beauregard’	‘Tainong 71’	‘Xushu 28’	‘Xushu 25’	‘Sinzami’	‘A1’
Shape	Oblong	Obovate	Ovate	Oblong	Oblong	Oblong	Oblong
Main skin colour	Dark purple	Light purple	Purple-red	Light pink	Pink	Purple	Pink
Secondary skin colour	Absent	Purple	Red	Pink	Absent	Purple	Purple
Main flesh colour	Purple	Cream	White	White	Orange	Purple	Yellow
Secondary flesh colour	Red	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Red	White
Intensity of main flesh colour	Intensive	Light	Light	Light	Medium	Intensive	Medium
Depth of eyes	Shallow	Medium	Medium	Deep	Deep	Shallow	Medium

## Results

### *Quantity data of tuberous roots of sweetpotato harvest*

Leaves and stems in all cultivars developed equally. The leaves of ‘Rizi0603’ and ‘Sinzami’ cultivars had a dark purple hue due to the high content

of anthocyanins; the rest of the cultivars showed a standard green colour. Length of vines in all cultivars were 1.4 m on average. Within the experiment, production characteristics including tuber quantity and tuber weight per plant were evaluated (Fig. 2). According to statistical analysis, statistically significant differences were found between tested cultivars.



**Figure 2** – Weight (gram) of tuberous roots per sweetpotato plant. Cultivars; ‘Rizi0603’, ‘Beauregard’, ‘Tainong 71’, ‘Xushu 28’, ‘Xushu 25’, ‘Sinzami’, and ‘A1’ in the Almaty region, Kazakhstan in 2018~2020 (n=20). The mean difference is significant at the  $p \leq 0.05$  level and error lines represent  $\pm$  standard error of the mean.

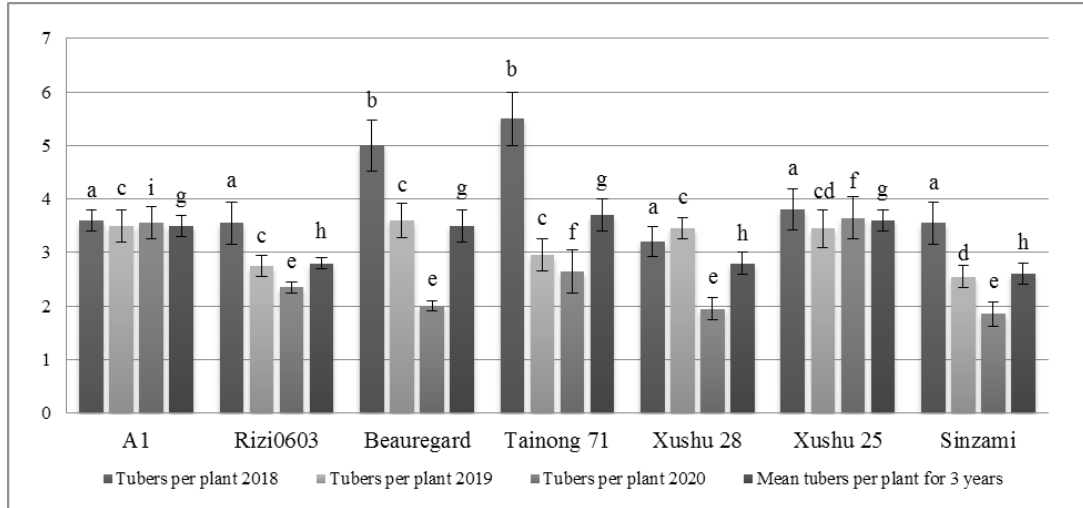
As can be seen in Fig. 2, 3, 4, the studied cultivars showed a significant difference in average weight per plant and number of tuberous per plant. For example, in 2018 ‘Beauregard’ showed the highest result in average weight per plant (507.5 $\pm$ 33.9 grams per plant),

whereas in 2019 and 2020 cultivar ‘A1’ 919.5 $\pm$ 64.5 and 922 $\pm$ 93.6 grams per plant, respectively. The above-listed cultivars lead to calculating yields t/ha (Fig. 4). The tuberous roots of ‘A1’ and ‘Beauregard’ cultivars were cracked or oversized (jumbo size) in

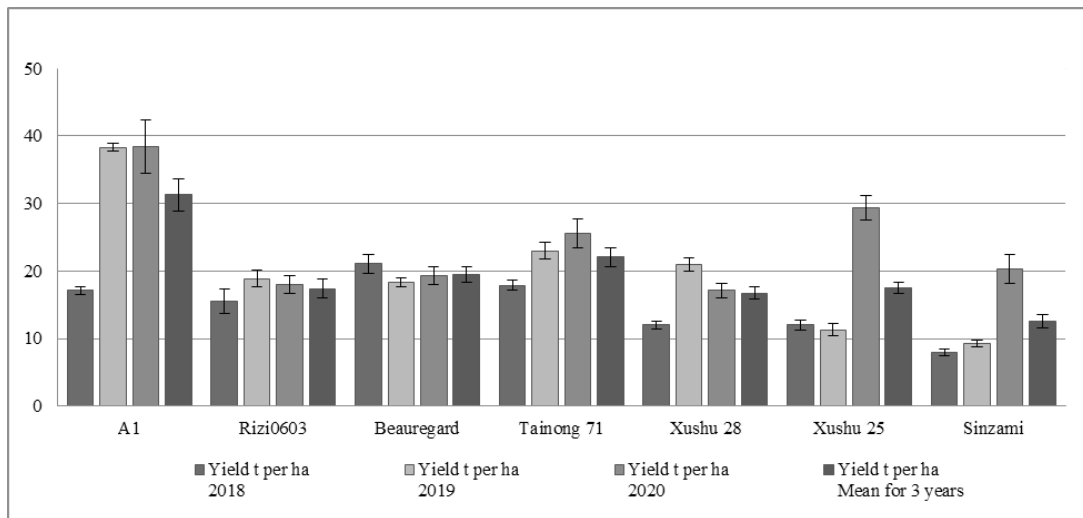


contrast to other studied cultivars. The lowest result in 2018 and 2019 was shown by the ‘Sinzami’ cultivar ( $192.5 \pm 12.3$  and  $224 \pm 12.1$  grams per plant).

However, in 2020, almost all cultivars showed an increase in the grams per plant indicator, including ‘Sinzami’ ( $489.5 \pm 53.6$  grams per plant).



**Figure 3** – Number of tuberous roots per sweetpotato plant. Cultivars; ‘Rizi0603’, ‘Beauregard’, / ‘Tainong 71’, ‘Xushu 28’, ‘Xushu 25’, ‘Sinzami’, and ‘A1’ in the Almaty region, Kazakhstan in 2018~2020 (n=20). The mean difference is significant at the  $p \leq 0.05$  level and error lines represent  $\pm$ standard error of the mean.



**Figure 4** – Yield (ton/ha) of tuberous roots of sweetpotato cultivars; ‘Rizi0603’, ‘Beauregard’, / ‘Tainong 71’, ‘Xushu 28’, ‘Xushu 25’, ‘Sinzami’, and ‘A1’ in the Almaty region, Kazakhstan in 2018~2020 (n=20). The mean difference is significant at the  $p \leq 0.05$  level and error lines represent  $\pm$ standard error of the mean

Based on the combined results of 3 years (Table 2), the cultivar ‘A1’ had the highest yield (31.2 t per ha) and average weight per plant (751.3 grams per plant). ‘Beauregard’ (19.5 t per ha) and ‘Tainong 71’ (22.1 t per ha) showed a high yield. If only the high

yield is considered, these cultivars should be selected mostly for industrial purposes. It can be concluded in this experiments that cultivars with white flesh cultivar are more suitable and the most productive for the Almaty region of Kazakhstan. In contrast,

purple and orange pulp cultivars ('Rizi0603', 'Sinzami' and 'Xushu 25') showed lower results but are more suitable for food purposes. The more cultivars using different colours of tuberous roots remains to be evaluated for the final conclusion.

#### *Quality data of sweetpotato harvest*

It can be seen in Table 3 that the contents of vitamin C and carbohydrate between the years and the cultivars of sweetpotato were significantly different. The contents of vitamin C showed 1.0~6.7 mg/100 g depending on cultivars during two years of 2018 and

2019. Regarding sucrose content (g per 100 g), the studied cultivars showed an average of 5.6 in 2018 and 7.4 in 2019. Fructose data ranged from 0.5 g ('Beauregard') to 1.3 g ('A1') in 2018 and from 0.3 g ('Xushu 25', 'Beauregard') to 0.9 g ('Xushu 28') in 2019. Glucose data ranged from 0.6 g ('Sinzami') to 1.0 g ('Xushu 28') in 2018 and 4.3 g ('A1') to 5.7 g ('Xushu 25') in 2019. Sucrose was a major component of total soluble solids (TSS) in the studied cultivars, which corresponds with other literary data [18].

**Table 2** – Combined average results of sweetpotato harvest based on data for 2018–2020

Cultivar	'A1'	'Rizi0603'	'Beauregard'	'Tainong 71'	'Xushu 28'	'Xushu 25'	'Sinzami'
Tuber weight*	<b>751.3± 58.1</b>	420± 35.7	471.3± 28.2	533± 34.3	406.1± 22.7	423± 23.6	302± 26
Tuber number*	3.5± 0.3	2.8± 0.2	3.5± 0.3	<b>3.7± 0.4</b>	2.8± 0.2	3.6± 0.4	2.6± 0.3
Yield t/ha**	<b>31.2± 2.4</b>	17.4± 1.4	19.5± 1.1	22.1± 1.4	16.7± 0.9	17.5± 0.9	12.5± 1

\*The mean difference is significant at the  $p \leq 0.05$  level

\*\*41667 plants/ha

**Table 3** – Quantitative analysis of vitamin C and carbohydrate in sweetpotato varieties

Cultivars	Vitamin C mg/100 g		Sucrose g/100 g		Glucose g/100 g		Fructose g/100 g	
	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019
'Rizi0603'	5.7	4.1	<b>6.8</b>	9.2	0.8	4.9	0.6	0.4
'Beauregard'	1.1	6.0	5.3	5.7	0.6	4.7	0.5	0.3
'Tainong 71'	3.7	<b>6.7</b>	5.2	6.8	0.8	4.8	0.9	0.3
'Xushu 28'	1.0	5.6	5.4	5.5	<b>1.0</b>	5.7	0.6	<b>0.9</b>
'Xushu 25'	5.3	4.4	5.2	<b>10.1</b>	0.8	<b>5.7</b>	0.5	0.3
'Sinzami'	<b>5.9</b>	4.8	6.1	6.7	0.6	4.5	1.2	0.4
'A1'	5.8	4.5	5.5	7.6	0.7	4.3	<b>1.3</b>	0.1

## Discussions

It should be noted that in 2018 after 10 days after seedlings were planted, atypical negative temperatures were recorded (avg.  $-5^{\circ}\text{C}$ ). Plants survived the cold shock but some of the plant leaves were necrotised. As can be seen in Fig. 2, in 2018 cold shock influenced the formation of tuberous roots, and in particular, increased their number, but the yield decreased in tested cultivars except for 'Beauregard'. This could explain the difference in quantitative data between years.

According to the literature on sweetpotato cultivation in Turkey, the yield variability per plant ranged from 210 to 620 g [19]. In a study by Uwah et al., Nigeria showed a similar result (380~460 g) [20]. Conversely, Maria and Soare in the southwest of Romania achieved greater yield of tuberous roots per plant (1000~1600 g) similar to Slosar et al. (1185~1455 g) in the southern Slovak Republic [21, 22].

In the report by the FAOSTAT in Asia, China leads in sweetpotato yields with 22.2 t per ha, followed by the Republic of Korea with 14.5 t per ha,

and Vietnam and India with 11 t per ha [23]. The US reached 25 t per ha and Europe harvested 26.8 t per ha. On average, the yield of sweetpotato is 11.4 t per ha. The obtained results are comparable to the world indicators.

The contents of vitamin C in this study showed 1.0~6.7 mg/100 g depending on cultivars during two years of 2018 and 2019, which corresponds with previous reports [8]. Picha investigated the carbohydrate content of sweetpotato before and after long dry weight storage. After 8 months (30 weeks) of storage in the 'Whitestar' cultivar with a white flesh, glucose, fructose and sucrose showed 0.40, 0.43 and 3.09 g/100 g, respectively [24]. In the 'Jewel' cultivar with an orange flesh, glucose and fructose and sucrose reached 1.32, 1.32 and 5.01 g/100 g, respectively. The sucrose data we obtained are comparable to Adu-Kwarteng et al., which ranged from 4.10~10.82 g/100 g but well above Namutebi et al. (1.47 to 5.74 g/100 g) [25, 26].

Nevertheless, it is possible to significantly increase the qualitative and quantitative indicators of sweetpotato with the application of various agricultural methods including fertilizers and vinyl mulching [22]. Using black or coloured plastic mulch in relatively cool climates is advisable, because of increased soil temperatures [27]. According to the literature comparing to uncovered soil, a significantly higher yield of marketable roots was obtained with black plastic film mulch [28]. In addition, using genetic engineering methods it is possible to improve the resistance to abiotic and biotic stresses in the sweetpotato, which will lead to better adaptation to adverse environmental conditions including low temperature and increase yield [29, 30, 31].

Potentially the results on the content of carbohydrates and vitamin C in the sweetpotato cultivars studied were influenced by several factors. Both high intra-genotypic variability and the climatic conditions of the year of cultivation could have contributed to differences between varieties. In addition to vitamin C, increase of many antioxidants such as vitamin E, polyphenols including anthocyanin, and  $\beta$ -carotene (provitamin A) are also very useful for plant and human health [32].

## Conclusion

The results obtained in the experiment show that quantitative indicators of sweetpotato growth in southeast Kazakhstan are significantly dependent on cultivar and climatic conditions of cultivation. Taken together, 'A1', 'Beauregard' and 'Tainong 71' cultivars may be good candidates for the mass cultivation of sweetpotato in the Almaty region. Therefore, sweetpotatoes can be successfully cultivated in Kazakhstan to expand the range of crops for healthy nutrition. The best cultivation practices using the best sweetpotato cultivars remain to be studied to increase yield for commercial production in Kazakhstan. The research will continue on the search for optimal sweetpotato varieties with an increase in the spectrum of sweetpotato cultivars for use in food and technical industries, as well as to improve cultivation technologies using vinyl mulching and fertilizers to increase yield in Kazakhstan. In addition, molecular breeding of selected sweetpotato cultivars will be useful to increase the increase of sweetpotato yields and high value-added components in the face of climate crisis [7, 33, 34].

## Conflict of interest

All authors have read and are familiar with the content of the article and have no conflicts of interest.

## Acknowledgments

The authors are grateful to the Dr Abdulla Saparov General Director of the LLP Kazakh U. Usmanov Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry for kindly providing the soil map of the Almaty region.

## Funding

This research has been funded by the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (Grant No. AP09260382).

## References

- 1 Roullier C, Duputie A, Wennekes P, Benoit L, Bringas V, Rossel G, Tay D, McKey D, Lebot V (2013) Disentangling the origins of cultivated sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). *Plos One* 8(5): e62707.
- 2 Woolfe JA (1992) Sweet potato: An Untapped Food Resource. Cambridge, UK, Cambridge University Press and the International Potato Center (CIP) pp.1-643.
- 3 FAOSTAT (2017) Food and agricultural statistical database. Available from: <http://www.fao.org/faostat>.

- 4 Laurie S, Faber M, Adebola P, Belete A (2015) Biofortification of sweet potato for food and nutrition security in South Africa. *Food Res. Int.* 7: 962–970.
- 5 Williams R, Soares F, Pereira L, Belo B, Soares A, Setiawan A, Browne M, Nesbitt H and Erskine W (2013) Sweet potato can contribute to both nutritional and food security in Timor-Leste. *Field Crops Res.* 146: 38–43.
- 6 Zhang LM, Wang QM, Liu QC, Wang QC (2009) Sweet potato in China. In: Loebenstein G, Thottappilly G, Eds., *The sweet potato*. Springer, the Netherlands, pp. 325–358
- 7 Kwak SS (2019) Biotechnology of the sweet potato: Ensuring global food and nutrition security in the face of climate change. *Plant Cell Reports* 38: 1361–1363
- 8 Ishida H, Suzuno H, Sugiyama N, Innami S, Tadokoro T, Maekawa A (2000) Nutritive evaluation on chemical components of leaves, stalks, and stems of sweet potatoes (*Ipomoea batatas* Poir). *Food Chem.* 68: 359–367.
- 9 Bahado-Singh P, Riley C, Wheatley A, Lowe H (2011) Relationship between processing method and the glycemic indices of ten sweet potato (*Ipomoea batatas*) cultivars commonly consumed in Jamaica. *Nutr. Metab.* 2011: 1–6.
- 10 Allen J, Corbitt A, Maloney K, Masood S, Butt M, Truong V (2012) Glycemic index of sweet potato as affected by cooking methods. *Open Nutr. J.* 6: 1–11.
- 11 Ludvik B, Hanefeld M, and Pacini G (2008) Improved metabolic control by *Ipomoea batatas* (Caiapo) is associated with increased adiponectin and decreased fibrinogen levels in type 2 diabetic subjects. *Diabetes, Obesity and Metabolism.* 10: 586–592.
- 12 Kusano S, Abe H (2000) Antidiabetic activity of white skinned sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) in obese Zucker fatty rats. *Biol. Pharm. Bull.* 23: 23–26.
- 13 Wang S, Nie S and Zhu F (2016) Chemical constituents and health effects of sweet potato. *Food Res Int.* 89: 90–116.
- 14 Mukasheva A, Saparkhojayev N, Akanov Z, Apon A, Kalra S (2019) Forecasting the prevalence of diabetes mellitus using econometric models. *Diabetes Ther.* 10: 2079–2093
- 15 Zatybekov A, Shamekova M, Zhambakin K (2015) Establishment of the working collections of sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) for introduction into Kazakhstan. *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan* 65: 69–76.
- 16 Zhapar K, Shamekova M, Zhambakin K (2019) Gene engineering for production cold-tolerant sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Reports of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan* 1: 29–39.
- 17 International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) Geneva. 2010. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability. Available from: [https://www.upov.int/edocs/mdocs/upov/en/c\\_50/c\\_50\\_2.pdf](https://www.upov.int/edocs/mdocs/upov/en/c_50/c_50_2.pdf)
- 18 Zhang Z, Wheatley CC and Corke H (2002) Biochemical changes during storage of sweet potato roots differing in dry matter content. *Postharvest Biol Tec* 24: 317–325.
- 19 Yildirim Z, Tokusoglu O and Ozturk G 2011 Determination of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars suitable to the Aegean region of Turkey. *Turk. J. Field Crops* 16: 48–53.
- 20 Uwah D, Undie U, John N, Ukoha G 2013 Growth and yield response of improved sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) varieties to different rates of potassium fertilizer in Calabar, Nigeria. *J. Agric. Sci.* 5: 61–69.
- 21 Maria D and Soare R (2015) Research on the sweet potato (*Ipomea batatas* L.) behaviour under the soil land climatic conditions of the South-West of Romania. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 19: 79–84.
- 22 Slosar M, Mezeyova I, Hegedusova A, Golian M( 2016) Sweet potato (*Ipomoea Batatas* L.) growing in conditions of southern Slovak Republic. *Potravinarstvo* 10(1): 384–392. doi:10.5219/626.
- 23 FAOSTAT (2018) Food and agricultural statistical database. Available from: <http://www.fao.org/faostat>.
- 24 Picha D (2006) Sugar content of baked sweet potatoes from different cultivars and lengths of storage. *Int. J. Food Sci.* 51: 845–848.
- 25 Adu-Kwarteng E, Sakyi-Dawson E, Ayernor G, Truong V, Shih F, Daigle K 2014 Variability of sugars in staple-type sweet potato (*Ipomoea batatas*) cultivars: The effects of harvest time and storage. *Int. J. Food Prop.* 17: 410–420.
- 26 Namutebi A, Natabirwa H, Lemaga B, Kapinga R, Matovu M, Tumwegamire S, Nsumba J, and Ocom J (2004) Long-term storage of sweet potato by small-scale farmers through improved post harvest technologies. *Uganda J. Agric. Sci.* 9: 922–930.
- 27 Wees D, Seguin P, Boisclair J, Gendre C 2015 Performance and Quality of Sweet potato Cultivars Grown in Quebec, Canada with Biodegradable Plastic Mulch. *Variety Trials.* 25: 815-826.
- 28 Novak B, Zutic I, Toth N, Dobricevic N 2007 Sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] yield influenced by seedlings and mulching. *Agriculturae Conspectus Scientificus.* 72: 357–359.
- 29 Kim Y-H, Jeong J.C, Lee H-S, Kwak S-S 2012 Comparative characterization of sweetpotato antioxidant genes from expressed sequence tags of dehydration-treated fibrous roots under different abiotic stress conditions. *Molecular Biology Reports.* 40(4): 2887–2896.
- 30 Kim H. S, Park S-C, Ji C.Y, Park S, Jeong J. C, Lee H-S, Kwak S-S. 2016 Molecular characterization of biotic and abiotic stress-responsive MAP kinase genes, IbMPK3 and IbMPK6, in sweetpotato. *Plant Physiology and Biochemistry.* 108:37–48.
- 31 Jin R, Kim B.H, Ji C.Y, Kim H.S, Li H.M, Ma D.F, Kwak S-S. 2017 Overexpressing IbCBF3 increases low temperature and drought stress tolerance in transgenic sweetpotato. *Plant Physiology and Biochemistry.* 118: 45–54.
- 32 Kim HS, Wang W, Kang L, Kim SE, Lee CJ, Park SC, Park WS, Ahn MJ, Kwak SS. 2020. Metabolic engineering of low molecular weight antioxidants in sweetpotato. *Plant Biotechnology Reports* 14: 193-205 .
- 33 Kim SE, Lee CJ, Ji CY, Kim HS, Park WS, Ahn MJ, Kwak SS. 2019. Transgenic sweetpotato plants overexpressing tocopherol cyclase display enhanced  $\alpha$ -tocopherol content and abiotic stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry* 144; 436-444.
- 34 Kim SE, Lee CJ, Park SU, Lim YH, Park WS, Kim HJ, Ahn MJ, Kwak SS, Kim HS. 2021. Overexpression of the golden SNPcarrying Orange gene enhances carotenoid accumulation and heat stress tolerance in sweetpotato plants. *Antioxidants* 10: 51 (1-14).

У.Т. Жуматаева<sup>1\*</sup> , Б.А. Дуйсембеков<sup>2</sup> 

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

<sup>2</sup> Agropark «Ontustik», Қазақстан, Алматы облысы

\*e-mail: doni\_uli@mail.ru

## BEAUVERIA BASSIANA САҢЫРАУҚҰЛАҚ ШТАММДАРЫН УЫТТЫЛЫҚ БЕЛГІЛЕРІ БОЙЫНША LOCUSTA MIGRATORIA L. ДЕРНӘСІЛДЕРІНЕ ҚАТЫСТЫ СКРИНИНГТЕУ

Мақалада *Beauveria bassiana* саңырауқұлағының әртүрлі систематикалық топтарына жататын бұнақденелілерден бөлініп алынған 25 изоляттарының уыттылық белгілері бойынша азиялық шегірткесінің 2-3 жас шамасындағы дернәсілдеріне алғашқы скрининг жасалды. 25 штаммның ішінен алты штамм 21 тәулікте (BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16, BCa<sub>3</sub>(m)-09) инокуляция процесі аяқталған соң, дернәсілдердің өлім деңгейі 90-100% жетіп, оларға қарсы жоғары биологиялық белсенділік көрсетті. Қожайын организмнің өлімге ұшырау деңгейі мен жылдамдығы бойынша ең жақсы әсер еткен штаммдар – BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16, BCa<sub>3</sub>(m)-09. Ал ең жоғарғы биологиялық белсенділік BSc<sub>1</sub>-15 штаммында байқалды, себебі залалданғаннан соң бар-жоғы 15-тәулікте тест-бұнақденелілердің өлу деңгейі 100% құрады. Ең төменгі белсенділікті BCi<sub>4</sub>-14 штаммы 35,0-62,5% аралығында көрсетті. Бақылау нұсқасындағы (өңдеусіз) азиялық шегіртке дернәсілдерінің 21-тәулікте өлу деңгейі 15,0 ± 2,88% байқалды. Осылайша зерттеуге алынған штаммдардың жалпы санынан жоғары уыттылыққа (өлуі 80-100%) ие формаларының үлесі 48%-дан аспады, ал әлсіз уытты формаларының меншікті салмағы (белсенділігі 60%-дан төмен) 20%-ды құрағандығы анықталды. Сонымен, *L. migratoria* L. санын бақылауда жоғары биологиялық белсенділік көрсеткен таулы аймақтың 5 (BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16) және далалық аймақтың 5 (BCO<sub>2</sub>-09 BHy-09 Bscar-09 BCa<sub>3</sub>(m)-09, BCa<sub>2</sub>(m)-09) штаммдары іріктеліп алынды.

**Түйін сөздер:** энтомопатоген, уыттылық, *Beauveria bassiana*, штамм, культура, *Locusta migratoria migratoria* L., конидия, саңырауқұлақ, скрининг.

U.T. Zhumatayeva<sup>1\*</sup>, B.A. Duisembekov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kazakh National Agrarian University, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>Agropark «Ontustik», Kazakhstan, Almaty region

\*e-mail: doni\_uli@mail.ru

### Screening of strains of the fungus *Beauveria bassiana* for virulence against larvae of *Locusta migratoria* L.

The article provides a preliminary screening of Asian locust larvae aged 2-3 years for the virulence of 25 isolates isolated from insects belonging to different systematic groups of fungi *Beauveria bassiana*. Six of the 25 strains showed high biological activity against larvae, (BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16, BCa<sub>3</sub>(m)-09) reaching a mortality rate of 90-100% 21 days after inoculation. The strains that have the best effect on the level and rate of mortality of the host organism are – BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16, BCa<sub>3</sub>(m)-09. The greatest biological activity was observed in the BSc<sub>1</sub>-15 strain, as the mortality rate of test organisms was only 100% within 15 days of exposure. The lowest activity was shown by the BCi<sub>4</sub>-14 strain in the range of 35.0-62.5%. At the same time, the mortality rate of Asian locust larvae in the control variant (without treatment) for 21 days was 15.0 ± 2.88%. Thus, the proportion of highly toxic forms (80-100 per cent lethality) in the total number of studied strains was not more than 48 per cent, and the proportion of mildly toxic forms (less than 60 per cent activity) was 20 per cent. So, *L. migratoria* L. in the population control, 5 strains of the mountain zone (BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16) and the steppe zone (BCO<sub>2</sub>-09 BHy-09 Bscar-09 BCa<sub>3</sub>(m)-09, BCa<sub>2</sub>(m)-09), which showed high biological activity, were selected.

**Key words:** entomopathogen, virulent, *Beauveria bassiana*, strain, crop, *Locusta migratoria migratoria* L., conidia, fungi, screening.

Ү.Т. Жуматаева<sup>1\*</sup>, Б.А. Дуйсембеков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный аграрный университет, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>Agropark «Ontustik», Казахстан, Алматинская область

\*e-mail: doni\_uli@mail.ru

### Скрининг штаммов гриба *Beauveria bassiana* по признаку вирулентности в отношении личинок *Locusta migratoria* L.

В статье проведен первичный скрининг личинок 2-3 возраста азиатской саранчи по признакам вирулентности изолятов 25, выделенных из насекомых, относящихся к различным систематическим группам грибов *Beauveria bassiana*. Из 25 штаммов шесть штаммов в течение 21 суток (BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16, BCa<sub>3</sub>(m)-09) после завершения процесса инокуляции показали высокую биологическую активность против личинок, достигнув 90-100% смертности. Штаммы BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16, BCa<sub>3</sub>(m)-09, которые лучше всего повлияли на уровень и скорость смертного исхода организма хозяина, а наибольшая биологическая активность наблюдалась у штамма BSc<sub>1</sub>-15, так как уровень смертности тест-насекомых после заражения составил всего 15 суток 100%. Наименьшую активность показал штамм BCo<sub>1</sub>-14 в пределах 35,0-62,5%. В то же время уровень смертности личинок азиатских саранчовых в контрольном варианте (без обработки) за 21 сутки наблюдался 15,0±2,88%. Таким образом, установлено, что доля форм, обладающих высоковирулентными формами (смертность 80-100%), от общего количества исследуемых штаммов не превышала 48%, а удельный вес слабовирулентных форм (активность менее 60%) составлял 20%. Итак, *L. migratoria* L. в контроле численности отобраны 5 штаммов горной зоны (BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16) и степной зоны (BCO<sub>2</sub>-09 BHy-09 Bscar-09 BCa<sub>3</sub>(m)-09, BCa<sub>2</sub>(m)-09), проявивших высокую биологическую активность.

**Ключевые слова:** энтомопатоген, вирулентность, *Beauveria bassiana*, штамм, культура, *Locusta migratoria migratoria* L., конидия, грибы, скрининг.

#### Қысқартулар мен белгілеулер

АҚШ – Америка құрама штаттары

ТМД – Тәуелсіз мемлекеттер достығы

Т.д.ж.м – теңіз деңгейінен жоғары метр

ҚазОҚЖК ҒЗИ – Қазақ өсімдік қорғау және

карантин ғылыми зерттеу институты

#### Кіріспе

Шегірткелер, әсіресе үйірлілер ауылшаруашылығы дақылдарының көп қоректі зиянкестерінің ең зиянды топтарының бірі болып табылады [1]. Қазақстан аумағында шегірткелердің 270 түрі тіршілік етеді. 15-20 түрі ауылшаруашылық дақылдары мен алқаптарға үлкен қауіп төндіреді [2].

Қазақстанда шегірткелердің ең қауіпті түрлерінің бірі – азиялық шегіртке (*Locusta migratoria migratoria* L.) болып табылады. Жаппай көбею кезеңдерінде олар басқа зиянкестердің зиян келтіруімен салыстыруға келмейтін өте үлкен залалдар тудыруы мүмкін. 1999 жылы шегірткелер Қазақстанда тек 220 мың га алқаптағы дәнді дақылдарды жойды, сонымен бірге шығындар 15 миллион АҚШ долларын құрады. 2000 жылы инсектицидтермен өңделген аумақ 8,0 млн. гектардан асты, бұл алдыңғы жылдардың орташа көпжылдық өңдеу

көлемінен 9 есе артық [3]. Қазіргі уақытта ТМД елдерінде шегірткелердің санын бақылау үшін тек химиялық инсектицидтер қолданылады. Алайда, пестицидтерді кеңінен қолданудың бірқатар маңызды кемшіліктері бар екендігі белгілі, олардың ішіндегі ең маңыздысы зиянкестердің төзімді популяцияларының пайда болуы және қоршаған ортаның ластануы [4].

Осыған байланысты өсімдіктерді қорғаудың баламалы экологиялық қауіпсіз әдістерін іздеу қажет. Зиянды фитофагтарды басудың осындай әдістерінің бірі – микробиологиялық қорғау әдісі. Осындай тәсілдерді жасау жолында микробиологиялық әдіс маңызды рөл атқаруда [5,6].

Биологиялық препараттар алу технологиясын жасауға бағытталған зерттеулер Қазақстан үшін өзекті болып табылады, бірақ Қазақстанда саңырауқұлақ препараттарын өндіру және қолдану әлі де кең тарала қойған жоқ, дегенмен олар зиянкестердің санын тиімді реттей алды [3,4,7]. Қазіргі уақытта елімізде энтомопатогенді штамм негізіндегі зиянкестерге әсері жоғары жергілікті бірде-бір препарат жоқтың қасы деуге болады [8,9].

Шегірткелер санын реттеу үшін микробиологиялық, биологиялық өнімдерді әзірлеу және қолдану осы зиянкестер тобының өкілдерінен өсімдіктерді қорғау саласындағы басым бағыт-

тардың бірі болып табылады. Осыған байланысты зерттеушілердің назарын аноморфты тұқымдастардан шыққан энтомопатогенді саңырауқұлақтардың бірқатар түрлері, атап айтқанда, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill аудартты. [10,11].

Химиялық инсектицидтерден айырмашылығы, биологиялық өнімдер әсердің айқын селективтілігіне ие, адамдарға, жылы қанды жануарларға, араларға, құстарға, балықтарға зиянсыз деп танылады. Олар күн сәулесінің әсерінен топырақта, суда тез ыдырайды және химиялық препараттармен салыстырғанда бунақденелілер оларға төзімді болмайды [12,13,14,15].

Осылайша, биопрепараттардың жоғары тиімді препараттық түрлерін жасау, олардың дамуы мен қолданылуын оңтайландыру энтомопатогенді микроорганизмдерді Қазақстанда өсімдіктерді қорғау практикасына кеңінен енгізу үшін қажетті шарттардың бірі болып табылады және экологиялық таза ауыл шаруашылығы өнімін алуды қамтамасыз етеді, бұл ұлт денсаулығы мен оның қауіпсіздігі негізінің негізгі компоненттерінің бірі болып табылады.

Жоғарыда айтылғандарды ескере отырып, біздің зерттеулеріміздің мақсаты оңтүстік-шығыс Қазақстандағы азиялық шегірткелер санын бақылау үшін энтомопатогендік гифомицеттерді пайдалану мүмкіндігін зерттеу және оларды ұйыттылық белгілері бойынша скринингтеу.

### Зерттеу материалдары мен әдістері

Ұйыттылықты бағалау жөніндегі тәжірибелерде 2009-2016 жылдары Ж. Жиёмбаев атындағы Қазақ өсімдік қорғау және карантин ғылыми-зерттеу институтының биотехнология зертханасының қызметкерлері Қазақстан мен Қырғызстанның әртүрлі табиғи-климаттық (таулы және далалы) аймақтарында жинаған патологиялық материалдан бөлінген *Beauveria bassiana* туысына жататын энтомопатогенді саңырауқұлағының 25 штамдары пайдаланылды (кесте-1).

Ж. Жиёмбаев атындағы Қазақ өсімдік қорғау және карантин ғылыми-зерттеу институтының биотехнология зертханасында *B. bassiana* саңырауқұлақ штамдарының биологиялық белсенділігін азиялық шегірткенің *Locusta migratoria migratoria* L. (Orthoptera: Acrididae) 2-3 жас аралығындағы дернәсілдеріне қарсы бағалау жұмыстары жүргізілді (кесте-2).

*B. bassiana* саңырауқұлақ штамдарын сынау үшін Алматы облысының Балқаш ауданы, Бақанас ауылынан азиялық шегірткелерінің 2-3 жас дернәсілдері жиналды.

Саңырауқұлақтардың конидияларын көп мөлшерде алу үшін саңырауқұлақтарды өсіру Петри табақшасында беттік культурада Сабуро жасанды модификацияланған қатты қоректік ортасында 25-30°C температурада жүзеге асырылды. Сабуро қоректік ортасының құрамы келесі компоненттерден (г/л): пептон – 10,0; глюкоза – 10,0; мальтоза – 10,0; ашытқы экстракты – 5,0; агар-агар 16,0; су – 1л тұрады [16-19].

Автоклавтау режимі – 0,8 атм. 30 мин.

Бірнеше рет қайта егу арқылы энтомопатогендік саңырауқұлақтардың таза дақылдары алынды (1-сурет). Көптеген споралық изоляттар стандартты әдістеме бойынша алынды.

7-14 күннен соң жаппай конидиялық спора түзілгеннен кейін қоректік ортадан конидиялар ақырын стерильді шпательдің көмегімен алынды. Кейіннен саңырауқұлақ споралары 25-30°C температурада термостатқа қойылып, кептірілді.

Конидия массасын кептіргеннен соң стандартты әдіспен Горяев камерасының астында патоген титрін есептеу жүргізілді (2-сурет) [16-21].

Алынған биоматериал 3-5°C температурада тоңазытқыш камерасында сақталды.

### Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау

Зерттеулер жазғы кезеңде Қазақ өсімдік қорғау және карантин ғылыми-зерттеу институтының биотехнология зертханасында жүргізілді.

*B. bassiana* саңырауқұлағының бунақденелілердің әртүрлі систематикалық топтарынан және әртүрлі аймақтардан тауып алған өлі денелерінен бөлінген (Алматы облысы, Сарқан ауданы, Жоңғар Алатау (1400-1500 т.д.ж.м) биіктігінен; Қостанай облысы, орманды далалы ландшафты, Тобыл өзені; Солтүстік Қазақстан облысы, Қостанай қаласы, Тобыл өзені; Медеу Іле-Алатауы 1200-1500 т.д.м. биіктігінен; ОҚО, Мақтарал ауданы, далалы ландшафты; Жамбыл облысы, Қордай ауданы, далалы ландшафты; Қырғызстан республикасы) 25 штамдарына ұйыттылығы бойынша *L. migratoria* L. 2-3 жас мөлшерлік дернәсілдеріне алғашқы скрининг жүргізіліп, ұйыттылық қабілеттері анықталды.

Саңырауқұлақтардың биологиялық белсенділігіне зертханалық жағдайда баға беру стандартты әдіспен пластикалы ыдыста, климакамерада жүзеге асырылды. Тест-насекомдардың дернәсілдері әр стақанға 10 дарақтан орналастырылды. Көлемі 1000 мл болатын пластикалы стақан болып табылады. Дернәсілдердің энтомопатогенді саңырауқұлақтармен залал-

дануы 10 дараққа 2 мл суспензия қатынасында батыру арқылы жүргізілді. Бақылауға алынған дернәсілдер дистилденген сумен өңделді. Егер

бір уақытта инокулумның бірнеше концентрациясы бағаланса, алдымен титрі төмен нұсқалар өңделеді. Қайталама 4-реттік.

**1-кесте** – Азиялық шегірткесінде биологиялық белсенділігін бағалау үшін эксперименттерде пайдаланылған *B. bassiana* штаммдары

№	Штамм атауы	Бөліп алынған объектісі	Бөліп алынған орны, жылы
1	2	3	3
Таулы аймақ			
1	BLe <sub>2</sub> -13	Lepidoptera	Алматы облысы, Сарқан ауданы, Жоңғар Алатау (1400-1500 т.д.ж.м) биіктігінен, 2013 ж, 25 шілде
2	BCol <sub>1</sub> -13	Coleoptera	Алматы облысы, Сарқан ауданы, Жоңғар Алатау (1200-1500 т.д.ж.м) биіктігінен, 2013 ж
3	BP <sub>1</sub> -13	Pentotamidae	Алматы облысы, Сарқан ауданы, Жоңғар Алатау (1200-1400 т.д.ж.м) биіктігінен, 2013 ж
4	BEL-13	Elateridae	Алматы облысы, Сарқан ауданы, Жоңғар Алатау (1200-1500 т.д.ж.м) биіктігінен, 2013 ж, 25 шілде
5	BCh-13	Chrysomelidae	Алматы облысы, Сарқан ауданы, Жоңғар Алатау (1200-1500 т.д.ж.м) биіктігінен, 2013 ж, 25 шілде
6	BLe <sub>1</sub> -14	Lepidoptera	Қостанай, орманды далалы ландшафты, Тобыл өзені, 2014 ж, 22 маусым
7	BCo <sub>1</sub> -14	Coleoptera	Қостанай, орманды далалы ландшафты, Тобыл өзені, 2014 ж, 22 маусым
8	BCi <sub>1</sub> -14	Cicadellidae	Солтүстік Қазақстан облысы, Қостанай қаласы, Тобыл өзені, 2014 ж, маусым
9	BCi <sub>2</sub> -14	Cicadellidae	Солтүстік Қазақстан облысы, Қостанай қаласы, Тобыл өзені, 2014 ж, маусым
10	BCi <sub>4</sub> -14	Cicadellidae	Солтүстік Қазақстан облысы, Қостанай қаласы, Тобыл өзені, 2014 ж, маусым
11	BSc <sub>1</sub> -15	Scolytidae ( <i>Ips hauseri</i> )	Медеу Іле-Алатауы 1200-1500 т.д.м биіктігінен, 2015 ж
12	BSc <sub>2</sub> -15	Scolytidae ( <i>Ips hauseri</i> )	Медеу Іле-Алатауы 1200-1500 т.д.м биіктігінен, 2015 ж
13	BSc <sub>7</sub> -15	Scolytidae ( <i>Ips hauseri</i> )	Медеу Іле-Алатауы 1200-1500 т.д.м биіктігінен, 2015 ж
14	BSc <sub>8</sub> -15	Scolytidae ( <i>Ips hauseri</i> )	Медеу Іле-Алатауы 1200-1500 т.д.м биіктігінен, 2015 ж
15	BSc <sub>10</sub> -15	Scolytidae ( <i>Ips hauseri</i> )	Медеу Іле-Алатауы 1200-1500 т.д.м биіктігінен, 2015 ж
16	BO <sub>1</sub> -16	<i>Orthotomicus suturalis</i>	Қырғызстан республикасы, 2015 ж, маусым
17	BSc <sub>1</sub> -16	<i>Ips hauseri</i>	Қырғызстан республикасы, 2015 ж, маусым
18	BTr <sub>1</sub> -16	<i>Trypodendron cirratum</i>	Қырғызстан республикасы, 2015 ж, маусым
19	BPit-16	<i>Pityogenes spesivtsev</i>	Қырғызстан республикасы, 2015 ж, маусым
20	BP <sub>1</sub> -16	Pentotamidae	Қырғызстан республикасы, 2015 ж, маусым
Далалық аймақ			
21	BCa <sub>2(m)</sub> -09	Carabidae	ОҚО, Мақтарал ауданы, Есентаев ауылы, 2009 ж 30 маусым
22	BCa <sub>3(m)</sub> -09	Carabidae	ОҚО, Мақтарал ауданы, Есентаев ауылы, 2009 ж 30 маусым
23	BCo <sub>2(k)</sub> -09	Coleoptera	Жамбыл облысы, Қордай ауданы, 2009 ж маусым
24	BScar-09	Scarabidae	Жамбыл облысы, Қордай ауданы, 2009 ж шілде
25	BHy-09	Hymenoptera	Жамбыл облысы, Қордай ауданы, 2009 ж шілде

Мұнда энтомопатогенді саңырауқұлақтардың биологиялық белсенділігін бағалау бойынша барлық тәжірибелер шегірткелер үшін оңтайлы жағдайларда жүргізілгенін атап өткен жөн

(ауа температурасы – 27-29°C; салыстырмалы ылғалдылық 80%-дан аспады) [22]. Әдебиеттерден белгілі болғандай, мұндай жағдайлар микоз коздырғыштарының дамуы үшін қолайсыз [23,24].

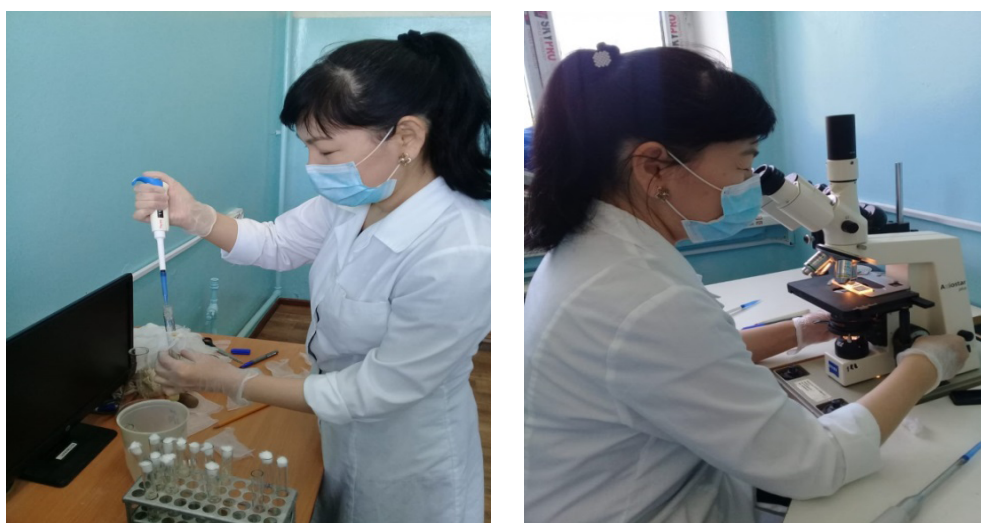


Инокуляциядан кейін 21 күн ішінде стақандарды күн сайын қарап, барлық өлген дарақтарды алып, қажеттілігіне қарай азықтары ауыстырылды (3-сурет). Одан әрі өлген дарақтардың өлімінің себебін және олардағы мицелийдің өсу деңгейін анықтау мақсатында

ылғалды камераға (суға суланған сүзгіші бар Петри табақшаға) заттық шыныға салынды (4-сурет). Зерттеу нәтижелері көрсеткендей ылғалды камерадағы өлген дарақтардың ішінде саңырауқұлақтың әсерінен өлгендерін мицелий қаптап шықты (5-сурет).



1-сурет – Сабуро модифицирленген қатты қоректік ортаға штаммдарды егу және 25°C температурада өскен штаммдар



2-сурет – Шегірткелерді залалдау үшін саңырауқұлақ конидияларының суспензиясын дайындап, титр санын есептеу



3-сурет – Тәжірибеге қойылған азиялық шегірткенің қорегін беру және есеп жүргізу



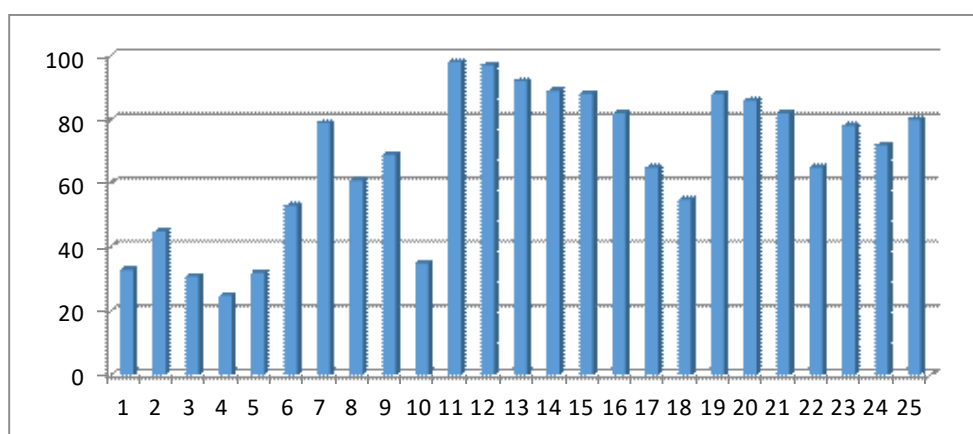
4-сурет – Ылғалды камераға өлген дарақтарды орналастыру



5-сурет – Ылғалды камераға қойылған шегірткелерді микоздың басуы

Азиялық шегірткенің өлген дарақтарын саңырауқұлақ мицелиймен 100% басу деңгейі бірде-бір сынақ штаммдарда байқалмады. Мицелийдің максималды деңгейде өсуі BSc<sub>1</sub>-15

штаммда (97%), ал минималды деңгейде өсуі BEL-13 штаммда (25%) байқалды. Басқа штаммдарда мицелиймен қапталған өлген дарақтар үлесі 31-ден 92%-ға дейін өзгерді (6-сурет).



1-BLe<sub>2</sub>-13; 2-BCo<sub>1</sub>-13; 3-BP<sub>1</sub>-13; 4-BEL-13; 5-BCh-13; 6-BLe<sub>1</sub>-14; 7-BCo<sub>1</sub>-14; 8-BC<sub>1</sub>-14; 9-BC<sub>2</sub>-14; 10-BC<sub>4</sub>-14; 11-BSc<sub>1</sub>-15; 12-BSc<sub>2</sub>-15; 13-BSc<sub>7</sub>-15; 14-BSc<sub>8</sub>-15; 15-BSc<sub>10</sub>-15; 16-BOr<sub>1</sub>-16; 17-BSc<sub>1</sub>-16; 18-BTr<sub>1</sub>-16; 19-BPit-16; 20-BP<sub>1</sub>-16; 21-BCa<sub>2(m)</sub>-09; 22-BCa<sub>3(m)</sub>-09; 23-BCo<sub>2(k)</sub>-09; 24-BScar-09; 25-BHy-09

6-сурет – Азиялық шегірткенің *B. bassiana* саңырауқұлақ штаммдарымен залалданғаннан кейін өлген дарақтарын мицелиймен басу дәрежесі

Алынған нәтижелерді статистикалық өңдеу дисперсті анализ әдісімен «Sigma stat 32», «Sigma plot 32» қолданбалы программа пакетін қолданумен және Excel электронды кестесінің көмегімен жүзеге асырылды.

Зертханалық тәжірибе жұмыстарының алғашқы кезеңінде *B. bassiana* туысына жататын саңырауқұлақтардың 25 штаммының залалдау мерзіміне байланысты *L. migratoria* L. 2-3 жасар дернәсіліне биологиялық белсенділігі анықталды (кесте 2).

Зерттеу жұмыстары барысында штаммдардың уыттылық қасиетін анықтау мақсатында зертхана коллекциясынан 25 штамм (20 штамм – таулы аймақ және 5 штамм – далалық аймақ)

іріктеп алынды. Биопрепараттарды қолдану технологиясын өңдеу барысында патогеннің суспензиясының оптималды титрін анықтау маңызды элементтердің бірі болып табылады. Бізде  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$  осы төрт титр бойынша тәжірибе жасалды. Біздің тәжірибемізде залалдау саңырауқұлақ конидияларының суспензиясына бунақденелілерді батыру әдісімен жүргізілді.

*B. bassiana* туысына жататын саңырауқұлақтардың бунақденелілердің әр түрлі систематикалық топтарынан бөлінген изоляттарына уыттылығы бойынша азиялық шегірткенің 2-3 жас мөлшерлік дернәсілдеріне алғашқы скрининг өткізілді.

**2-кесте** – *B. bassiana* туысына жататын штаммдардың *L. migratoria* L. 2-3 жастағы дернәсілдеріне биологиялық белсенділігінің динамикасы (Алматы қаласы, ҚазҰЖК ҒЗИ биотехнология зертханасы, 2019 ж.)

Штамм	Титр	Өлу жағдайы %, залалданғаннан кейінгі тәулік									
		3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
BLe2-13	$5 \times 10^7$	30,0±5,7	42,5±11,0	50,0±9,1	52,5±8,5	57,5±9,4	62,5±12,5	65,0±10,4	67,5±8,5	70,0±10,8	72,5±9,4
	$1 \times 10^7$	27,5±7,5	35,0±6,45	37,5±7,5	40,5±9,5	47,5±6,2	55,0±6,4	70,0±10,8	75,2±8,2	80,0±9,2	82,5±7,5
	$5 \times 10^6$	10,0±4,0	15,0±6,45	22,5±7,5	25,0±9,2	45,0±13,2	52,5±13,1	65,0±13,2	67,5±13,1	70,0±12,2	75,0±10,4
	$1 \times 10^6$	7,5±4,7	12,5±4,78	17,5±6,2	20,0±7,07	20,0±7,07	20,0±7,07	20,0±7,07	25,2±3,4	27,5±6,7	30,0±5,7
BCol1-13	$5 \times 10^7$	35,0±6,4	35,0±6,45	45,0±6,4	52,5±8,5	62,5±6,2	75,0 ±11,9	75,0±11,9	77,5±11,08	80,0±12,2	85,0±12,0
	$1 \times 10^7$	17,5±2,5	45,0±10,4	52,5±17,0	57,5±15,4	60,0±14,7	62,5±13,1	62,5±13,1	65,0±11,07	67,5±12,5	75,0±10,5
	$5 \times 10^6$	15,0±2,8	22,5±4,7	22,5±4,7	25,0±2,8	25,0±2,8	27,5±4,7	27,5±4,7	32,5±6,2	35,0±2,88	37,5±2,5
	$1 \times 10^6$	10,0±4,0	12,5±2,5	15,0±5,0	20,0±4,0	22,5±4,7	25,0±8,66	25,0±8,66	30,0±4,8	35,0±6,4	37,5±7,5
BP1-13	$5 \times 10^7$	25,0±2,8	42,5±2,5	50,0±0,0	62,5±7,5	72,5±11	72,5±11	72,5±11,08	75,0±5,2	77,5±13,1	80,0±7,2
	$1 \times 10^7$	22,5±6,2	27,5±7,5	32,5±8,5	37,5±6,2	45,0±10,4	57,5±13,1	60,0±10,8	67,5±6,2	67,5±12,5	77,5±13,1
	$5 \times 10^6$	12,5±6,2	17,5±6,2	17,5±6,2	25,0±2,8	27,0±2,8	27,5±4,7	30,0±4,08	32,5±2,5	35,0±2,88	40,0±6,2
	$1 \times 10^6$	10,0±4,0	15,0±5,0	17,5±4,7	20,0±7,07	22,5±7,5	25,0±8,6	27,5±10,3	30,0±12,2	32,5±12,5	35,0±2,88
BEL-13	$5 \times 10^7$	17,5±8,5	25,0±6,4	35,0±8,6	37,5±6,2	42,5±8,5	47,5±4,7	60,0±13,5	62,5±10,8	67,5±12,5	70,0±10,3
	$1 \times 10^7$	15,0±5,0	32,5±8,5	35,0±8,6	37,5±9,4	40,0±7,07	45,0±4,8	50,0±10,0	55,0±5,0	60,0±13,5	62,5±13,1
	$5 \times 10^6$	15,0±2,8	15,0±5,0	27,5±6,2	30,0±6,3	35,0±8,1	40,0±7,2	45,2±4,8	50,0±10,0	55,0±5,0	55,0±5,0
	$1 \times 10^6$	7,5±2,5	10,0±4,08	20,0±7,0	22,5±7,5	25,0±8,6	25,0 ±8,6	27,5±7,5	30,0±4,08	35,0±2,88	37,5±6,2
BCh-13	$5 \times 10^7$	25,0±10,4	15,0±5,0	42,5±10,3	47,5±11,8	60,0±15,8	65,0±14,4	70,0±14,7	75,5±16,2	75,5±16,2	80,0±12,2
	$1 \times 10^7$	15,0±5,0	30,0±10,8	40,0±7,0	43,1±7,2	55,0±11,9	65,0±11,9	67,5±12,5	67,5±12,5	70,0±9,12	75,0±16,2
	$5 \times 10^6$	15,0±2,8	20,0±4,08	35,0±6,4	37,5±6,2	45,0±10,4	47,5±11	55,0±6,45	57,5±7,5	60,0±9,12	62,5±7,5
	$1 \times 10^6$	12,5±2,85	15,0±5,0	15,0±5,0	27,5±8,5	37,5±8,5	47,5±11	50,2±5,2	52,5±4,6	62,5±7,5	70,0 ±7,07
BLE1-14	$5 \times 10^7$	35,0±2,8	37,5±10,3	45,0±14,4	57,5±20,1	80,0±10,8	82,5±4,7	85,0±11,8	90,0±4,08	92,5±7,5	100
	$1 \times 10^7$	30,0±12,2	35,0±2,8	37,5±4,7	52,4±9,4	72,5±7,5	80,0±10,8	82,5±11,8	85,0±11,8	90,0±5,77	95,0±5,0
	$5 \times 10^6$	22,5±6,2	30,0±9,12	30,0±9,1	35,0±9,5	37,5±6,4	40,0±6,2	45,0±9,5	50,0±6,5	60,0±7,51	62,5±7,5
	$1 \times 10^6$	7,5±4,7	7,5±4,78	10,0±7,07	25,5±13,2	32,5±8,5	37,5±9,4	40,0±6,3	45,0±4,3	47,5±8,5	55,0±5,0
BCol1-14	$5 \times 10^7$	35,0±2,88	50,0±4,08	52,5±2,5	70,0 ±4,08	80,0±7,0	85,0±5,0	90,0±5,7	95,2±10,3	100	100
	$1 \times 10^7$	20,0±7,07	27,5±7,5	27,5±7,5	37,5±6,2	45,0±5,0	50,0±8,1	55,0±2,4	60,0 ±9,1	82,5±7,66	90,0±5,77
	$5 \times 10^6$	15,0±2,8	20,0±4,08	22,5±2,5	22,5±2,5	22,5±8,5	30,0±9,1	35,0±6,4	40,0±7,07	47,5±8,52	55,0±5,0
	$1 \times 10^6$	5,0±5,0	5,0±5,0	5,0±5,0	7,5±4,7	12,4±3,2	27,5±2,5	30,0±4,08	35,0±4,03	42,5±7,5	45,0±6,4

Штамм	Титр	Өлу жағдайы %, залалданғаннан кейінгі тәулік									
		3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
BCi1-14	5x10 <sup>7</sup>	50,0±4,08	62,5±7,5	67,5±10,3	68,5 ±2,5	77,5±8,5	82,5±6,2	90,0±7,07	97,0±10,02	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	30,0±4,08	35,0±6,4	45,0±8,6	47,5±8,2	52,0±8,4	55,0±8,6	65,0±10,4	70,0±7,07	75,0±8,66	85,0±9,5
	5x10 <sup>6</sup>	12,5±6,2	17,5±8,5	17,5±8,5	27,5±11	30,5±5,2	40,0±5,2	45,2±2,7	47,5 ±11,3	57,5±8,53	62,5±7,5
	1x10 <sup>6</sup>	7,5±2,5	17,5±8,5	17,5±6,2	17,5±6,2	20,0±4,08	22,5±2,5	27,5±4,7	30,0±4,08	37,5±4,78	42,5±7,5
BCi2-14	5x10 <sup>7</sup>	27,5±8,5	35,0±6,45	52,5±4,7	70,0±7,07	80,0±4,08	82,5±2,5	82,5±2,5	85,0±2,8	90,0±5,77	100
	1x10 <sup>7</sup>	27,5±4,8	30,0±9,1	45,0±6,4	57,5±7,5	60,0±5,7	62,5±7,5	70,0±12,2	75,0±14,2	85,0±7,78	90,0±5,77
	5x10 <sup>6</sup>	12,5±4,7	17,5±6,29	22,5±8,5	22,5±8,5	22,5±7,5	32,5±13,1	37,5±11,08	45,0±8,6	57,5±8,53	67,5±11,1
	1x10 <sup>6</sup>	7,5±4,7	7,5±4,78	15,0±2,8	20,0±7,7	25,0±8,6	30,0±4,08	32,5±4,7	35,0±6,4	45,0±8,12	55,0±5,0
BCi4-14	5x10 <sup>7</sup>	30,0±9,1	35,0±11,9	42,5±10,3	43,5±6,2	50,0 ±7,07	52,5±7,5	55,0±9,5	57,5±8,53	60,0±7,12	62,5±7,5
	1x10 <sup>7</sup>	20,0±7,07	25,0±5,0	30,0±4,08	42,5±6,5	45,0±11,9	50,0±10,8	52,5±8,5	55,5±8,5	62,5±7,5	75,0±8,7
	5x10 <sup>6</sup>	5,0±5,0	5,0±5,0	10,0±7,07	12,5±6,2	15,0±6,4	22,5±10,3	25,0±10,4	27,5±10,3	35,0±2,88	45,0±8,2
	1x10 <sup>6</sup>	5,0±2,8	7,5±4,7	10,0±4,0	10,0±4,0	10,0±4,0	15,0±8,2	20,1±2,5	25,0±10,4	30,0±4,08	35,0±2,88
BSc1-15	5x10 <sup>7</sup>	27,5±10,3	52,5±19,7	90,0±10,0	97,5±2,5	100	100	100	100	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	22,5±8,5	32,5±8,5	52,5±11,0	87,5±7,5	92,5±2,5	100	100	100	100	100
	5x10 <sup>6</sup>	15,0±2,8	25,0±8,6	50,0±9,1	92,5±4,7	90,0±5,7	100	100	100	100	100
	1x10 <sup>6</sup>	15,0±2,8	17,5±2,5	25,0±6,4	40,0 ±8,1	60,0±9,1	87,5±4,7	100	100	100	100
BSc2-15	5x10 <sup>7</sup>	25,0±9,5	35,0±14,4	50,0±12,2	80,0±10,8	97,5±2,5	100	100	100	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	20,0±7,07	32,5±9,4	45,0±11,9	65,0±12	95,0±5,0	100	100	100	100	100
	5x10 <sup>6</sup>	22,5±2,5	30,0±7,07	35,0±6,4	50,0±10	72,5±9,4	95,0±5,0	100	100	100	100
	1x10 <sup>6</sup>	12,5±4,7	17,5±4,7	17,5±4,7	20,0±5,7	30,0 ±7,07	40,0±7,07	52,5±7,5	60,0±40,8	85,0±10,7	92,5±7,5
BSc7-15	5x10 <sup>7</sup>	35,0±8,6	45,0±6,4	50,0±7,07	80,0±10,8	92,5±4,7	97,5±7,07	100	100	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	20,0±7,07	22,5±6,29	32,5±6,2	65,0±11,9	67,5±8,2	75,0±18,4	82,5±17,5	90,5±4,08	100	100
	5x10 <sup>6</sup>	10,0±7,07	20,0±7,07	22,5±6,2	50,0±10	52,5±6,5	60,0±8,4	67,5±8,6	82,5±17,5	100	100
	1x10 <sup>6</sup>	10,0±4,08	15,0±5,0	17,5±4,7	20,0±5,7	27,5±11	35,0±8,6	47,5±7,5	52,5±7,5	55,0±9,5	75,0±8,66
BSc8-15	5x10 <sup>7</sup>	32,5±9,4	40,0±9,1	57,5±11,0	80,0±8,1	90,0±10,0	92,5±4,7	100	100	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	22,5±10,3	25,0±10,4	47,5±10,3	50,0±8,2	72,5±8,5	80,0±9,1	92,5±7,5	100	100	100
	5x10 <sup>6</sup>	22,5±2,5	22,5±10,3	37,5±11,0	40,5±8,6	62,5±6,2	72,5±6,2	87,5±7,5	92,5±7,5	100	100
	1x10 <sup>6</sup>	15,0±6,4	22,5±2,5	25,0±2,8	27,5±11	30,0±4,0	32,5±9,4	37,5±4,7	42,5±4,78	52,5±8,5	65,2±7,07
BSc10-15	5x10 <sup>7</sup>	42,5±8,5	50,0±10,8	67,5±6,2	80,0±9,1	87,5±4,7	90,0±2,8	90,0±4,08	92,5±4,78	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	15,0±6,4	17,5±6,2	37,5±4,7	55,0±10,4	80,0±4,08	85,0±4,08	85,0±2,8	90,0±4,08	95,0±5,0	100
	5x10 <sup>6</sup>	17,5±6,2	20,0±8,1	22,5±8,5	35,0±2,8	37,5±8,1	40,0±5,2	42,0±4,08	60,2±4,08	65,0±8,5	75,0±8,66
	1x10 <sup>6</sup>	10,0±4,08	15,0±6,4	17,5±4,7	25,0±2,8	30,0±8,1	35,0±2,8	37,5±4,7	42,5±4,78	57,5±11,1	67,5±8,09
BOr1-16	5x10 <sup>7</sup>	27,5±8,5	32,5±2,5	37,5±4,7	77,5±6,2	87,5±6,4	95,0±5,0	100	100	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	22,5±6,3	30,0±7,07	35,0±8,6	55,0±2,8	60,0±8,2	62,5±10,8	77,5±4,7	87,5±7,5	90,5±7,8	92,5±7,5
	5x10 <sup>6</sup>	12,5±2,5	30,0±13,2	32,5±8,6	37,5±5,7	52,5±7,5	57,5 ±7,2	75,0±8,66	82,5±6,8	87,5±7,5	90,0±5,77
	1x10 <sup>6</sup>	15,0±2,8	17,5±2,5	25,2±4,1	27,5±8,5	30,0±6,2	32,5±4,7	45,0±8,66	52,5±8,53	55,0±6,4	70,0±9,2
BSc1-16	5x10 <sup>7</sup>	37,5±7,5	40,0±9,1	42,5±4,3	45,0±6,2	55,0±17,1	70,0±8,1	77,5±4,78	80,0±4,08	87,5±7,5	92,5±7,5
	1x10 <sup>7</sup>	32,5±13,1	40,0±9,1	42,5±4,8	45,5±8,1	47,5±7,2	67,5±11	70,0±4,07	80,0±7,07	87,5±7,5	95,0±5,0
	5x10 <sup>6</sup>	20,0±5,7	35,0±12,5	37,5±12,5	40,2±8,6	42,5±17,1	45,0±8,2	50,0±7,07	55,0±6,4	55,0±6,4	60,0±8,14
	1x10 <sup>6</sup>	17,5±7,5	33,5±8,5	34,5±4,7	35,0±8,6	40,5±11	42,5±7,07	47,5±6,2	50,0±17,3	52,5±4,7	57,5±7,1
BTr1-16	5x10 <sup>7</sup>	45,0±5,0	57,5±6,2	80,0±5,7	92,5±7,5	100	100	100	100	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	40,0±4,08	57,5±13,7	92,5±4,7	97,5±2,5	97,5±2,5	100	100	100	100	100
	5x10 <sup>6</sup>	25,0±2,8	30,0±8,1	45,0±6,4	92,5±4,7	97,5±2,5	100	100	100	100	100
	1x10 <sup>6</sup>	22,5±6,2	27,5±4,7	30,0±6,1	45,0±9,5	62,5±6,3	67,5±4,7	77,5±6,2	90,0±5,72	100	100

Штамм	Титр	Өлу жағдайы %, залалданғаннан кейінгі тәулік									
		3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
BPit-16	5x10 <sup>7</sup>	40,0±9,1	46,0±14,0	55,5±11,2	95,0±2,8	97,5±2,5	100	100	100	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	27,5±4,7	25,0±13,2	35,0±12,5	55,0±8,6	67,5±4,7	70,0±7,07	77,5±6,21	80,0±6,31	85,0±9,5	95,0±5,0
	5x10 <sup>6</sup>	22,5±13,1	22,5±8,5	27,5±8,5	30,0±9,1	37,5±11,1	45,2±5,2	50,0±7,07	52,5±4,78	60,0±2,5	75,0±8,07
	1x10 <sup>6</sup>	22,5±8,5	37,5±2,5	42,5±4,7	42,5±4,7	45,0±6,4	50,0±7,07	55,0±6,4	75,0±6,45	85,0±9,5	92,5±7,5
BP1-16	5x10 <sup>7</sup>	37,5±11	37,5±2,5	40,0±10,8	52,5±7,5	55,0±7,1	57,5±10,3	85,0±6,4	90,0±5,77	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	37,5±7,5	22,5±7,5	35,0±2,8	47,5±8,5	50,1±6,3	52,5±7,2	70,0±6,8	77,5±6,29	90,0±5,77	100
	5x10 <sup>6</sup>	27,5±4,7	40,0±9,1	50,0±10,8	62,5±14,3	75,0±15,0	77,5±14,3	80,0±14,1	85,0±15,0	85,0±15,0	85,0±15,0
	1x10 <sup>6</sup>	12,5±7,5	30,0±7,07	32,5±9,4	37,5±8,5	40,0±8,1	40,0±8,1	47,5±6,2	50,0±4,08	55,0±2,88	57,5±2,5
BCO2-09	5x10 <sup>7</sup>	25,0±10,4	47,5±10,3	62,5±11,0	72,5±8,5	85,0±2,8	85,0±2,8	87,5±4,7	87,5±4,7	92,5±4,7	92,5±4,7
	1x10 <sup>7</sup>	15,0±2,8	20,0±4,0	30,0±4,0	50,0±4,0	57,5±6,2	62,5±2,5	72,5±7,0	72,5±7,5	77,5±6,2	87,5±2,5
	5x10 <sup>6</sup>	10,0±4,0	12,5±2,5	17,5±4,7	25,0±9,5	32,5±6,2	37,5±6,2	47,5±6,2	52,5±8,5	60,0±7,0	60,0±7,0
	1x10 <sup>6</sup>	15,0±6,4	25,0±2,8	25,0±8	32,5±6,2	35,0±5,0	37,5±4,7	47,5±8,5	52,5±8,5	52,0±8,5	57,5±7,5
BHy-09	5x10 <sup>7</sup>	25,0±10,4	32,5±6,2	32,5±6,2	32,5±6,2	45,0±8,6	57,5±4,7	65,0±5,0	82,5±7,5	90,0±4,0	92,5±4,7
	1x10 <sup>7</sup>	12,5±7,5	22,5±7,5	35,0±2,8	47,5±11,0	62,5±8,5	67,5±4,7	77,5±8,5	87,5±4,7	90,0±5,7	90,0±5,7
	5x10 <sup>6</sup>	32,5±11,8	37,5±7,5	40,0±9,1	47,5±7,5	52,5±11,0	60,0±10,8	70,0±4,0	72,5±4,7	80,0±4,0	80,0±4,0
	1x10 <sup>6</sup>	22,5±8,5	25,0±10,4	30,0±7,0	32,5±9,4	35,0±9,5	37,5±8,5	45,0±6,4	47,5±4,7	52,5±2,5	57,5±2,5
BScar-09	5x10 <sup>7</sup>	7,5±4,7	27,5±11,8	35,0±11,9	57,5±17,5	65,0±17,5	75,0±15,5	80,0±14,1	90,0±5,7	90,0±5,7	95,0±5,0
	1x10 <sup>7</sup>	10,0±5,0	10,0±4,0	22,5±6,2	32,5±7,5	47,5±4,7	60,0±8,1	70,0±9,1	75,0±8,6	77,5±10,3	80,0±11,5
	5x10 <sup>6</sup>	5,0±2,5	20,0±9,1	22,5±8,5	37,5±16,5	50,0±10,8	57,5±14,3	65,0±13,2	67,5±14,9	70,0±12,9	75,0±11,9
	1x10 <sup>6</sup>	2,5±5,7	12,5±4,7	17,5±2,5	25,0±8,6	32,5±7,5	40,0±10,8	55,0±6,4	55,0±6,4	65,0±10,4	65,0±10,4
BCa2(m)-09	5x10 <sup>7</sup>	30,0±4,0	35,0±6,4	45,0±8,6	52,5±11,0	75,5±7,5	77,5±4,7	82,5±4,7	90,0±7,0	90,0±7,0	90,0±7,0
	1x10 <sup>7</sup>	10,0±7,0	17,5±8,5	22,5±6,2	37,5±6,2	45,0±2,8	55,0±6,4	62,5±4,7	80,0±4,0	82,5±4,7	85,0±5,0
	5x10 <sup>6</sup>	12,5±12,5	42,5±7,5	47,5±10,3	57,5±7,5	65,0±8,6	75,0±6,4	80,0±9,1	82,5±8,5	82,5±8,5	82,5±8,5
	1x10 <sup>6</sup>	5,0±2,8	10,0±4,0	17,5±4,7	20,0±4,0	22,5±2,5	22,5±2,5	40,0±10,8	57,5±17,0	60,0±15,8	62,5±16,5
BCa3(m)-09	5x10 <sup>7</sup>	22,5±8,5	40,0±9,1	50,0±4,08	60,0±7,0	70,0±7,0	82,5±2,5	85,5±2,5	100	100	100
	1x10 <sup>7</sup>	7,5±7,5	20,0±4,0	33,5±4,7	39,0±8,1	47,5±7,5	52,5±4,7	75,0±11,9	100	100	100
	5x10 <sup>6</sup>	12,5±2,2	27,5±2,8	32,5±3,6	50,0±4,9	50,0±5,19	60,0±5,9	65,0±6,6	87,5±7,4	90,5±6,9	92,5±7,4
	1x10 <sup>6</sup>	7,5±4,7	15,0±5,0	20,0±7,0	27,5±2,5	30,0±4,0	42,5±4,7	57,5±4,7	75,0±7,0	78,5±2,5	80,0±7,0
Бақылау		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5±2,5	5,0±2,8	7,5±4,78	10,0±4,08	15,0±2,88
НСР <sub>05</sub>		18,2	22,2	22,4	24,1	23,4	23,8	23,8	24,4	25,9	25,9

Штаммдардың уыттылық қасиетіне байланысты аздаған вариабельділігі байқалды. 1x10<sup>7</sup> және 5x10<sup>7</sup> титрлердегі 14 штаммда өлімнің қорытынды деңгейі 100%-ды құрады. BC<sub>01</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15 BSc<sub>2</sub>-15 және BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16, BCa<sub>3</sub>(m)-09 штаммдары максималды титр кезінде қожайын организмнің өлімінің жоғары жылдамдығын көрсетті. Бұл нұсқаларда жұмыс суспензиясының 5x10<sup>7</sup> концентрациясымен залалданғаннан кейін бір аптада азиялық шегірткелердің өлімі 50-90% құрады, 13 тәулікте 82,5-100%, ал 21 тәулікте 100% жетті. Басқа штаммдар титрлерге байланысты әр түрлі белсенділікті көрсетті. Зерттеу

нәтижелері көрсеткендей оптималды титр саны 5x10<sup>7</sup> екені анықталды.

Саңырауқұлақтың алты культурасы 21 тәулікте (BCO<sub>1</sub>-14, BSC<sub>1</sub>-15, BSC<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16, BCa<sub>3</sub>(m)-09) инокуляция процесі аяқталған соң дернәсілдің өлім деңгейі 90-100% жетіп, ол зиянкес дернәсілге қарсы жоғары биологиялық белсенділік көрсетті.

*B. bassiana* саңырауқұлақ штаммдарының әсерінен *L. migratoria* L. 2-3 жастағы дернәсілдерінің 100%-дық өлуінің (LT<sub>100</sub>) басталу мерзімі негізінен инокуляциядан кейінгі 11-ші күннен басталды (кесте 3).

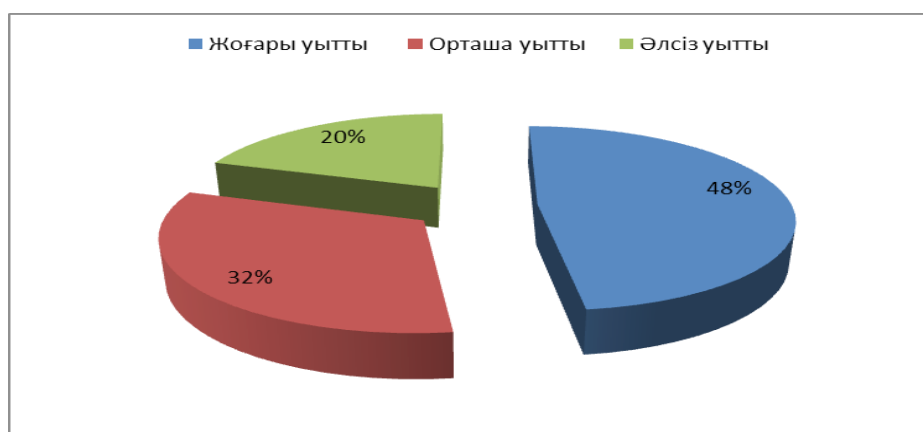
**3-кесте** – *B. bassiana* саңырауқұлақ штаммдарының әсерінен *L. migratoria* L. 2-3 жастағы дернәсілдерінің 100% өлуінің басталу мерзімі (Зертханалық тәжірибе, 2019 ж.)

Штамм	LT <sub>100</sub> титрында, тәулік			
	1x10 <sup>6</sup>	5x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>7</sup>	5x10 <sup>7</sup>
BLe1-14	-	-	-	21
BCo1-14	-	-	-	21
BCi1-14	-	-	-	21
BCi2-14	-	-	-	21
BSc1-15	15	13	13	11
BSc2-15	-	15	13	13
BSc <sub>7</sub> -15	-	19	19	15
BSc8-15	-	19	17	15
BSc10-15	-	-	21	19
BOr1-16	-	-	-	15
BTr1-16	19	13	11	11
BPit-16	-	-	-	15
BP1-16	-	-	21	19
BCa <sub>3</sub> (m)-09	-	-	-	17

Сонымен, қожайын организмнің өлімге ұшырау деңгейі мен жылдамдығы бойынша ең жақсы әсер етіп, штаммдар ішінде BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16, BCa<sub>3</sub>(m)-09 ерекшелігін көрсетті. Ал ең жоғарғы биологиялық белсенділік BSc<sub>1</sub>-15 штаммында 15-ші тәулікте байқалып, тест-бунақденелілердің өлу деңгейі 100% құрады. Ең төменгі белсенділікті BCi<sub>4</sub>-14 штаммы 35,0-62,5% аралығында көрсетті. Бақылау

нұсқасындағы (өңдеусіз) азиялық шегіртке дернәсілдерінің 21-тәулікте өлу деңгейі 15,0±2,88% байқалды.

Осылайша зерттеуге алынған саңырауқұлақ штаммдарының арасынан жалпы санымен салыстырғанда жоғары уыттылыққа (өлуі 80-100%) ие формаларының үлесі 48%-дан аспады, ал әлсіз уытты формаларының меншікті салмағы (белсенділігі 60%-дан төмен) 20%-ды құрады (7-сурет).



**7-сурет** – Азиялық шегіртке дернәсілдеріне уыттылық белгілері бойынша әр түрлі систематикалық топтағы бунақденелілерден оқшауланған *B. bassiana* саңырауқұлақтарының арақатынасы

Бұл жерде энтомопатогенді анаморфты аскомицеттердің көпшілігі мамандандырылған емес түрлер екенін атап өткен жөн [24]. Сондықтан, егер белгілі бір штамм зиянкестердің бір түрінде жоғары биологиялық белсенділікті көрсетсе, онда ол фитофагтардың басқа түрлеріне де жоғары уытты болады деп айтуға болады [25].

### Қорытынды

*Beauveria* туысына жататын саңырауқұлақтардың штаммдары азиялық шегірткелерге уыттылығы бойынша гетерогенділік қасиет көрсетті. Тестілеуден өткен 25 культурадан

штаммдардың 48% жоғары уыттылық, ал 20% әлсіз уыттылық көрсетті. Ал бақылау нұсқасында (өңдеусіз) дернәсілдердің өлу деңгейі 15%-дан аспады. Сонымен, *L. migratoria* L. санын бақылауда жоғары биологиялық белсенділік көрсеткен таулы аймақтың 5 (BCo<sub>1</sub>-14, BSc<sub>1</sub>-15, BSc<sub>2</sub>-15, BTr<sub>1</sub>-16, BPit-16) және далалы аймақтың 5 (BCO<sub>2</sub>-09 BHy-09 BScar-09 BCa<sub>3</sub>(m)-09, BCa<sub>2</sub>(m)-09) штаммдары іріктеліп алынды. Алдағы уақытта осы іріктеліп алынған таулы және далалы аймақ штаммдар негізінде өндіріске ұсыну мақсатында жартылай препараттық формалары дайындалып, салыстырмалы түрде жан-жақты зертханалық-далалық тәжірибелер жүргізілетін болады.

### Әдебиеттер

- 1 Лачининский А.В., Сергеев М.Г., Чильдебаев М.К., Черняховский М.Е., Локвуд А.Дж., Камбулин В.Е., Гаппаров Ф.А. Саранчовые Казахстана, Средней Азии и сопредельных территорий. – США, Ларам: Международ. ассоц. прикл. Акридологии и университет Вайоминга, 2002. – 387 с.
- 2 Камбулин В.Е., Ыскак С., Толеубаев К.М. Динамика популяций стадных саранчовых в Казахстане // Защита и карантин растений. – 2010. – №4. – С.17-20.
- 3 Глупова В.В. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты /под ред. В.В. Глупова. – М7: Круглый год, 2001. – 736 с.
- 4 Серебров В.В., Киселев А.А., Глупов В. В. Изучение некоторых факторов синергизма между энтомопатогенными грибами и химическими инсектицидами // Микология и фитопатология. – 2003. – Т. 37. – В. 1. – С.76-81.
- 5 Слямова Н.Д., Смагулова Ш.Б., Абдукадырова А.Д., Болатбекова Б.К., Успанов А.М. Экологические безопасные методы контроля численности колорадского жука с использованием энтомопатогенных грибов в условиях Юго-Востока Казахстана // Изденістер, нәтижелер – Исследования, результаты. Алматы, № 4 (76) 2017. 436-442.б.
- 6 Смагулова Ш.Б., Дуйсембеков Б.А., Слямова Н.Д., Успанов А.М., Леднев Г.Р., Левченко М.В., Энтомопатогенные анаморфные аскомицеты в популяциях жуковкороедов в Юго-Восточном Казахстане и оценка их специфичности // Изденістер, нәтижелер – Исследования, результаты. №4 (76) 2017. – С. 449-457.
- 7 Charnley, A.K. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Pest Control / A.K. Charnley, S.A. Collins // Environmental and Microbial Relationships. The Mycota: A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research. – 2007. – pp. 159-187.
- 8 Абдукерим Р.Ж., Туленгутова К.Н., Хидиров К.Р., Жунусова А.С., Алимкулова М.К. Биологическая активность энтомопатогенных грибов выделенных из короледа на насекомых из других систематических групп // Изденістер, нәтижелер – Исследования, результаты. Алматы, № 4 (76) 2017. 222-228 б.
- 9 Крюков В.Ю. и др. Перспективы применения энтомопатогенных гифомицетов (Deuteromycota, Hyphomycetes) для регуляции численности насекомых // Евразийский энтомологический журнал. 2007. Т. 6. № 2. С. 195-204.
- 10 Lomer C. J., Bateman R. P., Johnson D. L., Langewald J., Thomas M. B. Biological control of locusts and grasshoppers. // Ann. Review Entomol. 2001. V. 46. pp. 667-702
- 11 Штерншис М.В., Цветкова В.П. Микробиологический метод контроля саранчовых. // Защита и карантин растений. 2002. № 6. С. 26-27.
- 12 Burge M. N. The scope of fungi in biological control. // Fungi in biological control systems. Manchester – New York: Manchester University Press, 1988. – pp. 1– 18.
- 13 Лукина А.В., Леднев Г.Р., Дуйсембеков Б.А., Левченко М.В., Слямова Н.Д., Смагулова Ш.Б. Поиск и выделение новых штаммов энтомопатогенных грибов в юго-восточном Казахстане // I-я Межд. научн. конф. молодых ученых и аспирантов «Актуальные проблемы защиты и карантина растений». – Алматы. – 2006. – С.99-101.
- 14 Штерншис М.В. Биологическая защита растений: Учеб. пос. для ВУЗов. Под ред.– М.: КолосС. – 2004. – 264 с.
- 15 Егорова Н.С. Промышленная микробиология: Учеб. пос. для ВУЗов. Под ред.– М.: Высш. шк. -1989. -688 с.
- 16 Билай В.И. (ред.) Методы экспериментальной микологии. Справочник. Киев, "Наукова думка", 1982. – 550 с.
- 17 Успанов А.М. Биологическое обоснование отбора штаммов гриба *Beauveria bassiana* s.l. для снижения численности саранчовых в Казахстане: Дис. канд. биол.наук: 06.01.07 / Успанов Алибек Маратович. – СПб, 2013-123с
- 18 Faria, M., Wraight, S.P. Myco-insecticides and Myco-acaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. //Biological Control. 2007.V.43, -237-256 p.

- 19 Cliquet S., Jackson M.A. Comparison of air – drying methods for evaluating the desiccation tolerance of liquid culture – produced blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus*. // *World J. Microbiol. Biotech.* 1997. V. 13. -pp. 299 – 303.
- 20 Штерншис М.В., Ермакова Н.И., Зурабова Э.Р., Исангалин Ф.С. Методические рекомендации. – М., 1990. -14 с.
- 21 Лабинская А.С. Практическое руководство по микробиологическим методам исследования. – М.: Гос. изд.-во мед. лит.-ры., 1963 – 463 с.
- 22 Левченко М.В. Биологическое обоснование использования энтомопатогенных гифомицетов для подавления численности вредных саранчовых: Дис. канд. биол.наук: 03.00.09 / Левченко Максим Владимирович. – СПб, 2007 – 138с.
- 23 Евлахова А.А. Энтомопатогенные грибы. Систематика, биология, практические значения. Л.: Наука, 1974. 260с.
- 24 Гештовт, Н.Ю. Энтомопатогенные грибы. Биотехнологические аспекты / Н.Ю. Гештовт. – Алматы, 2002. – 288 с.
- 25 Крюков В.Ю., Ярославцева О.Н., Левченко М.В., Леднев Г.Р., Глупов В.В. Фенотипическая изменчивость природных изолятов энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*. // *Микология и фитопатология.* 2009. Т. 43. N 6. С. 514–521.

## References

- 1 Abdukerim R.ZH., Tulengutova K.N., Khidirov K.R., Zhunusova A.S., Alimkulova M.K. (2017) Biologicheskaya aktivnost' entomopatogennykh gribov vydelennykh iz koroyeda na nasekomykh iz drugikh sistematicheskikh grupp [Biological activity of entomopathogenic fungi isolated from bark beetles on insects from other systematic groups] // *İzdenister, nәtizheler – Issledovaniya, rezul'taty.* Almaty, № 4 (76). pp. 222-228.
- 2 Bilay V.I. (1982) (red.) *Metody eksperimental'noy mikologii Spravochnik* [Methods of experimental mycology]. Kiyev, "Naukova dumka", – pp. 550.
- 3 Burge M. N. (1988) The scope of fungi in biological control. // *Fungi in biological control systems.* Manchester – New York: Manchester University Press, – pp. 1– 18.
- 4 Charnley, A.K. (2007) *Entomopathogenic Fungi and Their Role in Pest Control* / A.K. Charnley, S.A. Collins // *Environmental and Microbial Relationships. The Mycota: A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research.* – pp. 159-187.
- 5 Cliquet S., Jackson M.A. (1997) Comparison of air – drying methods for evaluating the desiccation tolerance of liquid culture – produced blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus*. // *World J. Microbiol. Biotech.* V. 13. – pp. 299 – 303.
- 6 Faria, M., Wraight, S.P. (2007) Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. // *Biological Control.* V.43, – pp. 237-256.
- 7 Geshtovt N.YU. (2002) *Entomopatogennyye griby. Biotekhnologicheskkiye aspekty* [Entomopathogenic fungi. Biotechnological aspects] / N.YU. Geshtovt. – Almaty, – pp. 288.
- 8 Glupov V.V. (2001) *Patogeny nasekomykh: strukturnyye i funktsional'nyye aspekty* [Insect pathogens: structural and functional aspects]. / Pod.red – M.: Kruglyy god, -pp. 736.
- 9 Kambulin V.Ye., Yskak S., Toleubayev K.M. (2010) *Dinamika populyatsiy stadnykh saranchovykh v Kazakhstane* [Dynamics of herd locust populations in Kazakhstan] // *Zashchita i karantin rasteniy.* — №4. – pp.17-20.
- 10 Kryukov V.YU. i dr. (2007) *Perspektivy primeneniya entomopatogennykh gifomitsetov (Deuteromycota, Hyphomycetes) dlya regulyatsii chislennosti nasekomykh* [Prospects for the use of entomopathogenic hyphomycetes (Deuteromycota, Hyphomycetes) to regulate the number of insects] // *Yevraziyskiy entomologicheskii zhurnal.* T. 6. № 2. pp. 195-204.
- 11 Kryukov V.YU., Yaroslavtseva O.N., Levchenko M.V., Lednev G.R., Glupov V.V. (2009) *Fenotipicheskaya izmenchivost' prirodnnykh izolyatov entomopatogennogo griba Beauveria bassiana* [Phenotypic variability of natural isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*]. // *Mikologiya i fitopatologiya.* T. 43. N 6. pp. 514–521.
- 12 Labinskaya A.S. (1963) *Prakticheskoye rukovodstvo po mikrobiologicheskim metodam issledovaniya* [Practical guide to microbiological research methods]. – M.: Gos. izd.-vo med. lit.-ry., –pp. 463 .
- 13 Lachininskiy A.V., Sergeev M.G., Chil'debayev M.K., Chernyakhovskiy M.Ye., Lokvud A.Dzh., Kambulin V.Ye., Gaparov F.A. (2002) *Saranchovyye Kazakhstana, Sredney Azii i sopredel'nykh territoriy* [Locusts of Kazakhstan, Central Asia and adjacent territories]. – SSHA, Larami: Mezhdunarod. assots. prikl. Akridologii i universitet Vayominga, – pp. 387.
- 14 Levchenko M.V. (2007) *Biologicheskoye obosnovaniye ispol'zovaniya entomopatogennykh gifomitsetov dlya podavleniya chislennosti vrednykh saranchovykh* [Biological justification of the use of entomopathogenic hyphomycetes to suppress the number of harmful locusts]: Dis. kand. biol.nauk: 03.00.09 / Levchenko Maksim Vladimirovich. – SPb, – pp. 138.
- 15 Lomer C. J., Bateman R. P., Johnson D. L., Langewald J., Thomas M. B. (2001) Biological control of locusts and grasshoppers. // *Ann. Review Entomol.* V. 46. pp. 667-702
- 16 Lukina A.V., Lednev G.R., Duysembekov B.A., Levchenko M.V., Slyamova N.D., Smagulova SH.B. (2006) *Poisk i vydeleniye novykh shtammov entomopatogennykh gribov v yugo-vostochnom Kazakhstane* [1. Search and isolation of new strains of entomopathogenic fungi in south-eastern Kazakhstan] // *I-ya Mezhd. nauchn. konf. molodykh uchenykh i aspirantov «Aktual'nyye problemy zashchity i karantina rasteniy».* – Almaty, – pp. 99-101.
- 17 Serebrov V.V., Kiselev A.A., Glupov V. V. (2003) *Izucheniye nekotorykh faktorov sinergizma mezhdru entomopatogennymi gibami i khimicheskimi insektsitsidami* [Study of some factors of synergy between entomopathogenic fungi and chemical insecticides] // *Mikologiya i fitopatologiya.* –T. 37. – V. 1. – pp.76 -81.
- 18 Slyamova N.D., Smagulova SH.B., Abdukadyrova A.D., Bolatbekova B.K., Uspanov A.M. (2017) *Ekologicheskii bezopasnyye metody kontrolya chislennosti koloradskogo zhuka s ispol'zovaniyem entomopatogennykh gribov v usloviyakh Yugo-Vostoka Kazakhstana* [Environmentally safe methods of population control of the Colorado potato beetle using entomopathogenic



fungi in the conditions of the South-East of Kazakhstan]// *Ízdenister, nәtzheler – Issledovaniya, rezul'taty*. Almaty, № 4 (76) pp. 436-442.

19 Smagulova S.H.B., Duysembekov B.A., Slyamova N.D., Uspanov A.M., Lednev G.R., Levchenko M.V. (2017) Entomopatogennyye anamorfnyye askomitsety v populyatsiyakh zhukovkoroyedov v Yugo-Vostochnom Kazakhstane i otsenka ikh spetsifichnosti [Entomopathogenic anamorphic ascomycetes in beetle-eating populations in South-Eastern Kazakhstan and assessment of their specificity] // *Ízdenister, nәtzheler – Issledovaniya, rezul'taty*. №4 (76) – pp. 449-457.

20 Shternshis M.V., Tsvetkova V.P. (2002) Mikrobiologicheskiy metod kontrolya saranchovykh [Microbiological method of locust control]. // *Zashchita i karantin rasteniy*. № 6. pp. 26-27.

21 Shternshis M.V. (2004) Biologicheskaya zashchita rasteniy [Biological plant protection]: Ucheb. pos. dlya VUZov. Pod red.– M.: KolosS. –pp. – 264.

22 Shternshis M.V., Yermakova N.I., Zurabova E.R., Isangalin F.S. (1990) Metodicheskiye rekomendatsii [Methodological recommendations]. – M., –pp. 14.

23 Uspanov A.M. (2013) Biologicheskoye obosnovaniye otbora shtammov griba *Veauveria bassiana* s.l. dlya snizheniya chislennosti saranchovykh v Kazakhstane [Biological justification for the selection of strains of the fungus *Seauveria bassiana* s. l. to reduce the number of locusts in Kazakhstan]: Dis. kand. biol.nauk: 06.01.07 / Uspanov Alibek Maratovich. – SPb, –pp.123.

24 Yegorova N.S. (1989) Promyshlennaya mikrobiologiya [Industrial Microbiology]: Ucheb. pos. dlya VUZov. Pod red.– M.: Vyssh. shk. – pp. 688.

25 Yevlakhova A.A. (1974) Entomopatogennyye griby. Sistematika, biologiya, prakticheskiye znacheniyе [Entomopathogenic fungi. Systematics, biology, practical significance]. L.: Nauka, – pp. 260.



3-бөлім  
**МОЛЕКУЛАЛЫҚ  
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА**

---

Section 3  
**MOLECULAR  
BIOLOGY AND GENETICS**

---

Раздел 3  
**МОЛЕКУЛЯРНАЯ  
БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА**

МРНТИ 68.35.03, 68.35.33

<https://doi.org/10.26577/eb.2021.v88.i3.07>**А.А. Амангелдиева** , **А.М. Абекова\*** , **Р.С. Ержебаева** 

Казахский научно-исследовательский институт земледелия  
и растениеводства, Казахстан, п. Алмалыбак  
\*e-mail: aabekova@mail.ru

## ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОДНОРОДНОСТИ ЛИНИЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В КАЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТОВ ГИБРИДОВ

В настоящее время селекция сахарной свёклы направлена в основном на создание высокопродуктивных гибридов на основе линейного исходного материала. Для получения гетерозисных гибридов важным этапом является создание константных (гомозиготных) исходных линий с высокой комбинационной способностью. Традиционно выровненные линии сахарной свёклы получают путём многократно повторяющегося отбора самоопылённых линий. Сложности селекции сахарной свёклы и поддержания генетической однородности обусловлены двухлетним циклом развития, инбредной депрессией и перекрестной несовместимостью. Для повышения эффективности создания и поддержания генетической однородности линий сахарной свёклы, используемых в качестве компонентов гибридов, начаты работы по внедрению ДНК-маркеров в селекционный процесс сахарной свёклы ТОО «КазНИИЗиР». В качестве материала исследований были использованы 20 линий сахарной свёклы коллекции КазНИИЗиР. Целью исследований являлось изучение генетической однородности линейного материала сахарной свёклы различного происхождения и уровня пloidности с использованием SSR-маркеров. В работе были использованы 3 SSR маркера – Bv21, Bv53, Bv155. По результатам оценки на однородность установлено, что большинство проанализированных линий характеризуются средней степенью выровненности. Наибольшая однородность отдельных индивидуальных растений внутри линии по трем маркерам была отмечена по ЦМС линии ЧС 1631 (Украина), по двум маркерам у линий МС-7, МС-1949 (Россия).

**Ключевые слова:** SSR-маркер, сахарная свекла, компоненты гибрида, генетическая однородность, ПЦР-анализ.

A.A. Amangeldiyeva, A.M. Abekova\*, R.S. Yerzhebayeva

Kazakh scientific research institute of agriculture  
and plant growing, Kazakhstan, Almalybak village  
\*e-mail: aabekova@mail.ru

### Evaluation of the genetic homogeneity of the sugar beet lines used as sources in hybrid production

Currently, efforts in sugar beet selection are aimed mainly at the creation of highly productive hybrid combinations which could be repeatedly derived from source line material. Naturally, the important step in this process is the development of constant homozygous source lines with high combining ability. Traditional approach in development of uniform sugar beet lines is based on repeated selection of self-pollinated lines. However, biennial lifecycle, cross-incompatibility and inbreeding depression all make breeding and maintaining the genetic homogeneity of sugar beet a challenging endeavor. To increase efficiency of development and preservation of genetic homogeneity of sugar beet lines used in hybrid production at the LLP "KazSRIA&PG", our biotechnology lab started working on introduction of DNA markers into the selection process. Twenty sugar beet lines of various origins and levels of ploidy from LLP "KazSRIA&PG" collection have been studied, to assess their genetic homogeneity, using three SSR markers: Bv21, Bv53 and Bv155. The produced data showed that the majority of lines can be characterized as having average level of uniformity. The highest homogeneity among individual plants belonging to one line, based on data from all three markers, was estimated for CMS line MS 1631 (Ukraine) and by data from a set of two markers for CMS lines MS-7 and MS-1949 (Russia).

**Key words:** SSR-marker, sugar beet, hybrid components, genetic homogeneity, PCR analysis.

А.А. Амангелдиева, А.М. Абекова\*, Р.С. Ержебаева

Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми  
зерттеу институты, Қазақстан, Алмалыбақ аул.

\*e-mail: aabekova@mail.ru

### Будандардың компоненттері ретінде қолданылатын қант қызылшасының линияларының генетикалық біртектілігін бағалау

Қазіргі уақытта қант қызылшасының селекциясы негізінен бастапқы материал ретінде линияны қолдану арқылы жоғары өнімді будандарды алуға бағытталған. Гетерозис будандарын алу үшін жоғары комбинациялық қабілеті бар тұрақты (гомозиготалы) бастапқы линияларды алу маңызды қадам болып табылады. Дәстүрлі түрде біркелкі қант қызылшасы линияларын өздігінен тозаңданған линияларды бірнеше рет таңдау арқылы алады. Қант қызылшасының селекциясын және генетикалық біртектілігін сақтау қиындықтары екі жылдық даму цикліне, инбредті депрессияға және айкастозаңданудың сәйкессіздігімен байланысты. Будандардың компоненттері ретінде пайдаланылатын қант қызылшасы линияларының генетикалық біртектілігін құру және қолдау тиімділігін арттыру үшін “ҚазЕжӨШҒЗИ” ЖШС қант қызылшасының селекциялық процесіне ДНК – маркерлерді енгізу бойынша жұмыстар бастады. Зерттеу материалы ретінде ҚазЕжӨШҒЗИ топтамасындағы қант қызылшасының 20 линиясы пайдаланылды. Зерттеудің мақсаты SSR-маркерлерін қолдана отырып, шығу тегі және пloidтылық деңгейі әр түрлі қант қызылшасының линияларының генетикалық біртектілігін зерттеу. Жұмыста 3 SSR маркері – Bvv 21, Bvv53, Bvv 155 қолданылды. Біртектілікті бағалау нәтижелері бойынша зерттелген линиялардың көпшілігі орташа деңгейдегі біртектілікпен сипатталғандығы анықталды. Үш маркер бойынша линиялар ішіндегі жекелеген жеке өсімдіктердің ең үлкен біртектілігі ЦАҰ ЧС 1631 (Украина) линиясында, МС-7, МС-1949 (Ресей) линиялары екі маркер бойынша анықталды.

**Түйін сөздер:** SSR-маркер, қант қызылшасы, буданның компоненттері, генетикалық біртектілік, ПЦР-талдау.

### Сокращения и обозначения

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота, КазНИИЗиР – Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, ЦМС – цитоплазматическая мужская стерильность, ФАО – Продовольственная и сельскохозяйственная организация, КН МОН РК – Комитет науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, PIC – Индекс информативности маркеров, ПЦР – Полимеразная цепная реакция, SSR – Simple Sequence Repeats, RAPD – Relative Afferent Pupillary Defect, AFLP – Amplified fragment length polymorphism, RFLP – Restriction fragment length polymorphism, ISSR – Inter Simple Sequence Repeats

### Введение

Сахарная свекла (*Beta vulgaris* L.) – экономически важная культура в зонах умеренного климата, на которую приходится примерно 25% мирового производства сахара. Площадь возделывания сахарной свеклы по данным ФАО составила в 2019 году 4,6 млн. га, а производство 278,4 млн. тонн [1]. Помимо производства сахара, сахарная промышленность ежегодно производит большое количество побочных продуктов, таких как патока и жом, которые широко

используются в качестве кормовых добавок для домашнего скота [2, 3]. Благодаря высокому содержанию легко ферментируемых сахаров, жом и меласса обладают большим потенциалом для энергоэффективного производства биоэтанола [4, 5]. Они также представляют важное сырье для алкогольной, дрожжевой и фармацевтической промышленности.

Сахарная свекла – это перекрестноопыляемая культура, селекция которой основана на скрещивании диплоидных цитоплазматических линий с мужской стерильностью (ЦМС) и тетраплоидных или все чаще диплоидных линий опылителей, что приводит к получению триплоидных или диплоидных гибридов соответственно [6]. Генетическая база коммерческих гибридов сахарной свеклы в течение некоторого времени была узкой, в основном из-за многократного использования в программах селекции в качестве родительских форм ограниченного числа генотипов [7]. Это вызывает инбридинговую депрессию и снижение генетической изменчивости [8]. Кроме этого проблемой в селекции сахарной свеклы является то, что родительские линии могут являться не однородными и представлять собой смеси генотипов, соответственно и гибриды F<sub>1</sub> будут состоять из смесей растений из различных родительских комбинаций. Это приводит к некоторым труд-

ностям при испытании и регистрации гибридов сахарной свеклы [9].

Оценка и характеристика зародышевой плазмы – это первоочередная задача, которая позволяет сократить трудоемкость и затратность подбора подходящих родительских линий и ускорения генетического улучшения. Следовательно, лучшее понимание генетической изменчивости внутри и между популяциями, используемыми в качестве компонентов гибридов, а также их взаимоотношений, важно для эффективного отбора гибридных скрещиваний и дальнейшего совершенствования программ селекции [10]. Для этого наиболее подходящими признаны методы, основанные на анализе молекулярных маркеров [11, 12].

По литературным данным, для генетического анализа сахарной свеклы были использованы различные типы маркеров на основе ДНК, включая полиморфизм длины рестриционных фрагментов (RFLP) [13,14], полиморфизм длины амплифицированных фрагментов (AFLP) [15,16], случайно амплифицированные полиморфные ДНК [17], [18], межпростой повтор последовательности (ISSR) [14], однонуклеотидный полиморфизм [19, 20] и простые повторы последовательности (SSR) [9, 21].

Среди множества молекулярных маркеров SSR-маркеры нашли широкое применение благодаря их высокой воспроизводимости, гипервариабельности, мультиаллелизму, кодоминантному наследованию, обширному охвату генома, хромосомно-специфическому расположению [22] и простому автоматическому обнаружению с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). SSR-маркеры были использованы для оценки генетического разнообразия зародышевой плазмы сахарной [23, 24, 25, 26].

В Казахстане селекция сахарной свеклы по полной схеме селекционного процесса ведется в ТОО «Казахский НИИ земледелия и растениеводства». В настоящее время на территории РК допущено к использованию 8 гибридов сахарной свеклы селекции КазНИИЗиР, однако применение ДНК-маркеров в селекционном процессе, семеноводстве для оценки чистоты линий и генетического разнообразия компонентов скрещивания почти не проводится. Опубликована лишь единичная работа по оценке полиморфизма образцов сахарной свеклы с использованием RAPD маркеров [27]. В настоящее время в рамках проектов гранта КН МОН РК начаты работы по внедрению ДНК-маркеров в селекционный процесс сахарной свеклы ТОО «КазНИИЗиР».

В данной экспериментальной работе была поставлена цель по изучению генетической однородности линейного материала сахарной свеклы различного происхождения, уровня пloidности с использованием SSR-маркеров.

### Материал и методика исследований

**Материал исследований.** Материалом исследований служили 20 линий, используемых в качестве компонентов гибридов коллекции КазНИИЗиР (таблица 1). Материал коллекции представлен образцами, полученными из ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова» (г. Рамонь, Россия), ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики сибирского отделения российской академии наук», Института биоэнергетических культур и сахарной свеклы (г. Киев, Украина) в различные годы и образцы селекции КазНИИЗиР.

**Методы исследований.** Выделение геномной ДНК проводили из проростков сахарной свеклы в фазу первой пары настоящих листьев с использованием методики *DeLaporta S.L.* [28]. ДНК линий были представлены 20 индивидуальными растениями. Качество выделенной ДНК определяли методом электрофореза в 1 %-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Измерение концентрации ДНК проводили спектрофотометрическим методом, который основан на отношении длин волн при максимальной фотометрической абсорбции нуклеиновых кислот при 260 нм и 280 нм на приборе Jenway (Англия). Для оценки генетического разнообразия использован метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР-анализ проводили в амплификаторе «Eppendorf Mastercycler pro» (Германия). В работе использовали 3 SSR маркера – Bvv 21, Bvv53, Bvv 155 согласно публикации Smulders M.J., 2010 (синтез ООО «Биолабмикс», Россия, г. Новосибирск)

Реакционная среда для ПЦР-амплификации состояла из 15 мкл: 2 мкл (50 ng) исследуемой ДНК, 1,5 мкл реакционный буфер (10 × *TagBuffer* с KCl), 0,7 мкл dNTP (4 mM) смесь четырех dNTP (ООО «Синтол», г. Москва, Россия), 0,5 мкл БСА («Thermo Scientific», США), по 0,5 мкл каждого праймера («Биосан», г. Новосибирск, Россия), 2 мкл (25 mM) MgCl<sub>2</sub>, 0,15 мкл (5u/μl) *Taq*-полимеразы (ООО «Биосан», г. Новосибирск, Россия), 7,15 мкл вода стерильная.

Таблица 1 – Перечень линий сахарной свеклы

№	Номер каталога	Наименование	Гибрид/линия	Плоидность	Происхождение
1	2223	СОАН-5	линия	диплоид	Россия-Казахстан
2	2262	СОАН-22	линия	диплоид	Россия-Казахстан
3	2128	СОАН-98	линия	диплоид	Россия-Казахстан
4	2094	Ян-40	линия	диплоид	Польша – Казахстан
5	2217	Вп-24	линия	диплоид	Украина-Казахстан
6	2144	Вп-44	линия	диплоид	Украина-Казахстан
7	2182	2698/1-9	линия	диплоид	Казахстан
8	2210	2698/1-9РЦ	линия	диплоид	Казахстан
9	2221	SEM	линия	диплоид	Россия-Казахстан
10	2285	Ирис A <sub>0</sub>	апозиготическая линия	триплоид	Казахстан
11	2241	Ирис A2		триплоид	Казахстан
12	2286	Ленора A <sub>0</sub>	апозиготическая линия	триплоид	Казахстан
13	2240	Ленора A <sub>1</sub>		триплоид	Казахстан
14	2291	ЧС 97	линия	диплоид	Украина
15	2333	ЧС 1611	линия	диплоид	Украина
16	2334	ЧС 1631	линия	диплоид	Украина
17	2335	МС – 7	линия	диплоид	Россия
18	2336	МС- 1949	линия	диплоид	Россия
19	2337	0-тип	линия	диплоид	Казахстан
20	2338	Тетраплоид СЦ	линия	тетраплоид	Казахстан

Для проведения полимеразной цепной реакции применяли следующие температурные режимы: 94°C-3мин, 30 циклов (94°C-30с, 53°C- 30 с., 72°C- 60 с), 72°C-3 мин.

Разделение продуктов амплификации проводили в 8 %-ом полиакриламидном геле («Merck», Германия) окрашенных бромистым этидием. Визуализацию продуктов амплификации проводили в геледокументирующей камере (Quantum ST 4, Франция). В качестве маркеров молекулярных весов использовали ДНК маркер «Step50» plus (ООО «Биолабмикс», Россия, г. Новосибирск),

Идентификацию размеров ПЦР фрагментов проводили в геледокументирующей системе Quantum-ST4 (Франция).

Индекс информативности маркеров PIC (*polymorphism information content*) вычисляли по формуле (Rold'an-Ruiz I. et. al., 2000):  $PIC_i = 2f_i(1 - f_i)$ , где PIC<sub>i</sub> – полиморфное информационное содержание маркера «i», f<sub>i</sub> – частота амплифицированного аллеля (полоса присутствует) и (1 – f<sub>i</sub>) частота нулевого аллеля (полоса отсутствует)».

## Результаты исследований и обсуждение

При получении гетерозисных гибридов селекционеры используют константные (гомозиготные) исходные линии с высокой комбинационной способностью. Выровненные линии сахарной свёклы получают путём многократно повторяющегося отбора самоопылённых линий [29, 30]. Для оценки генетической однородности 20 линий сахарной свеклы, используемых в качестве компонентов гибридов были изучены 20 отдельных индивидуальных растения по 3 SSR – маркерам (Bvv 21, Bvv53, Bvv 155).

По изучаемым SSR-маркерам выявлен полиморфизм микросателлитных локусов линий сахарной свеклы. Наибольшее количество аллелей (4) было детектировано у маркера Bvv 53 (рисунок 1). Значение PIC по маркерам составило: Bvv21 – 0,30%, Bvv53 – 0,23%, Bvv155 – 0,20%.

Анализ ДНК спектров в разрезе индивидуальных растений показал, что изучаемые линии сахарной свеклы не достаточно однородны (таблица 2). Гетерогенность по всем трем мар-

керам зафиксирована по таким образцам как О-тип, Вп-24, ЯН-40, СОАН-98, Ирис А<sub>0</sub> (рисунок 2а). Это видно, связано с трудностями ведения селекции сахарной свеклы как перекрестно-опыляемой культуры и необходимости проведения постоянного контроля за чистотой получения самофертильных линий – опылителей, закрепителей стерильности и поддержания ЦМС – форм. Генетическая неоднородность и отличия отдельных индивидуальных растений внутри сортов и линий сахарной свеклы так же были отмечены в исследованиях таких авторов как Riek J. с соавт, по оценке сахарной свеклы по различимости, однородности стабильности с помощью данных AFLP [31], Федуловой Т.П.

и с соавт, в работе по возможности применения SSR-маркеров для оценки однородности образцов сахарной свеклы [32], Шилова И.А. по оценке МС-линий, линий О-типа, линий-опылителей с использованием микросателлитных маркеров [33]. Отсутствие генетической однородности и выровненности среди линий сахарной свеклы, используемой в качестве компонентов гибридов приводит к получению не однородных гибридов F<sub>1</sub>. Неоднородность коммерческих гибридов является проблемой, не позволяющей пройти данным гибридам тестирование на отличимость, однородность и стабильность (DUS – Distinctness, Uniformity and Stability) [31].

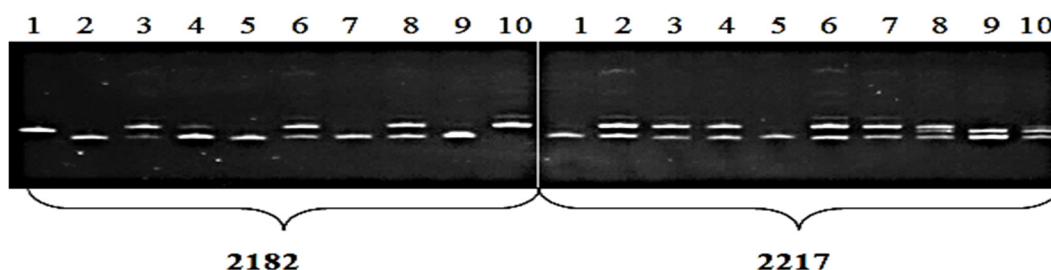


Рисунок 1 – Электрофореграммы линий сахарной свеклы по SSR-маркеру BvV53

Таблица 2 – Результаты оценки линии сахарной свеклы на однородность с использованием SSR маркеров

№	Наименование	BvV21		BvV53		BvV155	
		Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей	Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей	Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей
1	2698/1-9	250, 285	70/30	185, 216, 185/216, 216/250	40/10/40/10	250, 298, 200/298, 250/298	10/40/10/40
2	Вп-24	250, 285, 250/285	30/30/40	185, 185/200, 185/200/216, 185/216/250	20/20/10/50	250, 298, 250/298	10/60/30
3	О-тип	250, 285, 250/285	20/50/30	185, 216, 185/200, 185/250, 200/216	50/10/20/10/10	250, 298, 200/298, 250/298	10/60/10/20
4	Ленора А <sub>0</sub>	250, 285	20/80	185, 185/200, 185/250	70/20/10	298	100
5	Ирис А <sub>0</sub>	250, 285	80/20	185, 200, 185/200	50/10/40	250, 298, 200/298, 250/298	10/50/10/30
6	Тетраплоид СЦ	250, 285	80/20	185, 185/200, 185/216, 200/216	60/10/20/10	250, 298, 200/298, 250/298	20/60/10/10
7	Ирис А <sub>2</sub>	250, 285	20/80	185, 185/200, 185/250, 200/250	40/30/20/10	298, 250/298	90/10
8	СОАН-22	250, 285	50/50	185, 185/216	80/20	298	100



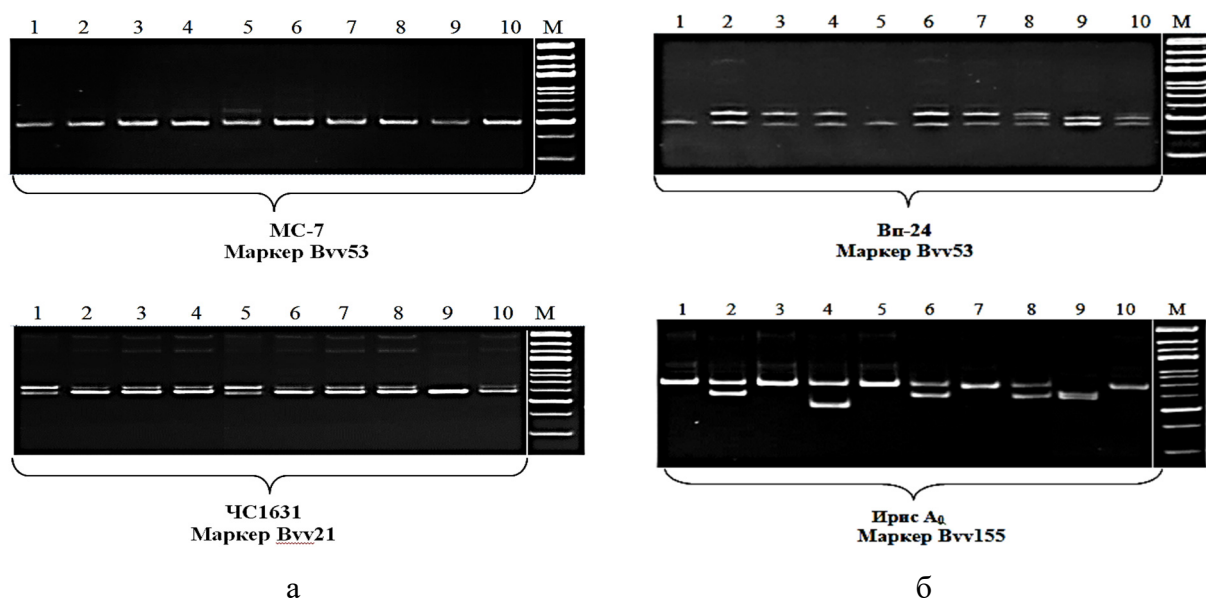
№	Наименование	Bvv21		Bvv53		Bvv155	
		Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей	Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей	Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей
9	Ленора A <sub>1</sub>	250, 285, 250/400	40/40/20	185, 185/200, 185/216	60/10/20	298, 200/298, 250/298	70/10/20
10	СОАН-98	250, 285, 250/285	20/50/30	185, 200, 216, 185/250	50/30/10/10	298, 200/250, 250/298	70/10/20
11	Ян-40	250, 285, 250/285	10/20/70	185, 200, 185/200, 185/216	20/40/20/20	298, 250/298	70/30
12	Вп-44	285, 250/285	70/30	185	100	298, 200/298, 200/250/298, 250/298	40/10/20/30
13	МС-7	250, 285, 250/285	10/80/10	185	100	298	100
14	2698/1-9РЦ	250, 285, 250/285	20/20/60	185	100	200, 298, 200/298, 250/298	10/60/10/20
15	СОАН-5	250, 285, 250/285	10/40/50	185/200	100	298, 250/298	80/20
16	SEM	250, 285, 250/285	20/50/30	185/200	100	298, 250/298	40/60
17	ЧС-1611	250, 285, 250/285	20/10/70	185/200	100	298, 250/298	20/80
18	ЧС-1631	250/285	100	185/200	100	298	100
19	ЧС-97	285, 250/285	50/50	185/200	100	298, 250/298	30/70
20	МС-1949	250, 285, 250/285	30/60/10	185	100	298	100

Наибольшая однородность отдельных индивидуальных растений внутри линии по трем маркерам (100%) была отмечена по ЦМС линии ЧС-1631 (Украина), по двум маркерам у линий МС-7, МС-1949 (Россия), рисунок 2а, таблица 2. Однородность таких ЦМС-линий сахарной свеклы достигается множественными возвратными скрещиваниями с линиями О-типа. Так же достаточно высокую однородность показали апозиготическая линия Ленора A<sub>0</sub> по трем маркерам (70-100%), ВП-44 по трем маркерам 60-100%, СОАН-22 по двум маркерам (80-100%), таблица 2.

Важность и надежность использование молекулярных маркеров для оценки однородности и стабильности генотипов отмечается многими исследователями [34, 35, 36, 37]. Генетическая характеристика с помощью молекулярных маркеров является воспроизводимым инструментом идентификации в отличие от морфологической. Известно, что некоторые

морфологические маркеры не дают четких результатов при изменении условий окружающей среды, поэтому их применение является не достаточным [387, 398].

В связи с необходимостью получения однородных гибридов сахарной свеклы использование ДНК-маркеров в гибридной селекции должно стать неотъемлемой частью селекционного процесса. Это широко практикуется в крупных селекционных центрах по созданию гибридов сахарной свеклы на ЦМС основе. Однако их использование в отечественных селекционных программах ограничивается низким финансированием. ЦМС-формы, выделенные в наших исследованиях как чистые линии (ЧС-1631, МС-7, МС-1949) должны поддерживаться в чистоте. Для линий-опылителей, линий стабилизаторов однородности, показавших гетерогенность требуется тщательная очистка и браковка с использованием морфологических и ДНК – маркеров.



а – линии МС-7, ЧС1631, показавшие однородность; б – линии ВП-24, Ирис А0, показавшие гетерогенность

**Рисунок 2** – Результаты оценки однородности линий сахарной свеклы с использованием SSR-маркеров

Большинство исследований по использованию ДНК-маркеров в селекционном процессе направлены на оценку генетического разнообразия, отдаленности или близости линий с целью подбора родительских пар для скрещивания и получения гетерозисного эффекта [23, 26, 33, 40]. В наших исследованиях в связи с неоднородностью линейного материала кластеризация полученных результатов не была произведена.

### Заключение

В результате генетического анализа 20 линий сахарной свеклы высокая степень однородности выявлена у 3 –х ЦМС линий (ЧС-1631, МС-7, МС-1949), полученных из Института биоэнергетических культур и сахарной свеклы (г. Киев, Украина) и ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова» (г. Рамонь, Россия). Данные линии рекомендуются как выровненные для использования в качестве материнских форм при создании новых гибридов в отечественных программах селекции.

Достаточно высокую однородность в пределах 60-100% показали линии Ленора А<sub>0</sub>, ВП-44 и СОАН-22.

60% проанализированных линий сахарной свеклы характеризовались средней и низкой степенью однородности.

Использование SSR-маркеров позволяет давать генетическую характеристику каждой линии, обеспечивает оценку генетической выравненности и однородности. Для линий-опылителей, линий стабилизаторов однородности, показавших гетерогенность рекомендуется дополнительная очистка с использованием морфологических и ДНК-маркеров. При поддержании генетической чистоты самоопыленных линий сахарной свеклы необходимо введение контроля с использованием ДНК-маркеров.

### Конфликт интересов

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

### Финансирование

Исследования выполнены в рамках бюджетной программы 217 Комитета науки МОН РК по проекту ИРН АР08956877 «Пополнение, обогащение генофонда сахарной свеклы (*Beta vulgaris*) и изучение его генетического разнообразия с использованием молекулярных маркеров».

### Литература

- 1 Официальный сайт Корпоративной статистической базы данных Продовольственной и сельскохозяйственной организации ФАО <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>.
- 2 Olmos J.C., Hansen Zúñiga ME. Enzymatic depolymerization of sugar beet pulp, production and characterization of pectin and pectic-oligosaccharides as a potential source for functional carbohydrates // *Chem Eng J.* – 2012. – Vol. 192. – P. 29–36. Doi.org/10.1016/j.cej.2012.03.085.
- 3 Kracher D., Oros D., Yao W., Preims M., Rezić I., Haltrich D., et al. Fungal secretomes enhance sugar beet pulp hydrolysis // *Biotechnol J.* – 2014. – Vol. 9. – P. 483–92. Doi.org/10.1002/biot.201300214.
- 4 Rodriguez L.A., Toro M.E., Vazquez F., Correa-Daner M.L., Gouiric S.C., Vallejo MD. Bioethanol production from grape and sugar beet pomaces by solid-state fermentation // *Int J Hydrogen Energy.* – 2010. – Vol. 35. – P. 5914–7. Doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.12.112
- 5 Maung T.A., Gustafson C.R. The economic feasibility of sugar beet biofuel production in central North Dakota // *Biomass Bioenergy.* – 2011. – Vol. 35. – P. 3737–47. Doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.05.022.
- 6 Fenart S., Arnaud J.F., De Cauwer I., Cuguen J. Nuclear and cytoplasmic genetic diversity in weed beet and sugar beet accessions compared to wild relatives: New insights into the genetic relationships within the *Beta vulgaris* complex species // *Theor Appl Genet.* – 2008. – Vol. 116. – P. 1063–1077.
- 7 McGrath M., Derrico A., Yu Y. Genetic diversity in selected, historical US sugarbeet germplasm and *Beta vulgaris* ssp. *Martima* // *Theor Appl Genet.* – 1999. – Vol. 98. – P. 968–976. Doi.org/10.1007/s001220051157.
- 8 Geidel H., Weber W.E., Mechelke W., Haufe W. Selection for sugar yield in sugar beet, *Beta vulgaris*, using different selection indices // *Plant Breed.* – 2000. Vol. 119. – P. 188–90. Doi.org/10.1046/j.1439-0523.2000.00476.x.
- 9 Smulders M.J., Esselink G.D., Everaert I., De Riek J., Vosman B. Characterisation of sugar beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) varieties using microsatellite markers // *BMC Genet.* – 2010. – Vol. 11. – P. 41–52 Doi.org/10.1186/1471-2156-11-41
- 10 You Q., Pan Y.B., Xu L.P., Gao S.W., Wang Q.N., Su Y.C., et al. Genetic diversity analysis of sugarcane germplasm based on fluorescence-labeled simple sequence repeat markers and a capillary electrophoresis-based genotyping platform // *Sugar Tech.* – 2016. – Vol. 18. – P. 380–90. Doi.org/10.1007/s12355-015-0395-9.
- 11 Budak H., Shearman R.C., Gulsen O., Dweikat I. Understanding ploidy complex and geographic origin of the *Buchloe dactyloides* genome using cytoplasmic and nuclear marker systems // *Theor Appl Genet.* – 2005. – Vol. 111. – P.545–552 Doi.org/10.1007/s00122-005-0083-3.
- 12 Akpınar B.A., Lucas S., Budak H. A large-scale chromosome-specific SNP discovery Guideline // *Funct Integr Genomics.* – 2017. – Vol.17. – P. 97–105. Doi.org/10.1007/s10142-016-0536-6.
- 13 Ghasemi A.R., Golparvar A.R., Isfahani M.N. Analysis of genetic diversity of sugar beet genotypes using random amplified polymorphic DNA marker // *Genetika.* – 2014. – Vol. 46, Issue 3. – P. 975–984 Doi.org/10.2298/GENSR1403975G.
- 14 Izzatullayeva Y., Akparov Z., Babayeva S., Ojaghi J., Abbasov M. Efficiency of using RAPD and ISSR markers in evaluation of genetic diversity in sugar beet // *Turkish Journal of Biology.* – 2014. – Vol. 38. - P. 429–438. doi:10.3906/biy-1312-35
- 15 Schondelmaier J., Steinrücken G., Jung G. Integration of AFLP Markers into a linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // *Plant Breed.* – 1996. – Vol. 115. – P. 231–7. Doi.org/10.1111/j.1439-0523.1996.tb00909.x.
- 16 McGrath M., Trebbi D., Fenwick A., Panella L., Schulz B., Laurent V., et al. An open-source first-generation molecular genetic map from a sugar beet × table beet cross and its extension to physical mapping // *Crop Sci* – 2007. – Vol. 47. – P. 27–44. Doi.org/10.2135/cropsci2006-05-0339tpg.
- 17 Uphoff H., Wricke G. A genetic map of sugar beet (*Beta vulgaris*) based on RAPD markers // *Plant Breed.* – 1995. – Vol. 114. – P.355–357. Doi.org/10.1111/j.1439-0523.1995.tb01249.x.
- 18 Nagl N., Taški-Ajduković K., Popović A., Čurčić Ž., Danojević D., Kovačev L. Estimation of genetic variation among related sugar beet genotypes by using RAPD // *Genet Belgrade.* – 2011. – Vol. 43. – P. 575–582 Doi.org/10.2298/GENSR1103575N.
- 19 Schneider K., Kulosa D., Rosleff-Soerensen T., Moehring S., Heine M., Durstewitz G., et al. Analysis of DNA polymorphisms in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and development of an SNP-based map of expressed genes // *Theor Appl Genet.* – 2007. – Vol.115. – P. 601–615. Doi.org/10.1007/s00122-007-0591-4.
- 20 Stevanato P., Broccanello C., Biscarini F., Del Corvo M., Sablok G., Panella L., et al. Highthroughput RAD-SNP genotyping for characterization of sugar beet genotypes // *Plant Mol Biol Report.* – 2014. – Vol. 31. – P. 691–696. Doi.org/10.1007/s11105-013-0685-x.
- 21 Laurent V., Devaux P., Thiel T., Viard F., Mielordt S., Touzet P., et al. Comparative effectiveness of sugar beet microsatellite markers isolated from genomic libraries and GenBank ESTs to map the sugar beet genome // *Theor Appl Genet.* – 2007. – Vol. 115. – P. 793–805. Doi.org/10.1007/s00122-007-0609-y.
- 22 Agarwal M., Shrivastava N., Padh H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences // *Plant Cell Rep.* – 2008. – Vol.27. – P.617–631. Doi.org/10.1007/s00299-008-0507-z.
- 23 Li J., Schulz B., Stich B. Population structure and genetic diversity in elite sugar beet germplasm investigated with SSR markers // *Euphytica.* – 2010. – Vol.175. – P. 35–42. Doi.org/10.1007/s10681-010-0161-8.
- 24 Simko I., Eujayl I., Hintum T.J.L. Empirical evaluation of DArT, SNP, and SSR marker-systems for genotyping, clustering, and assigning sugar beet hybrid varieties into population // *Plant Sci.* – 2012. – Vol. 184. – P.54–62. Doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.12.009.
- 25 Abbasi Z., Arzani A., Majidi M.M. Evaluation of genetic diversity of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) crossing parents using agro-morphological traits and molecular markers // *J Agric Sci Technol.* – 2014. – Vol.16. – P.1397–1411.

- 26 Налбалдян А.А., Хуссейн А.С., Федулова Т.П., Черепухина И.В., Крюкова Т.И., Руденко Т.С., Михеева Н.Р., Мотсеенко А.В. Дифференциация сортообразцов сахарной свеклы по SSR-маркерам для создания перспективных гибридов // *Российская сельскохозяйственная наука*. – 2020. – №4. – С. 18-21 Doi: 10.31857/S2500262720040043.
- 27 Абескова А.М., Коньсбеков К.Т., Ержебаева Р.С., Бастаубаева Ш.О., Мукин К.Б., Азимбек Н.И. Изучение полиморфизма у гибридов и линий сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) с помощью RAPD – праймеров // *Сахарная свекла*. – 2017. – №9. – С.32-38.
- 28 Delaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA miniprep. Version II // *Plant Molecular Biology Reporter*. – 1983. – Vol. 4. – P. 19-21.
- 29 Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П., Колесникова Е.О. Ускоренное получение новых гомозиготных линий сахарной свёклы (*B. vulgaris* L.) // *Сахар*. – 2020. – № 2. – С. 30–32.
- 30 Мищенко В.Н., Логвинов В.А., Логвинов А.В., Караева Н.В., Корсун Р.Н., Райлян Р.Н. Теоретические и практические аспекты использования цитоплазматической мужской стерильности сахарной свёклы // *Сахарная свёкла*. – 2016. – № 1. – С. 16–19.
- 31 Riek J., Calsyn E., Everaert I., Bockstaele E. V. & M. De Loose AFLP based alternatives for the assessment of Distinctness, Uniformity and Stability of sugar beet varieties // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2001. – Vol. 103. – P.1254–1265 Doi.org/10.1007/s001220100710.
- 32 Федулова Т.П., Федорин Д.Н., Козловская В.Ф. ДНК – технологии в селекции сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.): современное состояние и перспективы развития // *Сахарная свекла*. – 2015. – №10. – С.11-14.
- 33 Шилов И.А., Анискина Ю.В., Шалаева Т.А., Колобова О.С., Велишаева Н.С., Мищенко В.Н., Логинов А.В. Создание современных гибридов сахарной свеклы с применением микросателлитного анализа // *Сахар*. – 2020. – №8. – С.27-31 Doi.org/10.24411/2413-5518-2020-10804.
- 34 Kwon Y.Sh., Lee J.M., Yi G.B., Yi S.I., Kim K.M., Soh E.H., Bae K.M., Park E.K., Song I.H., Kim B.D. Use of SSR Markers to Complement Tests of Distinctness, Uniformity, and Stability (DUS) of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Varieties // *Mol. Cells*. – 2005. – Vol. 19, No. 3. – P. 1-8.
- 35 He B., Geng R., Cheng L., Yang X., Ge H., Ren M. Genetic diversity and fingerprinting of 33 standard flue-cured tobacco varieties for use in distinctness, uniformity, and stability testing // *BMC Plant Biol*. – 2020. – Vol.20. – P.378. Doi.org/10.1186/s12870-020-02596-w
- 36 Wang Y.P., Li H.Y., Shen Q., Zhang J.H., Wang P., Wu Y. Molecular markers associated with rice (*Oryza sativa* L.) traits in DUS testing // *Jiangsu J Agric Sci*. – 2013. – Vol.29. – P. 231–239.
- 37 Cooke R., Bredemeijer G., Ganal M., Peeters R., Isaac P., Rendell S., Jackson J., Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Areshchenkova T., Dijcks M., Laborie D., Bertrand L. & Vosman B. Assessment of the uniformity of wheat and tomato varieties at DNA microsatellite loci // *Euphytica*. – 2003. – Vol.32. – P.331–341 Doi.org/10.1023/A:1025046919570.
- 38 Mohammadian R., Moghaddam M., Rahimian H., Sadeghian S.Y. Effect of Early Season Drought Stress on Growth Characteristics of Sugar Beet Genotypes // *Turk J Agric For*. – 2005. – Vol. 29. – P. 357-368.
- 39 Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П. Изменчивость морфологических и биохимических признаков межвидовых гибридов свеклы // *Сахарная свекла*. – 2010. – №1. – С.18-21.
- 40 Taški-Ajduković K., Nagl N., Čurčić Ž, Miroslav Zorić M. Estimation of genetic diversity and relationship in sugar beet polinators based on SSR markers // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 2017. – Vol.27. – P.1-7. Doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.02.001.

## References

- 1 Abbasi Z., Arzani A., Majidi M.M. (2014) Evaluation of genetic diversity of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) crossing parents using agro-morphological traits and molecular markers. *J Agric Sci Technol.*, vol. 146, pp. 1397-1411.
- 2 Abekova A.M., Konysbekov K.T., Erzhebaeva R.S., Bастаубаева Sh.O., Mukin K.B., Azimbek N.I. (2017) Izuchenie-polimorfizma u gibridov i linij sakharnoj svekly (*Beta vulgaris*) s pomoshchyu RAPD-prajmerov [Study of polymorphism in hybrids and lines of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) using RAPD primers] *Sakharnaya svekla*, no.9, pp. 32-38.
- 3 Agarwal M., Shrivastava N., Padh H. (2008) Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep.*, vol. 27, pp. 617-631.
- 4 Akpinar B.A., Lucas S., Budak H. (2017) A large-scale chromosome-specific SNP discovery Guideline. *Funct Integr Genomics*, vol.17, pp. 97-105.
- 5 Budak H., Shearman R.C., Gulsen O., Dweikat I. (2005) Understanding ploidy complex and geographic origin of the *Buchloe dactyloides* genome using cytoplasmic and nuclear marker systems. *Theor Appl Genet.*, vol.111, pp.545-552.
- 6 Cooke R., Bredemeijer G., Ganal M., Peeters R., Isaac P., Rendell S., Jackson J., Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Areshchenkova T., Dijcks M., Laborie D., Bertrand L. & Vosman B. (2003) Assessment of the uniformity of wheat and tomato varieties at DNA microsatellite loci. *Euphytica*, vol.32, pp.331–341 Doi.org/10.1023/A:1025046919570.
- 7 Delaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. (1983) A plant DNA miniprep. Version II, *Plant Molecular Biology Reporter*, vol. 4, pp. 19-21.
- 8 Fedulova T.P., Fedorin D.N., Kozlovskaya V. F. (2015) DNK tekhnologii v selekci sakharnoj svekly (*Beta vulgaris* L) sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya [DNA technologies in the selection of sugar beet (*Beta vulgaris* L.): current state and prospects of development]. *Sakharnaya svekly*, no.10, pp. 11-14

- 9 Fenart S., Arnaud J.F., De Cauwer I., Cuguen J. (2008) Nuclear and cytoplasmic genetic diversity in weed beet and sugar beet accessions compared to wild relatives: New insights into the genetic relationships within the *Beta vulgaris* complex species. *Theor Appl Genet.*, vol. 116, pp. 1063-1077.
- 10 Geidel H., Weber W.E., Mechelke W., Haufe W. (2000) Selection for sugar yield in sugar beet, *Beta vulgaris*, using different selection indices. *Plant Breed.*, no. 119, pp. 188-90.
- 11 Ghasemi A.R., Golparvar A.R., Isfahani M.N. (2014) Analysis of genetic diversity of sugar beet genotypes using random amplified polymorphic DNA marker. *Genetika*, vol.46, pp. 975-984.
- 12 He B., Geng R., Cheng L., Yang X., Ge H., Ren M. (2020) Genetic diversity and fingerprinting of 33 standard flue-cured tobacco varieties for use in distinctness, uniformity, and stability testing. *BMC Plant Biol.*, vol.20, pp.378. Doi.org/10.1186/s12870-020-02596-w.
- 13 Izzatullayeva Y., Akparov Z., Babayeva S., Ojaghi J., Abbasov M. (2014) Efficiency of using RAPD and ISSR markers in evaluation of genetic diversity in sugar beet. *Turkish Journal of Biology*, vol.38, pp. 429-438.
- 14 Kracher D., Oros D., Yao W., Preims M., Rezić I., Haltrich D., et al. (2014) Fungal secretomes enhance sugar beet pulp hydrolysis. *Biotechnol J.*, vol. 9, pp. 483-92.
- 15 Kwon Y.Sh., Lee J.M., Yi G.B., Yi S.I., Kim K.M., Soh E.H., Bae K.M., Park E.K., Song I.H., Kim B.D. (2005) Use of SSR Markers to Complement Tests of Distinctiveness, Uniformity, and Stability (DUS) of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Varieties. *Mol. Cells*, vol. 19, No. 3, pp. 1-8.
- 16 Laurent V., Devaux P., Thiel T., Viard F., Mielordt S., Touzet P., et al. (2007) Comparative effectiveness of sugar beet microsatellite markers isolated from genomic libraries and GenBank ESTs to map the sugar beet genome. *Theor Appl Genet.*, vol. 115, pp. 793-805.
- 17 Li J., Schulz B., Stich B. (2010) Population structure and genetic diversity in elite sugar beet germplasm investigated with SSR markers. *Euphytica*, vol. 175, pp. 35-42.
- 18 Maung T.A., Gustafson C.R. (2011) The economic feasibility of sugar beet biofuel production in central North Dakota. *Biomass Bioenergy*, vol. 35, pp.3737-47.
- 19 McGrath M., Derrico A., Yu Y. (1999) Genetic diversity in selected, historical US sugarbeet germplasm and *Beta vulgaris* ssp. *Maritima*. *Theor Appl Genet.*, vol. 98, pp. 968-976.
- 20 McGrath M., Trebbi D., Fenwick A., Panella L., Schulz B., Laurent V., et al. (2007) An open-source first-generation molecular genetic map from a sugar beet × table beet cross and its extension to physical mapping. *Crop Sci.*, vol. 47, pp. 27-44.
- 21 Mishchenko V.N., Logvinov V.A., Logvinov A.V., Karaeva N.V., Korsun R.N., Rajlyan R.N. (2016) Teoreticheskie i prakticheskie aspekty ispolzovaniya citoplazmicheskoj muzhskoj sterilnosti sakharnoj svyokly [Theoretical and practical aspects of the use of cytoplasmic male sterility of sugar beet]. *Sakharnaya svyokla*, no.1, pp.16-19.
- 22 Mohammadian R., Moghaddam M., Rahimian H., Sadeghian S.Y. (2005) Effect of Early Season Drought Stress on Growth Characteristics of Sugar Beet Genotypes. *Turk J Agric For.*, vol. 29, pp. 357-368.
- 23 Nagl N., Taški-Ajduković K., Popović A., Čurčić Ž., Danojević D., Kovačev L. (2011) Estimation of genetic variation among related sugar beet genotypes by using RAPD. *Genet Belgrade.*, vol. 43, pp. 575-582.
- 24 Nalbaldyan A. A., Khussejn A.S., Fedulova T.F., Cherepukhina I.V., Kryukova T.I., Rudenko T.S., Mikheeva N.P., Motseenko A.V. (2020) Differenciaciya sortoobrazcov sakharnoi svyokly po SSR-markeram dlya sozdaniya perspektivnykh gibridov [Differentiation of sugar beet cultivars by SSR markers to create promising hybrids]. *Rossijskaya selskokhozyajstvennaya nauka*, no.4, pp. 18-21.
- 25 Oficialnyi sait korporativnoi statisticheskoi bazy dannykh prodovolstvennoi i selskokhozyaistvennoi organizacii FAO [Statistics of the food and agriculture organization of the United Nations FAO] <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>
- 26 Olmos J.C., Hansen Zúñiga M.E. (2012) Enzymatic depolymerization of sugar beet pulp, production and characterization of pectin and pectic-oligosaccharides as a potential source for functional carbohydrates. *Chem Eng J.*, vol. 192, pp. 29-36.
- 27 Riek J., Calsyn E., Everaert I., Bockstaele E. V., De Loose M. (2001) AFLP based alternatives for the assessment of Distinctness, Uniformity and Stability of sugar beet varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 103, pp. 1254-1265.
- 28 Rodriguez L.A., Toro M.E., Vazquez F., Correa-Daneri M.L., Gouiric S.C., Vallejo M.D. (2010) Bioethanol production from grape and sugar beet pomaces by solid-state fermentation. *Int J Hydrogen Energy*, no. 35, pp.5914-7.
- 29 Schneider K., Kulosa D., Rosleff-Soerensen T., Moehring S., Heine M., Durstewitz G., et al. (2007) Analysis of DNA polymorphisms in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and development of an SNP-based map of expressed genes. *Theor Appl Genet.*, vol. 115, pp. 601-615.
- 30 Schondelmaier J., Steinrücken G., Jung G. (1996) Integration of AFLP Markers into a linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Plant Breed.*, vol.115, pp. 231-7.
- 31 Shilov A.I., Aniskina Yu V., Shalaeva T.A., Kolobova O.S., Velishaeva N.S., Mishchenko V.N., Loginov A.V. (2020) Sozdanie sovremennykh gibridov sakharnoj svyokly s primeneniem mikrosatellitnogo analiza [Creation of modern sugar beet hybrids using microsatellite analysis]. *Sakhar*, no.8, pp. 27-31.
- 32 Simko I., Eujayl I., Hintum T.J.L. (2012) Empirical evaluation of DArT, SNP, and SSR marker-systems for genotyping, clustering, and assigning sugar beet hybrid varieties into population. *Plant Sci.*, vol. 184, pp. 54-62.
- 33 Smulders M.J., Esselink G.D., Everaert I., De Riek J., (2010) Vosman B. Characterisation of sugar beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) varieties using microsatellite markers. *BMC Genet.*, vol. 11, pp. 41-52.
- 34 Stevanato P., Broccanello C., Biscarini F., Del Corvo M., Sablok G., Panella L., et al. (2014) Highthroughput RAD-SNP genotyping for characterization of sugar beet genotypes. *Plant Mol Biol Report.*, vol. 31, pp. 691-696.

35 Taški-Ajduković K., Nagl N., Čurčić Ž, Miroslav Zorić M. (2017) Estimation of genetic diversity and relationship in sugar beet pollinators based on SSR markers. *Electronic Journal of Biotechnology*, vol.27, pp.1-7. Doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.02.001.

36 Uphoff H., Wricke G. (1995) A genetic map of sugar beet (*Beta vulgaris*) based on RAPD markers. *Plant Breed.*, vol. 114, pp. 355-357.

37 Vasilchenko E.N., Zhuzhhalova T.P. (2010) *Izmenchivost morfoloģičeskikh i biokhimičeskikh priznakov mezħvidovykh għbrĩdov svekly* [Variability of morphological and biochemical characteristics of interspecific beet hybrids]. *Sakharnaya svekla*, no.1, pp.18-21

38 Vasilchenko E.N., Zhuzhhalova T.P., Kolesnikova E.O. (2020) *Uuskorennoe poluchenie novykh gomozigotnykh linij sakharnoj svyokly (B. vulgaris L.)* [Accelerated production of new homozygous sugar beet lines (*B. vulgaris L.*)]. *Sakhar*, no.2, pp.30-32.

39 Wang Y.P., Li H.Y., Shen Q., Zhang J.H., Wang P., Wu Y. (2013) Molecular markers associated with rice (*Oryza sativa L.*) traits in DUS testing. *Jiangsu J Agric Sci*, vol. 29, pp. 231–239.

40 You Q., Pan Y.B., Xu L.P., Gao S.W., Wang Q.N., Su Y.C., et al. (2016) Genetic diversity analysis of sugarcane germplasm based on fluorescence-labeled simple sequence repeat markers and a capillary electrophoresis-based genotyping platform. *Sugar Tech.*, vol. 18, pp. 380-90.

**Б.Т. Байкара<sup>1,2\*</sup>** , **М.А. Садуакасова<sup>1</sup>** ,  
**А.С. Карабасова<sup>1</sup>** , **Ж.С. Жусупбеков<sup>1</sup>** ,  
**А.А. Султанов<sup>1</sup>** 

<sup>1</sup>Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: baikara.barshagul@gmail.com

## ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ГРИППА ДОМАШНЕЙ ПТИЦЫ

Мониторинг эпизоотической ситуации является основным элементом противоэпизоотических мероприятий по предупреждению появления и распространения гриппа птиц среди сельскохозяйственных птиц. Некоторые подтипы птичьего гриппа могут быть зоонозными и поэтому представляют серьезную угрозу для птицеводства Казахстана. Кроме того, есть риск заноса птичьего гриппа на территорию нашей страны из сопредельных регионов, граничащих с Казахстаном. Поэтому принятие мер по предупреждению заноса возбудителя указанной болезни в республику является актуальной задачей для ветеринарной службы страны по поддержанию благополучия среди птиц. Был проведен мониторинг птичьего гриппа в семи областях, которые расположены на пути перелетных птиц, и отобрано образцов крови от 624 кур из 11 птицефабрик и 9 личных подсобных хозяйств. Далее проведен ИФА на выявление антител к вирусу данной болезни и выявлено 9 положительных проб. Затем проведен ОТ-ПЦР с положительными образцами, но пробы показали отрицательный результат. Возможно, птицы переболели низкопатогенным гриппом птиц. Необходимо продолжить проведение ежегодного эпизоотологического мониторинга, а также совершенствовать санитарно-карантинные, противоэпизоотические и диагностические мероприятия против гриппа птиц.

**Ключевые слова:** птичий грипп, ИФА, ОТ-ПЦР, домашние куры, мониторинг.

**B.T. Baikara<sup>1,2\*</sup>**, **M.A. Saduakassova<sup>1</sup>**,  
**A.S. Karabasova<sup>1</sup>**, **Zh.S. Zhussupbekov<sup>1</sup>**, **A.A. Sultanov<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Kazakh Scientific Research Veterinary Institute, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: baikara.barshagul@gmail.com

### Epizootiological monitoring of poultry influenza

Surveillance the epizootic situation is the main element of anti-epizootic measures to prevent the emergence and spread of avian influenza among poultry. Some subtypes of avian influenza can be zoonotic and therefore pose a serious threat to the poultry industry in Kazakhstan. In addition, there is a risk of the introduction of bird flu into the territory of our country from adjacent regions bordering Kazakhstan. Therefore, taking measures to prevent the introduction of the causative agent of this disease into the republic is an urgent task for the country's veterinary service to maintain welfare among birds. Avian influenza was monitored in seven regions that are located on the path of migratory birds and blood samples were taken from 624 chickens from 11 poultry farms and 9 private subsidiary farms. Further, ELISA was carried out to detect antibodies to the virus of this disease and 9 positive samples were detected. Then RT-PCR was performed with positive samples, but the samples showed a negative result. The birds may have had low pathogenic avian influenza. It is necessary to continue the annual epizootic monitoring, as well as to improve the sanitary-quarantine, anti-epizootic and diagnostic measures against avian influenza.

**Key words:** avian influenza, ELISA, RT-PCR, domestic chickens, surveillance.

Б.Т. Байқара<sup>1,2\*</sup>, М.А. Садуақасова<sup>1</sup>,  
А.С. Карабасова<sup>1</sup>, Ж.С. Жусупбеков<sup>1</sup>, А.А. Султанов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринарлық институты, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

\*e-mail: baikara.barshagul@gmail.com

### Үй құсы тұмауының эпизоотологиялық мониторингі

Эпизоотикалық жағдайды бақылау бұл ауыл шаруашылық құстарының арасында құс тұмауының пайда болуы мен таралуын болдырмайтын эпизоотияға қарсы шаралардың негізгі элементі. Құс тұмауының кейбір түрлері зоонозды болуы мүмкін, сондықтан да ол Қазақстанның құс шаруашылығына үлкен қауіп төндіріп отыр. Сонымен қатар, құс тұмауының Қазақстанмен шекаралас жатқан іргелес мемлекеттерден біздің еліміздің аумағына ену қаупі бар. Сол себепті республикада осы аурудың қоздырғышын енгізуге жол бермеу үшін шаралар қабылдау елдің ветеринария қызметі үшін құстар арасында саулықты сақтаудың кезек күттірмейтін міндеті болып табылады. Жыл құстарының жолында орналасқан еліміздің жеті облысында құс тұмауына бақылау жүргізіліп, 11 құс фабрикасы мен 9 жеке қосалқы шаруашылықтың 624 тауығынан қан сынамалары алынды. Әрі қарай, осы аурудың вирусына антиденелерді анықтау үшін ИФТ жүргізіліп, 9 оң сынама анықталды. Содан кейін оң сынамалармен КТ-ПТР жүргізілді, бірақ сынамалар теріс нәтиже көрсетті. Құстар төменгі патогенді құс тұмауымен ауыруы мүмкін. Жыл сайынғы эпизоотикалық бақылауды жалғастыру керек, сонымен қатар санитарлық-карантиндік, эпизоотияға қарсы және құс тұмауына қарсы диагностикалық шараларды жетілдіру қажет.

**Түйін сөздер:** құс тұмауы, ИФТ, КТ-ПТР, үй құстары, мониторинг.

### Сокращения и обозначения

ВППГ – высокопатогенный птичий грипп, МЭБ – Международное эпизоотическое бюро, ЛПХ – личное подсобное хозяйство, ИФА – иммуноферментный анализ, ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота, РНК – рибонуклеиновая кислота, ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией, ТОО – товарищество с ограниченной ответственностью, АО – акционерное общество.

### Введение

Грипп птиц, вызываемый высокопатогенными популяциями возбудителя этой болезни, которые внутри вида подразделяются на множество серологических подтипов. Известных науке и практике в настоящий период являются подтиповые варианты вируса гриппа птиц с антигенной формулой H1N1, H5N1, H7N7, H9N2 и другие. Данные последних двух столетий показали опасность и для людей первых двух из них [1-4]. Грипп птиц – классическая чума птиц – острая инфекционная вирусная болезнь птиц, характеризующаяся поражением органов пищеварения, дыхания, высокой летальностью около 56% [5]. Также известны некоторые вирусы гриппа птиц, которые поражают некоторые виды млекопитающих, в том числе и людей [6, 7].

Гриппозную болезнь вызывают вирусы, относящиеся к роду *Influenza virus* таксономи-

ческого семейства *Orthomyxoviridae*. Вирусы гриппа делятся на родовые типы А, В и С. Представители приведенных типов дифференцируются между собой эпидемиологической и эпизоотологической значимостью. Вирусы гриппа типа А представляют наибольшую опасность для людей, животных, птицы [8]. Болезнь, вызываемая ими, распространяется в виде эпидемии и эпизоотии, а также пандемии и панзоотии. Болезнь проявляется в тяжелой форме с высокой смертностью. Возбудитель гриппа, относящийся к типу В, чаще поражает людей и только в отдельных случаях – животных. Грипп, вызываемый типом С вируса, регистрируется редко и вспышки заболевания характеризуются спорадическими случаями.

Вирусные болезни вызывают в организме птицы непоправимую патологию, приводящую к значительному снижению продуктивности и гибели заболевших [9]. Специфические средства терапии и эффективной санации организма от возбудителя этих болезней в практике ветеринарии отсутствуют. Единственным способом защиты птицы от перечисленных болезней являются предотвращение внедрения их возбудителей в организм восприимчивой птицы, которое можно сделать путем содержания птицы в закрытых изолированных от внешней среды условиях и создания иммунитета (невосприимчивости) у птицы против возбудителей с помощью вакцин. Однако, несмотря на существование указанных возможностей защиты от перечисленных воз-



будителей вирусных болезней, эпизоотическая ситуация среди птицы во многих странах мира, в том числе Республики Казахстан, остается напряженной, и время от времени возникают вспышки инфекционных вирусных болезней [10]. Появлению неблагополучной эпизоотической ситуации способствуют загрязнение корма возбудителями болезней, контакт домашних видов птицы с синантропными видами птицы, являющихся носителями возбудителей, и/или другие механические пути переноса возбудителей в места содержания птицы, а также отсутствие иммунитета или недостаточно напряженный иммунитет, создаваемый вакцинами [11, 12].

Мониторинг эпизоотической ситуации является основным элементом противоэпизоотических мероприятий по предупреждению появления и распространения гриппа птиц среди сельскохозяйственных птиц. Объем и методы мониторинга при гриппе птиц, мероприятия, проводимые для поддержания благополучия по этой болезни, в том числе диагностика, профилактика, борьба, должны удовлетворять требования Международного эпизоотического бюро (МЭБ) [13], прописанные в Кодексе наземных животных [14]. В связи с чем в задачах исследований были запланированы уточнение эпизоотической ситуации по гриппу птиц на территориях зон с помощью двух методов – серологический метод исследования, а именно иммуноферментный анализ, выявление антигенов с помощью соответствующих им антител и определение рисков в отношении этой болезни, молекулярно-генетическая тест-система для идентификации (дифференциального типирования) вируса гриппа птиц, представляющих эпизоотическую угрозу для территории Республики Казахстан, проверка диагностической специфичности и чувствительности молекулярно-генетической тест-системы для идентификации генетических линий вируса гриппа птиц.

Вспышки гриппа птиц среди диких птиц в РК были зарегистрированы в Мангистауской, Атырауской и Павлодарской областях в 2005 – 2017 годах [15-17]. Неблагополучие территории, согласно требованиям Санитарного кодекса наземных животных МЭБ, не дает возможности экспортировать птиц и продуктов птицеводства в зарубежные страны. И возможность экспорта животных и продуктов животноводства достигается только после признания территории или региона страны МЭБ свободной от болезней птиц.

Эпидемиология птичьего гриппа остается напряженной в мире. Вирусы птичьего гриппа

постоянно развиваются путем мутации и повторного ассортимента с появлением новых подтипов, оказывающих существенное влияние на здоровье и продуктивность животных. Некоторые подтипы птичьего гриппа могут быть зоонозными и поэтому представляют серьезную угрозу для птицеводства Казахстана [18]. Кроме того, есть риск заноса птичьего гриппа на территорию нашей страны из сопредельных регионов, граничащих с Казахстаном. В связи с чем необходимы данные об эпизоотическом состоянии сопредельных стран: Китай, Кыргызская Республика, Узбекская Республика, Монголия, Россия. В соответствии отчетами МЭБ с января по май 2020 года новые вспышки птичьего гриппа зарегистрированы в Китае (более 30 вспышек (H5N1, H5N2 и H5N5) среди домашней птицы и птиц, содержащихся в птицефабриках), в Ираке 1 новая вспышка среди домашней птицы (H5N8), Вьетнам сообщил о 5 новых вспышках среди домашней птицы (H5N1, H5N6). Продолжающиеся вспышки все еще присутствуют в Афганистане, Китае, Индии, Корее, на Филиппинах и во Вьетнаме среди домашней птицы (подтипы H5, H5N1, H5N2, H5N5, H5N6 и H7N9). В августе 2020 года Россия сообщила о 28 вспышках гриппа птиц (H5) среди домашних птиц и об 1 вспышке (H5) среди нептицеводческих хозяйств. Двадцать восемь текущих вспышек все еще присутствуют в России среди домашней птицы (H5) и 3 вспышки среди нептицеводческих (H5, H5N8) хозяйствах [19]. Наиболее вероятный путь распространения птичьего гриппа на территорию Казахстана проходит через Китай в Восточно-Казахстанскую и Алматинскую области и через Россию в северные регионы Казахстана.

17 сентября 2020 года заместитель председателя Комитета ветеринарного контроля и надзора Министерства сельского хозяйства Т.А. Кабдулданов сообщил о вспышке высокопатогенного гриппа птиц в семи районах Северо-Казахстанской области (Тимирязевском, Тайыншинском, Жамбылском, Кызылжарском, Шалакына, имени Габита Мусрепова, имени Магжана Жумабаева) с 9 по 16 сентября зарегистрирован падеж домашней птицы разных видов [20].

По данным отчетов МЭБ в период с 11 сентября до 1 октября 2020 года было зарегистрировано 44 новых очага высокопатогенного птичьего гриппа (ВППГ) среди домашней птицы в Азии и Европе с участием различных подтипов ВППГ, а именно H5N1, H5N5, H5N6, H5N8 и H5. В Европе было зарегистрировано 8 новых вспышек H5N8 и H5 среди личных подсобных хозяйств.

Кроме того, 155 действующих очагов ВППГ среди домашних и диких птиц в Европе, Азии и Африке охватывают различные подтипы, а именно H5, H5N1, H5N2, H5N5, H5N6, H5N8, H7N7 и H7N9 [21, 22].

За этот отчетный период действующие очаги гриппа птиц H5N1, H5N2, H5N5, H5N6 и H7N9 сохраняются в азиатских странах с повторением новых вспышек H5N1, H5N5 и H5N6. В Австралии через шесть лет возникли повторные вспышки H7N7, и несколько вспышек все еще продолжаются. В Африке продолжаются вспышки H5N6 и H5N8 в Нигерии и Южной Африке [23]. В Европе и в Казахстане впервые зарегистрирован ВППГ H5 в северных районах неподалеку от границы с Россией, где также сообщается о новых и продолжающихся вспышках H5N8 среди домашних и диких птиц. Возможно, что источником инфекции во время этих вспышек является контакт с дикими птицами и с последующим местным распространением.

Ветеринарные органы пострадавших стран отреагировали на сдерживание вспышек среди домашних птиц с помощью мер санитарного уоя, усиленного наблюдения и рекомендаций владельцам домашней птицы по повышению биобезопасности.

Стандарты МЭБ и прозрачность отчетности через Всемирную информационную систему по здоровью животных МЭБ обеспечивают основу для ветеринарных служб для осуществления эффективного наблюдения, отчетности и контроля за птичьим гриппом. Наблюдение за дикими птицами может указывать на периоды повышенного риска, и в это время меры по повышению биобезопасности на птицефабриках и ли могут ли они снизить вероятность заражения домашней птицы [24-27].

Национальный референтный центр установил, что причиной падежа стал высокопатогенный грипп птиц. В соответствии с принятыми правилами, Казахстан уведомил о вспышке заболевания Всемирное общество защиты животных и Международное эпизоотическое бюро.

### Материалы и методы исследования

Пробы, используемые в исследовании, были отобраны на территории Республики Казахстан в 2020 г. среди популяции домашних птиц птицефабрик и личных подсобных хозяйств (ЛПХ). Пробы, используемые в исследовании продемонстрированы в таблице 1. Приведенные сведения показывают места отбора проб.

**Таблица 1** – Данные сбора образцов сывороток крови и цельной крови птиц в 2020 году в разрезе областей, районов, сельских округов Республики Казахстан для исследования на наличие вируса гриппа птиц

Населенный пункт район, село, с/о	Наименования ТОО, АО выбранного для исследования	Всего было отобрано проб крови
Акмолинская область		
Аккольский, с. Домбыралы	ТОО «Үш бұлақ 2005»	40
Бурабайский, с. Зеленый Бор	ТОО «АгроИнвест-2015»	40
Аккольский, с. Домбыралы	ЛПХ	15
Бурабайский, с. Зеленый Бор	ЛПХ	15
Северо-Казахстанская область		
Кызылжарский, с. Малое Белое	ТОО «Адель Кус»	50
Тайыншинский, с. Ильичевка	ТОО «Птицефабрика Есильская»	40
Им. Г. Мусирепова, с. Янтарь	ЛПХ	30
Западно-Казахстанская область		
г. Уральск	ТОО «Агрофирма «Акас»	50
г. Уральск	ЛПХ	15
Карагандинская область		
Бухар-Жырауский, с. Ботакара	ТОО «Акнар ПФ»	45
Бухар-Жырауский, с. Уштобинский	ТОО «Қарағанды-құс»	45
Бухар-Жырауский, с/о Доскей	ЛПХ	15

Продолжение таблицы 1

Населенный пункт район, село, с/о	Наименования ТОО, АО выбранного для исследования	Всего было отобрано проб крови
Алматинская область		
Енбекшиказахский, с. Байтерек	АО «Алель Агро»	35
Илийский, с. Чапаево	АО «Алатау-құс»	35
Илийский, с. Чапаево	ЛПХ	14
Туркестанская область		
г. Шымкент	ТОО «Шымкент құс»	40
г. Шымкент	ЛПХ	30
Восточно-Казахстанская область		
г. Семей	ТОО «Восток бойлер»	40
г. Семей, с/о Приречный	ЛПХ	15
г. Семей, с/о Приречный	ЛПХ	15
ВСЕГО		624

### Постановка ИФА для выявления антител к вирусу гриппа птиц

Иммуноферментный анализ (ИФА) на обнаружение антител к возбудителю птичьего гриппа проводили с использованием набора Avian Influenza Virus Antibody Test Kit (IDEXX, США) в соответствии протоколу производителя.

### Выделение вирусной РНК

Выделение вирусной РНК проводили с использованием набора «ДНК/РНК-С-ФАКТОР» (ВЕТ ФАКТОР, Россия) в соответствии протоколу производителя.

### ОТ-ПЦР реакция

Полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) проводили с использованием одностадийного набора реагентов «ПЦР-ГРИПП-А-ФАКТОР» (ВЕТ ФАКТОР, Россия) для выявления РНК вируса гриппа А (Influenza virus A) в биологическом материале методом обратной транскрипции и ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

### Результаты исследования и их обсуждение

#### Проведение ИФА на обнаружение антител к возбудителю гриппа птиц

В исследованиях по выявлению птиц, серопозитивных по антителам на вирусы гриппа птиц, использованы образцы сывороток крови птиц, собранные в 2020 году на птицефабриках и ЛПХ Акмолинской, Северо-Казахстанской, Западно-Казахстанской, Карагандинской, Алматинской, Туркестанской и Восточно-Казахстанской областей. Как видно из таблицы 1, из 7 областей отобрано 624 образцов сывороток крови от птиц из 20 эпизоотологических единиц. При исследовании на антитела к вирусу гриппа птиц из 624 проб сывороток крови птиц 9 проб, отобранных от двух ЛПХ Восточно-Казахстанской области оказались положительными, что составляет 1,4%. В таблице 2 приведенные сведения о датах забора, вакцинации и исследования проб. Как показана в таблице домашние птицы, содержащиеся в ЛПХ Восточно-Казахстанской области не были вакцинированы против птичьего гриппа.

**Таблица 2** – Данные о датах сбора, вакцинации и исследования образцов сывороток крови и цельной крови птиц в 2020 году для исследования на наличие вируса гриппа птиц

№ п/п	Область, район, наименование ТОО, АО, ЛПХ	Дата забора проб	Дата вакцинации на грипп птиц	Дата исследования проб
1	Алматинская область, Илийский р-н, ПФ «Алатау-Құс»	20.05.2020	04.05.2020	04.06.2020
2	Алматинская область, Илийский р-н, ПФ «Алель-Агро»	20.05.2020	09.04.2020	09.07.2020

№ п/п	Область, район, наименование ТОО, АО, ЛПХ	Дата забора проб	Дата вакцинации на грипп птиц	Дата исследования проб
3	Алматинская область, ЛПХ»	20.05.2020	Не вакцинированы	27.07.2020
4	ВКО, г. Семей, ТОО «Восток бройлер»	13.06.2020	Не вакцинированы	13.07.2020
5	ВКО, ЛПХ «Жигеров»	15.06.2020	Не вакцинированы	13.07.2020
6	ВКО, ЛПХ «Киикпаев»	14.05.2020	Не вакцинированы	13.07.2020
7	Карагандинская обл., Бухар-жырауский р-н, с. Боткара, ТОО «Акнар-ПФ»	28.05.2020	18.05.2020	13.07.2020
8	Карагандинская обл., Бухар-жырауский р-н, с/о Уштобе, ТОО «Қарағанды-құс»	01.06.2020	26.11.2019	27.07.2020
9	Карагандинская обл., ЛПХ	01.06.2020	Не вакцинированы	27.07.2020
10	Туркестанская обл., г. Шымкент, ТОО «Шымкент-құс»	16.06.2020	40/40 Нет информации	11.08.2020
11	Туркестанская обл., г. Шымкент, ЛПХ	27.07.2020	Не вакцинированы	11.08.2020
12	СКО, Кызылжарский р-н, с. Малое Белое, ТОО «Адель Құс»	02.06.2020	Нет информации	12.08.2020
13	СКО, Тайыншинский р-н, с. Ильичеевка, ТОО «ПФ Есильская»	30.05.2020	Нет информации	12.08.2020
14	СКО, ЛПХ	03.06.2020	Не вакцинированы	12.08.2020
15	Акмолинская область, Аккольский р-н, ТОО «Үш бұлақ 2005»	06.08.2020	Нет информации	13.08.2020
16	Акмолинская область, Бурабайский р-н, ТОО «АгроИнвест 2015»	05.08.2020	24.06.2020	13.08.2020
17	Акмолинская область, Аккольский р-н, ЛПХ	07.08.2020	Не вакцинированы	13.08.2020
18	Акмолинская область, Бурабайский р-н, ЛПХ	05.08.2020	Не вакцинированы	13.08.2020
19	ЗКО, г. Уральск, ТОО «Агрофирма «Акас»	09.06.2020	Нет информации	10.09.2020
20	ЗКО, г. Уральск, ЛПХ	25.06.2020	Не вакцинированы	10.09.2020

**Проведение ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени для выявления РНК вируса гриппа А в цельной крови**

По результатам ИФА из всех положительных проб выделены нуклеиновые кислоты и проведена постановка реал-тайм ПЦР на грипп птиц и болезнь Ньюкасла с набором реагентов Вет-Фактор.

Выделение нуклеиновых кислот в пробах из личных подсобных хозяйств, которые показали положительный результат при проведении ИФА на выявление антител на грипп птиц. Всего выделено РНК из 9 проб цельной крови кур с применением набора реагентов для экстракции ДНК/РНК из биологического материала «ДНК/РНК-С-ФАКТОР».

По результатам постановки реал-тайм ПЦР все пробы были отрицательными, не выявлен

РНК вирус гриппа птиц. ОТ-ПЦР не подтвердила инфицированности птиц, что свидетельствует о полном благополучии этих регионов по исследуемому эпизоотологическим единицам. ИФА имеет преимущества и недостатки. К преимуществам метода относятся высокая специфичность и чувствительность метода (более 90%), доступность и скорость данного исследования. Недостатком метода является то, что в ходе анализа удается выявить не сам возбудитель заболевания, а только иммунный ответ на него. Положительные пробы на грипп птиц выявлены у кур из ЛПХ, расположенном в с/о Приречный Восточно-Казахстанской области, которые не были вакцинированы против гриппа птиц, возможно куры переболели низкопатогенным гриппом птиц.

Опасность распространения заразных болезней связана с рисками появления возбудителя

заболевания и наличием всех звеньев эпизоотической цепи. Согласно определениям, нами изучалось наличие заболевания в исследуемых хозяйствующих субъектах. Эпизоотологический мониторинг в отношении гриппа птиц осуществлялся на птицефабриках и в хозяйствующих субъектах Республики Казахстан.

В РК все птицефабрики проводят вакцинацию кур против гриппа птиц (в основном от ВППГ – штамма вируса H5N1). Важно, что сама по себе вакцинация не считается решением для контроля над высокопатогенным вирусом птичьего гриппа или низкопатогенным птичьим гриппом подтипа H5/H7, если конечной целью является ликвидация заболевания. Без применения систем мониторинга, строгой биобезопасности и снижения популяции в случае вспышек инфекции, существует вероятность того, что вирусы высокопатогенного птичьего гриппа и низкопатогенного птичьего гриппа H5/H7 могут стать эндемическим заболеванием в вакцинированных популяциях домашних птиц. Долгосрочная циркуляция вируса в вакцинированной популяции может привести как к антигенным, так и генетическим изменениям в вирусе. Существование большого количества подтипов вируса, наряду со значительной вариацией различных известных штаммов пределах подтипа, создает серьезные проблемы при выборе штаммов для получения инактивированных вакцин против гриппа А. Кроме того, некоторые штаммы не растут при достаточно высоком титре для получения достаточно мощных вакцин без дорогостоящего концентрирования.

Изучение эпизоотической ситуации за пределами территории Республики Казахстан показало, что за 2019-2020 годы грипп птиц регистрировался в разных странах мира, в том числе в Китае, России и Киргизии. В этом году 4 августа грипп птиц, вызванный штаммом вирусом

H5N8, появился на территории Челябинской области Российской Федерации.

### **Заключение**

Приведенные данные о гриппе птиц в мире указывают на то что по этой болезни эпизоотическая ситуация в мире и странах, имеющих тесные экономические и туристические связи с Республикой Казахстан, оценивается напряженной. Вероятность проникновения болезни в какую-либо благополучную страну, в том числе Республику Казахстан, высока и непредсказуема. Поэтому принятие мер по предупреждению заноса возбудителя указанных болезней в республику является актуальной задачей для ветеринарной службы страны по поддержанию благополучия среди птиц собственной страны. Необходимо продолжить проведение ежегодного эпизоотологического мониторинга, а также совершенствовать санитарно-карантинные, противоэпизоотические и диагностические мероприятия против гриппа птиц.

### **Конфликт интересов**

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




### **Источник финансирования**

Работа выполнена при поддержке Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан на 2018-2020 годы. Финансирование предоставлено Министерством сельского хозяйства Республики Казахстан в рамках программно-целевого финансирования по БП 267 НТП «Научное обеспечение ветеринарного благополучия и пищевой безопасности», договор № 9 от 10 сентября 2018 года.

### **Литература**

- 1 Dharmayanti N.L., Hartawan R., Wibawa H., Balish A., Donis R., Davis C.T., and Samaan G. Genetic characterization of clade 2.3.2.1 avian influenza A(H5N1) viruses, Indonesia, 2012 // *Emerging Infectious Diseases*. – 2014. – P. 671–674.
2. Lee D.H., Criado M.F., & Swayne D.E. Pathobiological Origins and Evolutionary History of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2020. doi:10.1101/cshperspect.a038679. – Feb 1;11(2).
- 3 Donis R. O. and G. J. Smith. Nomenclature updates resulting from the evolution of avian influenza A(H5) virus clades 2.1.3.2a, 2.2.1, and 2.3.4 during 2013–2014 // *Influenza and Other Respiratory Viruses*. – 2014. – P. 271–276.
- 4 Zhou X, Gao L, Wang Y, Li Y, Zhang Y, Shen C, Liu A, Yu Q, Zhang W, Pekin A, Guo F, Smith C, Clements ACA, Edwards J, Huang B, Soares Magalhães RJ. Geographical variation in the risk of H7N9 human infections in China: implications for risk-based surveillance // *Sci Rep*. – 2020. – Jun 25;10(1):10372. doi: 10.1038/s41598-020-66359-1.
- 5 Hanna, A., Banks, J.D., Marston, A.R., Ellis J.S., Brookes M., and Brown I.H. Genetic characterization of highly pathogenic avian influenza (H5N8) virus from domestic ducks, England // *Emerging Infectious Diseases*. – 2014. – P. 879–882.

- 6 Harder T.C. and Vahlenkamp T.W. Influenza virus infections in dogs and cats // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. – 2010. – P. 54–60.
- 7 He S., Shi J., Qi X., Huang G., Chen H. and Lu C. Lethal infection by a novel reassortant H5N1 avian influenza A virus in a zoo-housed tiger // *Microbes and Infection*. – 2015. – P. 54–61.
- 8 Gutierrez R.A., Sorn S., Nicholls J.M. and Buchy P. Eurasian Tree Sparrows, risk for H5N1 virus spread and human contamination through Buddhist ritual: an experimental approach // *PLoS One*. – 2011. – 6:e28609.
- 9 Arafa A., Suarez D., Kholosy S.G., Hassan M.K., Nasef S., Selim A., Dauphin G., Kim M., Yilma J., Swayne D., and Aly M.M. Evolution of highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses in Egypt indicating progressive adaptation // *Archives of Virology*. – 2012. – P. 1931–1947.
- 10 Sultankulova K., Orynbayev M., Kozhabergenov N., Akylbayeva K., Melisbek A., Jekebekov K., Zhunushov A., Zakarya K., Burashev Y. Complete Coding Genome Sequence of an Avian Influenza A/H3N8 Virus Strain Detected in North Kazakhstan in 2018 // *Microbiol Resour Announc*. – 2020. – Jul 16;9(29):e00441-20. doi: 10.1128/MRA.00441-20.
- 11 Abbas M.A., Spackman E., Fouchier R., Smith D., Ahmed Z., Siddique N., Sarmento L., Nacem K., McKinley E.T., Hameed A., Rehmani S., and Swayne D.E. H7 avian influenza virus vaccines protect chickens against challenge with antigenically diverse isolates // *Vaccine*. – 2011. – P. 7424–7429.
- 12 Swayne D.E. Impact of vaccines and vaccination on global control of avian influenza // *Avian Dis*. – 2012. – Dec;56(4 Suppl):818-28. doi: 10.1637/10183-041012-Review.1.
- 13 Kydyrmanov A., Sayatov M., Karamendin K., Zhumatov K., Asanova S., Daulbayeva K., Starick E., Fereidouni S. Monitoring of influenza A viruses in wild bird populations in Kazakhstan in 2002-2009 // *Arch Virol*. – 2017. – Jan;162(1):147-155. doi: 10.1007/s00705-016-3076-4.
- 14 Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals // 8th Edition. – 2018. Vol. 1, 2 and 3. <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/avian-influenza-portal/>
- 15 Karamendin K., Kydyrmanov A., Kasymbekov Y., Daulbayeva K., Khan E., Seidalina A., Sayatov M. A Highly Pathogenic H5N1 Influenza A Virus Isolated from a Flamingo on the Caspian Sea Shore // *Microbiol Resour Announc*. – 2020. – Sep 24;9(39):e00508-20. doi: 10.1128/MRA.00508-20.
- 16 Chervyakova O.V., Stochkov V.M., Sultankulova K.T., Sandybayev N.T., Zaitsev V.L., Mamadaliyev S.M. Molecular and genetic analysis of NS gene from high pathogenic strains of the avian influenza (H5N1) virus isolated in Kazakhstan // *Gene*. – 2011. – May 1;476(1-2):15-9. doi: 10.1016/j.gene.2011.02.003.
- 17 Sansyzbay A.R., Erofeeva M.K., Khairullin B.M., Sandybayev N.T., Kydyrbayev Z.K., Mamadaliyev S.M., Kassenov M.M., Sergeeva M.V., Romanova J.R., Krivitskaya V.Z., Kiselev O.I., Stukova M.A. An inactivated, adjuvanted whole virion clade 2.2 H5N1 (A/Chicken/Astana/6/05) influenza vaccine is safe and immunogenic in a single dose in humans // *Clin Vaccine Immunol*. – 2013. – Aug;20(8):1314-9. doi: 10.1128/CVI.00096-13.
- 18 Sonnberg S., Webby R.J., and Webster R.G. Natural history of highly pathogenic avian influenza H5N1 // *Virus Research*. – 2013. – P. 63–77.
- 19 Ilyicheva T., Marchenko V., Pyankova O., Moiseeva A., Nhai T.T., Lan Anh B.T., Sau T.K., Kuznetsov A., Ryzhikov A., Maksyutov R. Antibodies to Highly Pathogenic A/H5Nx (Clade 2.3.4.4) Influenza Viruses in the Sera of Vietnamese Residents // *Pathogens*. – 2021. – Mar 25;10(4):394. doi: 10.3390/pathogens10040394.
- 20 Lewis N.S., Banyard A.C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., Byrne A., Saduakassova M.A., King J., Harder T., Grund C., Essen S., Reid S.M., Brouwer A., Zinyakov N.G., Tegzhanov A., Irza V., Pohlmann A., Beer M., Fouchier R.A.M., Sultanov A.A., Brown I.H. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020 // *Emerg Microbes Infect*. – 2021. – Dec;10(1):148-151. doi: 10.1080/22221751.2021.1872355.
- 21 Mumu, T.T., Nooruzzaman, M., Hasnat, A., Parvin, R., Chowdhury, E.H., Bari A.S.M., & Islam M.R. Pathology of an outbreak of highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus of clade 2.3.2.1a in turkeys in Bangladesh // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. – 2020. 104063872096554. doi:10.1177/1040638720965540.
- 22 Cui Y., Li Y., Li M., Zhao L., Wang D., Tian J., Bai X., Ci Y., Wu S., Wang F., Chen X., Ma S., Qu Z., Yang C., Liu L., Shi J., Guan Y., Zeng X., Tian G., Cui P., Deng G., Jiang Y., Chen P., Liu J., Wang X., Bao H., Jiang L., Suzuki Y., Li C., Li Y., Chen H. Evolution and extensive reassortment of H5 influenza viruses isolated from wild birds in China over the past decade // *Emerg Microbes Infect*. – 2020. – Dec;9(1):1793-1803. doi: 10.1080/22221751.2020.1797542.
- 23 Shittu I., Bianco A., Gado D., Mkpuma N., Sulaiman L., Laleye A., Gobbo F., Bortolami A., Bonfante F., Vakuru C., Meseko C., Fusaro A., Shamaki D., Alabi O., Terregino C., Joannis T. First detection of highly pathogenic H5N6 avian influenza virus on the African continent // *Emerg Microbes Infect*. – 2020 Dec;9(1):886-888. doi: 10.1080/22221751.2020.1757999.
- 24 Heine H.G., Foord A.J., Wang J., Valdeter S., Walker S., Morrissy C., Wong F.Y., and Meehan B. Detection of highly pathogenic zoonotic influenza virus H5N6 by reverse-transcriptase quantitative polymerase chain reaction // *Virology Journal*. – 2015. – 12:18.
- 25 Lee D.H., Killian M.L., Torchetti M.K., Brown I., Lewis N., Berhane Y., Swayne D.E. Intercontinental spread of Asian-origin H7 avian influenza viruses by captive bird trade in 1990's // *Infect Genet Evol*. – 2019. – Sep;73:146-150. doi: 10.1016/j.meegid.2019.04.028.
- 26 Harris K.A., Freidl G.S., Munoz O.S., von Dobschuetz S., De Nardi M., Wieland B., Koopmans M.P.G., Stärk K.D.C., van Reeth K., Dauphin G., Meijer A., de Bruin E., Capua I., Hill A.A., Kosmider R., Banks J., Stevens K., van der Werf S., Enouf V., van der Meulen K., Brown I.H., Alexander D.J., Breed A.C.; FLURISK Consortium. Epidemiological Risk Factors for Animal Influenza A Viruses Overcoming Species Barriers // *Ecohealth*. – 2017. – Jun;14(2):342-360. doi: 10.1007/s10393-017-1244-y.
- 27 Hillman A.E., Smith R.P., Batey N., Verheyen K.L., Pittman M., Brown I.H., Breed A.C. Serological surveillance reveals patterns of exposure to H5 and H7 influenza A viruses in European poultry // *Transbound Emerg Dis*. – 2020. – Mar;67(2):592-603. doi: 10.1111/tbed.13371.

**A.B. Bekenova** , **A.M. Smagulova** ,  
**V.S. Kiyani**\* 

S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Kazakhstan, Nur-Sultan,  
\*e-mail: [vskiyani@gmail.com](mailto:vskiyani@gmail.com)

## VETERINARY-SANITARY EXPERTISE OF THE FISH FROM THE SHAGALALY RIVER

Fish completes the food chain of the water and is used as an indicator of the water pollution. This article presents the results of biochemical, microbiological and parasitological studies of fish caught in the Shagalaly River. A total of 106 specimens of fish belonging to the Cyprinidae family were examined. As a result, it was established that there was no ammonia in the muscles of fish meat, the reaction to hydrogen sulfide was negative, the concentration of hydrogen ions in the studied samples were in the range of 6.6 – 6.7. The number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms was not observed at a cultivation cell of  $1 \times 10^5$ , which corresponds to the norm. Coliform bacteria was not found. When determining bacterial contamination for a reductase test, the samples were discolored after more than 3 hours, which indicates the absence of reductase. Metacercariae of the Opisthorchiidae family were found by the microscopy of muscles. The infection of fish by *Opisthorchis felinus* was 12.1%, *Metorchis bilis* – 6.09%, *Metorchis xanthosomus* – 10.9%, *Pseudamphistomum truncatum* – 2.4%. *Pseudamphistomum truncatum* was found in the muscles of the crucian carp, the infection rate was 29.1%. Molecular genetic analysis was carried out for the species differentiation of *Opisthorchis felinus* and *Metorchis bilis* metacercariae.

**Key words:** fish, veterinary-sanitary expertise, Shagalaly river, Opisthorchiidae, multiplex PCR.

А.Б. Бекенова, А.М. Смагулова, В.С. Киян \*

С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.  
\*e-mail: [vskiyani@gmail.com](mailto:vskiyani@gmail.com)

### Шағалалы өзенінен ауланған балықтарды ветеринарлық-санитарлық бақылау

Балық су қоймасының қоректік тізбегін аяқтайды, сондықтан су объектісінің ластану индикаторына айналады. Мақалада Шағалалы өзенінен ауланған балықтардың биохимиялық, микробиологиялық және паразитологиялық зерттеу нәтижелері берілген. Тұқы тұқымдастығына жататын барлығы 106 балық зерттелген. Зерттеу барысында Шағалалы өзенінен ауланған балық етінде аммиак болмағаны анықталған. Шағалалы өзенінен ауланған балық етінде күкіртсутек реакциясы теріс нәтиже көрсетті. Зерттелген балықтардың сутектік көрсеткіші 6.6 – 6.7 шамасында болды. Микробиологиялық зерттеу нәтижесінде нормаға сәйкес, мезофилді аэробты және факультативті-анаэробты микроорганизмдер өсіндісі  $1 \times 10^5$  ерiтiндiде байқалмаған. Зерттеу объектiсiнде iшек микрофлорасы тобындағы (колиформ) бактериялар байқалмаған. Редуктаз сынамасына жүргiзiлген зерттеулерде, балық сынамалары 3 сағаттан артық уақытта түссiзденген, бұл редуктазаның (бөгде микрофлора ферментi) жоқ екенiн дәлелдейдi. Шағалалы өзенiнен ауланған балық етiн микроскоппен зерттеу нәтижесiнде Opisthorchiidae тұқымдасына жататын метацеркарилер табылған. Зерттелген язь балығының Opisthorchis felinus қоздырғышымен инвазиялануы 12,1%, Metorchis bilis – 6,09%, Metorchis xanthosomus – 10,9%, Pseudamphistomum truncatum – 2,4%. Шағалалы өзенiнен ауланған Мөңке балығы Pseudamphistomum truncatum-мен инвазиясы 29,1% болды. Opisthorchis felinus пен Metorchis bilis метацеркарилерiнiң түрлiк дифференциациясы үшiн молекулалық-генетикалық талдау жасалды.

**Түйін сөздер:** балық, ветеринарлық-санитарлық бақылау, Шағалалы өзені, Opisthorchiidae, мультиплексті ПТР.

А.Б. Бекенова, А.М. Смагулова, В.С. Киян\*

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

\*e-mail: vskiyangmail.com

### Ветеринарно-санитарная экспертиза рыбы реки Шаггалалы

Рыба завершает трофическую цепь водоема и является индикатором загрязнения водного объекта. В данной статье приведены результаты биохимического, микробиологического и паразитологического исследования рыбы, выловленной в реке Шаггалалы. Всего было исследовано 106 экземпляров рыб, относящихся к семейству карповых. В результате установлено, что в мышцах мяса рыбы отсутствует аммиак, реакция на сероводород была отрицательной, концентрация водородных ионов исследуемых образцов была в пределах 6.6 – 6.7. При микробиологическом исследовании на рост количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов рост микробных клеток не наблюдался в разведении  $1 \times 10^5$ , что соответствует норме. Бактерии группы кишечной палочки не обнаружены. При определении бактериальной обсеменённости на редуктазную пробу образцы обесцвечивались более чем через 3 часа, что говорит об отсутствии редуктазы. При микроскопировании мышц найдены метацеркарии семейства Opisthorchiidae. Зараженность язя возбудителями *Opisthorchis felinus* составила – 12,1%, *Metorchis bilis* – 6,09%, *Metorchis xanthosomus* – 10,9%, *Pseudamphistomum truncatum* – 2,4%. В мышцах карася был обнаружен *Pseudamphistomum truncatum*, зараженность составила 29,1%. Для видовой дифференциации метацеркарий *Opisthorchis felinus* и *Metorchis bilis* был проведен молекулярно-генетический анализ.

**Ключевые слова:** рыба, ветеринарно-санитарная экспертиза, река Шаггалалы, Opisthorchiidae, мультиплексный ПЦР.

#### Introduction

Worldwide consumption of fish has increased rapidly, especially with the recognition of its nutritional and therapeutic benefits. In addition to being an important source of protein, fish is enriched with essential minerals, vitamins and fatty acids. Consumption of fish meat contributes to the prevention of heart and vascular diseases [1]. The American Heart Association recommends consuming fish at least twice a week to achieve your daily intake of omega-3 [2].

World Health Organization recommends consuming at least 16 kg of fish products per person per year. People in our country consume less than 3 million tons of fish per year and prefer river fish, which often becomes a source of human food poisoning [3]. Therefore, the places where fish is caught and traded should be examined by veterinary-sanitary expertise and in some cases, laboratory analysis [4].

When carrying out a veterinary and sanitary examination of fish, organoleptic indicators are assessed (appearance, condition of mucus, eyes, scales, fins, color of gills, consistency of muscle tissue, shape of the abdomen, etc.), and, if necessary, laboratory tests are carried out, which include determination of the concentration of hydrogen ions (pH), determination of ammonia and hydrogen sulfide, reaction to peroxidase and reductase test.

The ecological state of the aquatic environment has a significant impact on the quality of the fish [5]. The main contaminating substances of water are copper, iron, ammonium and nitrate nitrogen, sulfate ions, oil products, phenols, hexavalent chromium compounds, manganese, zinc, cadmium, fluorides, boron. Wastewater discharge by enterprises and utilities, surface runoff of agricultural lands are the main causes of water pollution [6].

Mathew J. et al. approved that fish is the main indicator of the aquatic ecosystems around the world [7].

Dirk Willem Kleingeld et al. proposed to study three groups of fish as an indicator of water purity: salmon, carp and other fish species [8].

Manjit S.A. et al. studied aquatic ecosystems and the influence of calcium hypochlorite (washing powder) on fish's histopathological changes in gills and liver. Studies had shown that an increase concentration of washing powder leads to the damage of the liver tissue in different concentrations (2.5, 10, 30 and 50 ppm) within 96 hours [9].

Riad H. Khalil et al. concluded that the increased levels of ammonia, nitrites and organic matters contribute to the development of branchial mycosis (the causative agent is *Branchiomyces demigrans*) in Nile tilapia and common carp [10].

Piazza C.E. et al. investigated the effect of domestic wastewater on fish of the species *Poecilia*



*vivipara*. During the chemical analysis of fish in laboratory and in situ experiments, the authors confirmed importance of the usage of this fish species as an indicator for environmental monitoring in coastal regions [11].

The level of water pollution is estimated by the value of the complex index of water pollution and is classified into 7 classes: class 1 – very clean, class 2 – clean, class 3 – moderately polluted, class 4 – polluted, class 5 – dirty, class 6 – very dirty, 7 class is extremely dirty. An extremely high level of water pollution is recorded at three waters, these are Maybalyk Lake and the Shagalaly River, Kylshakty River [12].

The Shagalaly River is located on the territory of the Akmola and North Kazakhstan regions and belongs to the 7th class water pollution, where the concentration of copper and phenol is over 0.1 mg / l, of oil products is over 5 mg / l, of easily oxidized organic substances in terms of BOD (O<sub>2</sub>) is over 60 mg / l, of dissolved oxygen is over 2 mg / l [13]. According to the unified water quality classification system for 2021 (I quarter), the Shagalaly river is assigned to the 5th class, due to the excess of the chemical oxygen consumption standards [14].

The ichthyofauna of the Shagalaly River is rich and diverse. The river is stocked with whitefish larvae raised in the Zerenda fish hatchery and commercial fish species such as ide, pike, carp, and perch [15].

Despite the activity of catching and using commercial fish from the Shagalaly River, there is a minimal number of studies about veterinary examination of the fish products from the river. The data is received from the study of fish from the southwestern tributary of the Shagalaly River (Lake Kopa) for parasites, and as a result monogens, trematodes, cestodes, nematodes and crustaceans were found. According to the authors, the extent of infection with *Diplostomum spathaceum* on Lake Kopa was 25%, *Tetraonchus monenteron* – 34.3%, *Triaenophorus nodulosus* – 16.41%, *Tylodelphys clavata* – 31.34%, *Rhapidascaris acus* – 10.44%, *Ergasilus sieboldi* – 2.98% [16]. The presence of parasites in fish is the main obstacle to the sale of the fish product. For example, among disqualified fish in Poland, the highest number was the fish with parasitic invasion (45.97%) [17].

The aim of this study is the veterinary and sanitary examination of the fish from the Shagalaly River to the biochemical, microbiological and parasitological indicators.

The most dangerous parasite transmitted to humans through undercooked dangerous fish are trematodes of the *Opisthorchiidae* family [18]. The larvae of this parasite, metacercariae are located in the upper layer of muscle tissue (from 2 to 4 mm) and in the subcutaneous tissue in the back, are less common in the fins, gills, and intestinal walls [19, 20]. The fish becomes invasive after 6 weeks infection and capable to infecting the definitive host. The duration of the period of fish invasion depends on the fish species and water temperature [21]. Metacercariae are susceptible to drying, high concentration, high temperatures and can only die at high temperatures. Among all the stages of metamorphosis, only metacercariae are able to take root and multiply in mammals [22].

## Materials and methods

The object of the study for the experimental work was fish of the Cyprinidae family (ide and crucian carp) from Shagalaly River.

Biochemical analysis of fish: the determination of the concentration of hydrogen ions, hydrogen sulfide and ammonia was carried out according to the generally accepted method [23].

Microbiological analysis of fish was carried out according to GOST 10444.15-94 to determine the number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms (MAFAM). The identification of coliform bacteria was determined according to GOST 31747-2012. In addition, bacterial contamination was checked using the reaction to the reductase test modified by M. Kondratova [24].

Parasitological studies of fish muscles for the presence of the causative agent of opisthorchiasis were carried out according to the ST RK 2779-2015 standard. Metacercariae were identified using specialized literature [25].

Molecular studies were carried out by multiplex PCR test using primers for *Opisthorhis felineus* – *COInOf-F* and *COInOf-R*, for *Metorchis bilis* – *COInMb-F* and *COInMb-R*. Amplification was performed in a final reaction volume of 25 µl containing 1 × buffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1U Phusion DNA polymerase and 2 mM dNTP, 100 pmol primer and extracted DNA. PCR was performed under the following conditions: denaturation at 95°C for 5 minutes, then 35 cycles of 15-second denaturation at 95°C, then primer annealing at 62°C for 25 seconds and extension at 72°C for 30 seconds, and final elongation for 5 min at 72°C [26].

## Results and Discussion

Biochemical analysis of the fish caught from the Shagalaly River was carried out according to the following indicators – determination of the concentration of hydrogen ions (pH), hydrogen sulfide and ammonia (Table 1). A total of 106 fish were examined, and the 82 specimens were ide and the 24 specimens were crucian carps.

The accumulation of intermediate and final decay products in fish muscles contributes to the

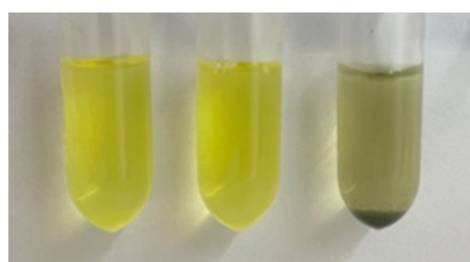
change of hydrogen ions to the alkaline side. The concentration of hydrogen ions in the studied samples was in the range of 6.6 – 6.7, which is in conformity with good-quality fish.

When proteins are decomposed under anaerobic conditions, hydrogen sulfide accumulates. Determination of hydrogen sulfide was carried out by heating minced meat. The ides caught from Shagalaly River had a negative reaction to hydrogen sulfide. In the studied crucians, the reaction to hydrogen sulfide was negative, and only 2 fish samples showed traces.

**Table 1** – Biochemical analysis of fish

Type of fish	pH			Hydrogen sulfide			Ammonia		
	Rate	Number of fish, sch	Result	Rate	Number of fish, sch	Result	Rate	Number of fish, sch	Result
Ide	± 6,6	82	fresh	«-»	82	negative	greenish yellow, transparent	82	absent
Crucian carp	±6,7	24	fresh	«->», «±»	24	negative, traces	greenish yellow, transparent	24	absent

The appearance of ammonia in fish meat indicates the breakdown of amino acids under the influence of microflora. Determination of ammonia was carried out using Nessler's reagent. In the presence of ammonia, ammonium salts form mercurammonium iodide with Nessler's reagent, which turns the colour of the reaction to yellow-brown. The studied samples were transparent, light yellow in color, which indicates the absence of ammonia (Figure 1).



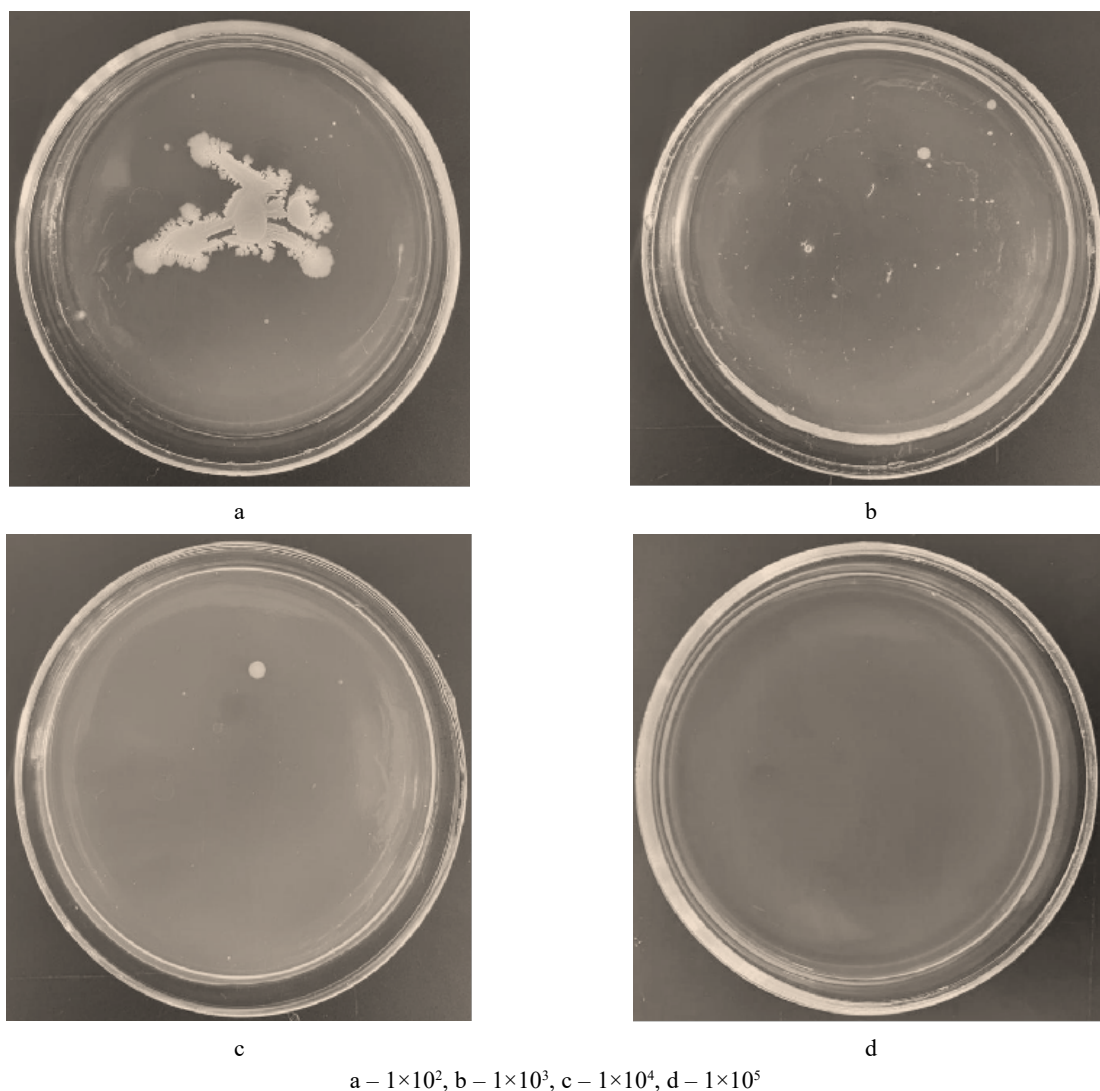
a – ide; b – Crucian carp; c – negative control

**Figure 1** – Determination of ammonia with Nessler's reagent

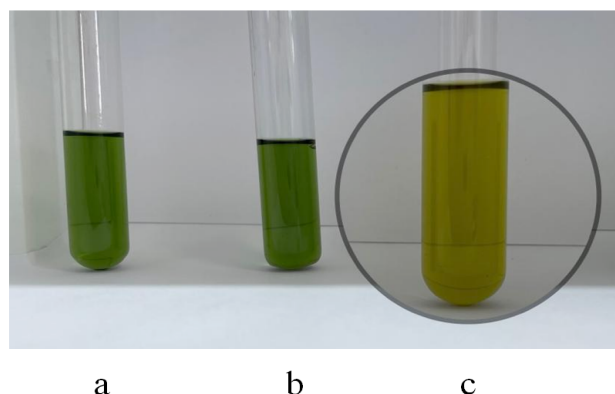
Microbiological analysis of fish was carried out to determine the number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms, and to determine the coliform bacteria and reductase test modified by M. Kondratova.

To determine MAFAM, we used a nutrient medium – meat-peptone agar. As a result the large growth of microbial cells was observed at a cultivation cell of  $1 \times 10^2$ , in further cultivation cell ( $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ) samples, the growth of microbial cells was decreased. At a cultivation cell of  $1 \times 10^5$ , the growth of microbial cells was not observed, according to the required standards. An example of determining MAFAM in a fish sample (ide) is shown in the figure (Figure 2).

Coliform bacteria tend to ferment lactose. As a result of fermented lactose acids appear in fish product, which change the color of the indicator. Determination of coliform bacteria in all prepared samples (ide and crucian carp) was carried out on a nutrient medium SDS-broth. Fish is considered safe, if the color of the nutrient medium remains unchanged when diluted with  $10^{-3}$  (0.001 g) for 48 hours (Figure 3).



**Figure 2** – Results of MAFAM study



a – ide; b – Crucian carp; c – negative control

**Figure 3** – Examination of fish for the presence of enterobacteria

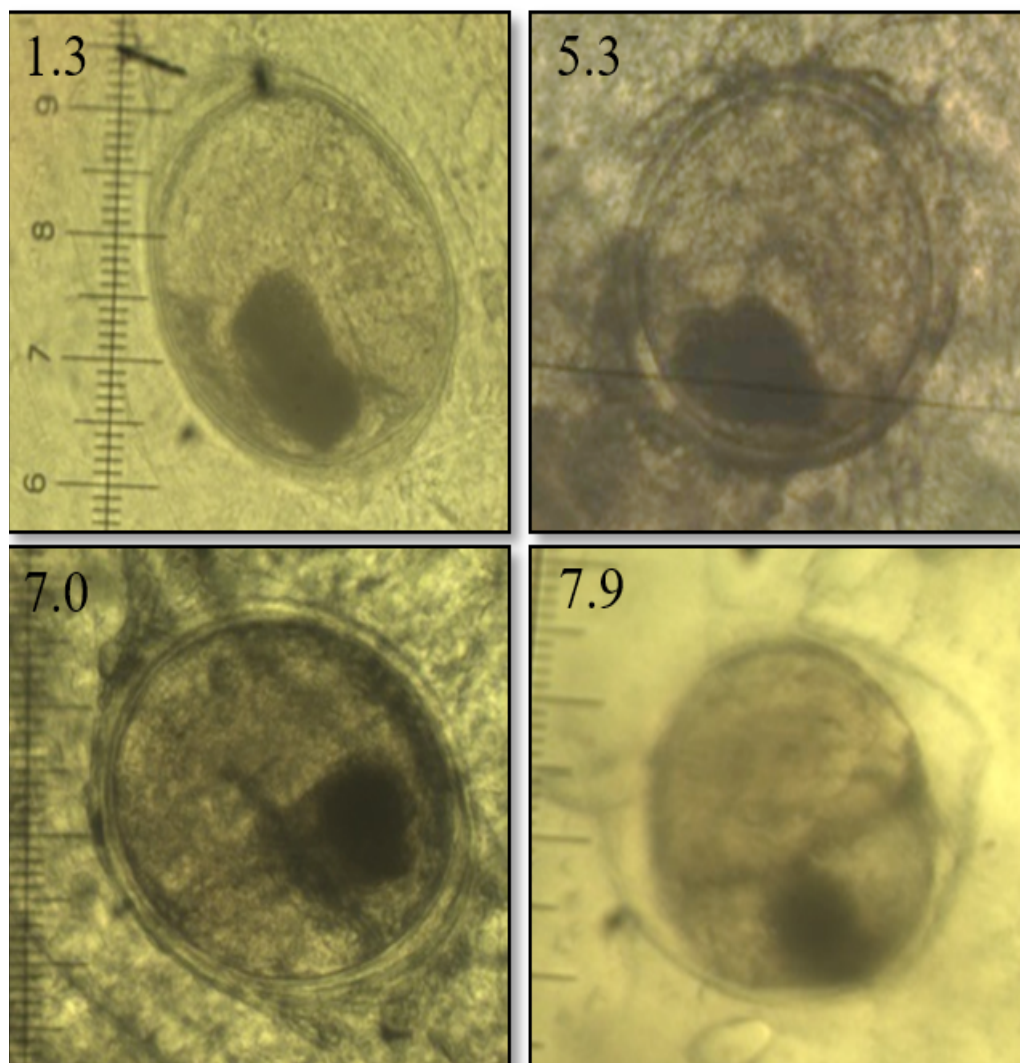
During the examination of the fish from Shagalaly River, discoloration and turbidity was not observed. It indicates the absence of lactose-negative and lactose-positive enterobacteriaceae.

The bacterial contamination was additionally studied by reductase test modified by M. Kondratova. This method is based on the identification of reductase (a waste product of extraneous microflora) in fish meat using an indicator. Under the influence of reductase, the indicator (methylene blue) becomes discolored. Depending on the amount of microflora, the fish sample becomes discolored over a period of time, from 20 minutes to 2.5 hours. When determining the bacterial contamination of fish meat, the samples became discolored after more than 3 hours, which indicates the absence of reductase.

The compression method was applied for parasitological research to determine presence of various types of metacercariae. Various types of metacercariae were identified by microscoping of fish muscles. The identified metacercariae belong to the *Opisthorchiidae* family (*Opisthorchis felineus* or

*Metorchis bilis*), *Metorchis xanthosomus*, and *Pseudamphistomum truncatum*.

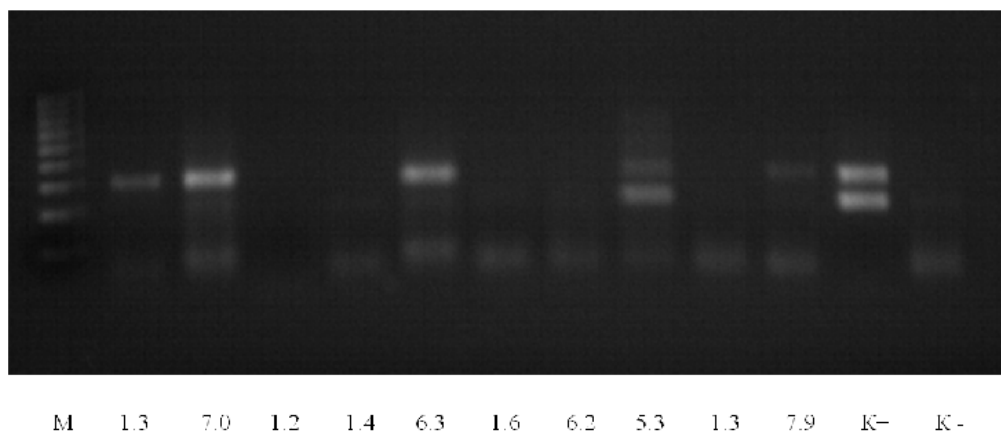
It is impossible to identify *O. felineus* from *M. bilis* by morphological characteristics, for the reason that the maximum size of *O. felineus* coincide with the minimum size of the *M. bilis* (Figure 4).



**Figure 4** – Metacercariae of *Opisthorchiidae* family  
(1.3, 5.3, 7.0, 7.9 – number of extracted samples)

*O. felineus* has a round, slightly oval shape, size varies from  $0.18 \times 0.21$  to  $0.33 \times 0.42$ , the excretory vesicle is filled with black granules, and the shell is thin, two-layered, and transparent. *M. bilis* is ellipsoidal, the size varies from  $0.13 \times 0.18$  to  $0.15 \times 0.21$ , excretory vesicle is filled with black granules, and thin membranes are transparent, two-layered, and thinner than *O. felineus*.

To the differentiation of the two species of, molecular analysis was carried out based on multiplex PCR using mitochondrial cluster primers. Amplification of the test samples with primers *CO1nOf-F/R* and *CO1nMb-F/R* resulted in PCR products of 307 and 252 bp, containing two bands (Figure 5). Samples 1.3, 6.3, 7.0, 7.9 belong to *O. felineus*, and sample 5.3 belongs to *M. bilis*.



M- DNA ladder (bp), 1.3, 6.3, 7.0, 7.9, 5.3, 1.2, 1.4, 1.6, 6.2, 1.3 – extracted DNA samples isolated from various types of metacercariae

**Figure 5** – Electrophoretogram of multiplex PCR for differentiation of *O. felineus* and *M. bilis*

The infection of ide by causative agent *O. felineus* was 12.1%, *M. bilis* – 6.09%, *M. xanthosomus* – 10.9%, *Pseudamphistomum truncatum* – 2.4%. *P. truncatum* was found in the muscles of the crucian carp, the infection rate was 29.1%.

### Conclusion

Fish of the carp family (ide and crucian carp) was used as an indicator of water pollution in the Shagalaly River in our studies. Ecological condition of the river did not affect the biochemical parameters of the fish. The concentration of hydrogen ions in the studied samples was in the range of 6.6 – 6.7, which corresponds to the norms of good-quality fish. The reaction to hydrogen sulfide and ammonia was negative.

Growth number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms is compliant in the studied samples. Coliform bacteria and the reductase were absent.

However, metacercariae *O. felineus*, *M. bilis*, *M. xanthosomus*, and *P. truncatum* were identified by the parasitological research of the ide. The total infection

of the ide by the larvae of the *Opisthorchiidae* family was 31.7%. *P. truncatum* was found in the muscles of the crucian carp, the infection rate was 29.1%. Ecological condition of the Shagalaly River affects the decrease of the resistance of the fish, which causes the infestation of the fish by parasites.

### Conflict of interest

The authors have declared no conflict of interest.

### Acknowledgements

The authors are grateful to Raikhan Mustafina (S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Kazakhstan, Nur-Sultan) who helped with biochemical analysis of fish.

### Funding

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, grant numbers AP05131132 (2018-2020) and AP08052252 (2020–2022).

### References

- 1 Semenov V., Petryankin F., Kosyaev N., Nikitin D., Nikitina A., Tikhonova G., Grigorieva V. Veterinary-sanitary evaluation of fish when applying the Akwa-Biot-Norm nutrient feed additive // Earth and Environmental Science. – 2020. – № 433.
- 2 Bawuro A.A., Voegborlo R.B., Adminado A.A. Bioaccumulation of Heavy Metals in Some Tissues of Fish in Lake Geriyo, Adamawa State, Nigeria // Journal of Environmental and Public Health. – 2018. – P. 1-7
- 3 Batyrbekov A.N., Kuzhukhanova M.T., Bectemisova A.N. Veterinary and sanitary estimation of fish in the infective diseases. – Kostanay, 2011.

- 4 Orlova D., Kalyuzhnaya T., Tokarev A., Kuznetsov Y. New method for veterinary and sanitary control of defrosted meat and fish // *International Journal of Veterinary Science*. – 2020. – Vol. 9 – P. 317-319.
- 5 Pyz-Łaukasik R., Szkucik K., Paszkiewicz W., Drozd Ł. Results of sanitary-veterinary examination of fish in Poland in 2010-2016 // *Medycyna Weterynaryjna*. – Vol. 74. – 2018. – P. 301-303.
- 6 Zaibel I., Appelbaum Y., Britzi M., Schwartsburd F., Snyder S., Zilberg D. The effect of tertiary treated waste water on fish growth and health: Laboratory-scale experiment with *Poecilia reticulata* (guppy) // *PLoS ONE*. – 2019. – P. 1-25.
- 7 Mathew J. Burnett, Gordon C. O'Brien, Francois J. Jacobs, Francois B., Graham J., Colleen T.D. The southern African inland fish tracking programme (FISHTRAC): An evaluation of the approach for monitoring ecological consequences of multiple water resource stressors, remotely and in real-time // *Ecological Indicators*. – 2020.
- 8 Dirk W. K., Johanna M., Stefan R., Dieter S., Helmut W. “Animal Welfare Indicators” Guidelines. – 2018. – P. 14-21.
- 9 Manjit S. A., Atika A. S., Sangeeta S. Histopathology biomarker responses in fresh water fish, *Labeo rohita* exposed to Bleaching Powder // *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. – 2020. – Vol. 9, Issue 2. – P. 8-16.
- 10 Riad H. Khalil, Talaat T. Saad, Talal A. M. Abo Selema, Hany M. R. Abdel-Latif. Branchiomyces Demigrans Infection in Farm-Reared Common Carp (*Cyprinus Carpio L.*) and Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) at Different Localities in Egypt, With Special Emphasis to the Role of Environmental Stress Factors // *International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries (IJISABF)*. – 2015. Vol. 1, Issue 1. – P. 15-23.
- 11 Piazza C. E., Mattos J. J., de Toledo-Silva G., Flores-Nunes F., Tadra-Sfeir M. Z., Trevisan R., Bittencourt A.C., Bicego M.C., Taniguchi S., Marques M.R.F., Dafre A.D., Bianchini A., de Souza M., Bainy A.C.D. Transcriptional effects in the estuarine guppy *Poecilia vivipara* exposed to sanitary sewage in laboratory and *in situ* // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2019. – Vol. 182.
- 12 Ресурсы поверхностных и подземных вод, их использование и качество. Государственный водный кадастр. – Алматы, 2018. – С. 47.
- 13 Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. – № 02(28). – 2020, I полугодие. – С. 75-80.
- 14 Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. – № 01(81). – 2021, I полугодие. – С. 17-30.
- 15 Дукравец Г.М., Мамилов Н.Ш., Митрофанов И.В. Аннотированный список рыбообразных и рыб Республики Казахстан // *Известия НАН РК*. – № 3. – 2010. – С. 36-48.
- 16 Жакенова Ж.Ж., Арыстанов Е.А. Паразитологический анализ щуки (*Esox Lucius L.*) в озере Коба // VII Международная научно-практическая конференция «Дни науки – 2012». – 2012.
- 17 Renata P., Krzysztof S., Waldemar P., Lukasz D. Results of sanitary-veterinary examination of fish in Poland in 2010-2016 // *Med.Weter.* – 2018. – 74 (5). – P. 301-303.
- 18 Saijuntha W., Sithithaworn P., Petney T.N., Andrews R.H. Foodborne zoonotic parasites of the family *Opisthorchiidae* // *Research in Veterinary Science*. – 2021. – Vol. 135. – P. 404-411.
- 19 Беэр С.А. Биология возбудителя описторхоза. М.; ПАН, 2005. – С. 22, 115-164.
- 20 Romero-Alvarez, Valverde-Munoz G., Galvopina M., Rojas M., Cevallos W., Kumazawa H., Takagi H., Sugiyama H. Liver fluke infections by amphimerus sp. (digenea: *Opisthorchiidae*) in definitive and fish intermediate hosts in manabi province, Ecuador // *PLoS Neglected Tropical Diseases*. – 2020. – Vol. 14(6). P. 1-18.
- 21 Cech G., Sandor D., Molnar K., Varga A., Caffara M. Digenean trematodes in Hungarian freshwater aquacultures // *Food and Waterborne Parasitology*. – 2021.
- 22 Zhang F., Wang J., Li J., Zeng Y. The selectivity for the second intermediate host (fish) of *Clonorchis sinensis* in the Jialing River basin, China – from the perspective of fish ecological viewpoint // *Biologia*. – 2021 – Vol. 76(1). – P. 91-100.
- 23 Майканов Б.С., Адильбеков Ж.Ш. Методическое указание к проведению лабораторно-практических занятий по дисциплине «Экспертиза продуктов рыболовства и пчеловодства». – Астана, 2003. – С. 4-10.
- 24 Васильев Д.А. Мерчин С.В. Лабораторный практикум по ветеринарно-санитарной экспертизе рыбы. – Ульяновск, 2006. – С. 10-20.
- 25 Мошу А. Гельминты рыб водоемов Днестровско-Прутского междуречья, потенциально опасные для здоровья человека. – Кишинэу, 2014. – С. 15 – 34.
- 26 Smagulova A., Katokhin A., Mambetpayeva B., Kiyan V. A multiplex PCR assay for the differential detection of *Opisthorhis felineus* and *Metorchis bilis* // *Georgian medical news*. – 2021. – № 1(310). – P. 176-182.

## References

- 1 Batyrbekov A.N., Kuzhukhanova M.T., Bectemisova A.N. (2011) Veterinary and sanitary estimation of fish in the infective diseases, Kostanay.
- 2 Bawuro A.A., Voegborlo R.B., Adminado A.A. (2018) Bioaccumulation of Heavy Metals in Some Tissues of Fish in Lake Geriyo, Adamawa State, Nigeria. *Journal of Environmental and Public Health*, P. 1-7.
- 3 Beer S.A. (2005) *Biologiya vzbuditelya opistorhoza* [Biology of the causative agent of opisthorchiasis]. *RAN*, P. 22, 115-164.
- 4 Cech G., Sandor D., Molnar K., Varga A., Caffara M. (2021) Digenean trematodes in Hungarian freshwater aquacultures. *Food and Waterborne Parasitology*.
- 5 Dirk W. K., Johanna M., Stefan R., Dieter S., Helmut W. (2018) “Animal Welfare Indicators” Guidelines, P. 14-21.

- 6 Dukravec G.M., Mamilov N.SH., Mitrofanov I.V. (2010) Annotirovannyj spisok ryboobraznyh i ryb Respubliki Kazahstan [Annotated list of fish-like and fish of the Republic of Kazakhstan]. *Izvestiya NAN RK*, № 3, P. 36-48.
- 7 Informacionnyj byulleten' o sostoyanii okruzhayushchej sredy Respubliki Kazahstan. [Information bulletin of the environment of the Republic Kazakhstan] (2020), № 02(28), I polugodie, P. 75-80.
- 8 Informacionnyj byulleten' o sostoyanii okruzhayushchej sredy Respubliki Kazahstan. [Information bulletin of the environment of the Republic Kazakhstan] (2021), № 01(81), I polugodie, P. 17-30.
- 9 Majkanov B.S., Adil'bekov ZH.SH. (2003) Metodicheskoe ukazanie k provedeniyu laboratorno-prakticheskikh zanyatij po discipline «Ekspertiza produktov rybolovstva i pchelovodstva» [Methodical instruction for conducting laboratory and practical classes in the discipline «Examination of fishery and beekeeping products»]. *Astana*, P. 4-10.
- 10 Manjit S. A., Atika A. S., Sangeeta S. (2020) Histopathology biomarker responses in fresh water fish, *Labeo rohita* exposed to Bleaching Powder. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, vol. 9, Issue 2, P. 8-16.
- 11 Mathew J. Burnett, Gordon C. O'Brien, Francois J. Jacobs, Francois B., Graham J., Colleen T.D. (2020) The southern African inland fish tracking programme (FISHTRAC): An evaluation of the approach for monitoring ecological consequences of multiple water resource stressors, remotely and in real-time. *Ecological Indicators*.
- 12 Moshu A. (2014) Gel'minty ryb vodoemov Dnestrovsko-Prut'skogo mezhdurech'ya, potencial'no opasnye dlya zdorov'ya cheloveka [Helminths of fish from reservoirs of the Dniester-Prut interfluvium, potentially hazardous to human health]. *Kishineu*, P. 15-34.
- 13 Orlova D., Kalyuzhnaya T., Tokarev A., Kuznetsov Y. (2020) New method for veterinary and sanitary control of defrosted meat and fish. *International Journal of Veterinary Science*, vol. 9, P. 317-319.
- 14 Piazza C. E., Mattos J. J., de Toledo-Silva G., Flores-Nunes F., Tadra-Sfeir M. Z., Trevisan R., Bittencourt A.C., Bicego M.C., Taniguchi S., Marques M.R.F., Dafre A.D., Bianchini A., de Souza M., Bainy A.C.D. (2019) Transcriptional effects in the estuarine guppy *Poecilia vivipara* exposed to sanitary sewage in laboratory and *in situ*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 182.
- 15 Pyz-Laukasik R., Szkucik K., Paszkiewicz W., Drozd Ł. (2018) Results of sanitary-veterinary examination of fish in Poland in 2010-2016. *Medycyna Weterynaryjna*, vol. 74, P. 301-303.
- 16 Renata P., Krzysztof S., Waldemar P., Lukasz D. (2018) Results of sanitary-veterinary examination of fish in Poland in 2010-2016. *Med. Weter.*, vol. 74 (5), P. 301-303.
- 17 Resursy poverhnostnyh i podzemnyh vod, ih ispol'zovanie i kachestvo. [Surface and groundwater resources, their use and quality] (2018) *Gosudarstvennyj vodnyj kadastr*, Almaty, P. 47.
- 18 Riad H. Khalil, Talaat T. Saad, Talal A. M. Abo Selema, Hany M. R. Abdel-Latif. (2015) Branchiomyces Demigrans Infection in Farm-Reared Common Carp (*Cyprinus Carpio L.*) and Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) at Different Localities in Egypt, With Special Emphasis to the Role of Environmental Stress Factors. *International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries (IJISABF)*, vol. 1, issue 1, P. 15-23.
- 19 Romero-Alvarez., Valverde-Munoz G., Galvopina M., Rojas M., Cevallos W., Kumazawa H., Takagi H., Sugiyama H. (2020) Liver fluke infections by amphimerus sp. (digenea: *Opisthorchiidae*) in definitive and fish intermediate hosts in manabi province, Ecuador. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, vol. 14(6), P. 1-18.
- 20 Saijuntha W., Sithithaworn P., Petney T.N., Andrews R.H. (2021) Foodborne zoonotic parasites of the family *Opisthorchiidae*. *Research in Veterinary Science*, vol. 135, P. 404-411.
- 21 Semenov V., Petryankin F., Kosyaev N., Nikitin D., Nikitina A., Tikhonova G., Grigorieva V. (2020) Veterinary-sanitary evaluation of fish when applying the Akwa-Biot-Norm nutrient feed additive. *Earth and Environmental Science*, № 433.
- 22 Smagulova A., Katokhin A., Mambetpayeva B., Kiyani V. (2021) A multiplex PCR assay for the differential detection of *Opisthorhis felinus* and *Metorchis bilis*. *Georgian medical news*, № 1(310), P. 176-182.
- 23 Vasil'ev D.A. Merchin S.V. (2006) Laboratornyj praktikum po veterinarno-sanitarnoj ekspertize ryby [Laboratory workshop on veterinary and sanitary examination of fish]. *Ul'yanovsk*, P. 10-20.
- 24 Zaibel I., Appelbaum Y., Britzi M., Schwartsburd F., Snyder S., Zilberg D. (2019) The effect of tertiary treated waste water on fish growth and health: Laboratory-scale experiment with *Poecilia reticulata* (guppy). *PLoS ONE*, P. 1-25.
- 25 Zhakenova ZH.ZH., Arystanov E.A. (2012) Parazitologicheskij analiz shchuki (*Esox Lucius L.*) v ozere Kopa [Parasitological analysis of pike (*Esox Lucius L.*) in Lake Kopa]. *VII Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferenciya «Dni nauki»*.
- 26 Zhang F., Wang J., Li J., Zeng Y. (2021) The selectivity for the second intermediate host (fish) of *Clonorchis sinensis* in the Jialing River basin, China – from the perspective of fish ecological viewpoint. *Biologia*, vol. 76(1), P. 91-100.

И.Т. Сmekenov\* , Т.М. Райке , С.В. Тилвалдиева 

НАО «Казахский национальный университет им. аль-Фараби», Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: smekenovizat@gmail.com

## ПОЛИКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К РЕКОМБИНАНТНОМУ ГОМОЛОГУ LST8/GBL *TRITICUM* *AESTIVUM*, КОМПОНЕНТУ TORC1 СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

LST8 является ключевым компонентом TOR сигнальной системы, центрального регулятора клеточной пролиферации и роста эукариотических клеток. В этом исследовании получены и охарактеризованы поликлональные антитела против LST8 *Triticum aestivum* (TaLST8). Выделен кДНК, кодирующая полный белок TaLST8. Выравнивание аминокислотной последовательности TaLST8 показало высокую гомологию с LST8 дрожжей (55% идентичность), LST8 человека (51% идентичность) и AtLST8 арабидопсиса (85% идентичность). Для получения антител против TaLST8, высококонсервативная часть гена TaLST8, кодирующая белок, состоящий из 150 аминокислот (talst8/150), была клонирована в pET-28c с гистидиновым концом (6xHis) и экспрессирована в *Escherichia coli*. Кроликов иммунизировали очищенным рекомбинантным белком TaLST8/150. Полученные антисыворотки очищали для повышения специфичности распознавания. Чувствительность и специфичность продуцируемых антител анализировали с помощью иммуноферментного анализа, иммуноблоттинга и иммунодот анализа. Иммуноферментный анализ показал, что иммунизация очищенным белком 6xHis-TaLST8/150 продуцировал поликлональные антитела с высоким титром (1:64000) и высокой специфичностью. Антитела против TaLST8 позволили специфичному выявлению нативного и денатурированного белка в иммуноблоттинг и иммунодот анализе.

Очищенные поликлональные антитела, полученные против рекомбинантного белка TaLST8/150, достаточно специфичны и чувствительны и могут быть полезным инструментом для будущего изучения функционирования TOR сигнальной системы в растениях пшеницы.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum*, LST8, экспрессия белка, поликлональные антитела, иммуноферментный анализ.

I.T. Smekenov\*, T.M. Raike, S.V. Tilvaldieva

NON-PROFIT JSC «Al-Farabi Kazakh National University», Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: smekenovizat@gmail.com

### Polyclonal polyclonal antibodies to the recombinant LST8/GβL homologue of *Triticum aestivum*, a component of the TORC1 signaling

LST8 is a key component of the TOR signaling system, a central regulator of cell proliferation and growth in eukaryotic cells. In this study, polyclonal antibodies against LST8 of *Triticum aestivum* (TaLST8) were produced and characterized. cDNA of the wheat TaLST8 was isolated by reverse transcription-PCR. The amino acid sequence alignment of TaLST8 showed high homology with yeast LST8 (55% identity), human LST8 (51% identity), and Arabidopsis AtLST8 (85% identity). To obtain antibodies against TaLST8, a highly conserved part of the TaLST8 gene encoding a 150 amino acid protein (talst8/150) was cloned into pET-28c with a histidine tag (6xHis) and expressed in *Escherichia coli*. Rabbits were immunized with purified TaLST8/150 recombinant protein. The obtained antisera were purified to increase the specificity of recognition. The sensitivity and specificity of the produced antibody was analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay, Western blotting and immunodot assay. Enzyme-linked immunosorbent assay showed that immunization with purified 6xHis-TaLST8/150 produced the high titer (1:64000) polyclonal antibodies with high specificity. Antibodies against TaLST8 allowed the sensitive detection of native and denatured protein in Western blot and immunodot assays.

The purified polyclonal antibody raised against the recombinant TaLST8/150 protein is sufficiently specific and sensitive and could be a useful tool for future insights of the functioning of the TOR signaling system in wheat plants.

**Key words:** *Triticum aestivum*, LST8, protein expression, polyclonal antibodies, enzyme immunoassay.



И.Т. Сметенов\*, Т.М. Райке, С.В. Тилвалдиева

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

\*e-mail: smekenovizat@gmail.com

### **TORC1 сигналды жүйесінің компоненті *Triticum aestivum* рекомбинантты LST8/GβL гомологына поликлоналды антиденелер алу**

LST8 – эукариот клеткаларының пролиферациясы мен өсуінің негізгі реттеушісі болып табылатын TOR сигналдық жүйесінің негізгі компоненті. Бұл жұмыста бидайдың LST8 (TaLST8) белогына спецификалық поликлоналды антиденелер алынды және оларға сипаттама берілді. Толық TaLST8 белогының қДНК гені кері транскриптаза негізіндегі ПТР арқылы бөлініп алынды. TaLST8 аминқышқылдарының реттілігін талдау, оның ашытқы (55% сәйкестік), адамның (51% сәйкестік) және арабидопсис өсімдігінің (85% сәйкестік) LST8 белоктарымен жоғары гомологияны көрсететіндігі анықталды. TaLST8-ге қарсы антиденелерді алу үшін, 150 аминқышқылынан тұратын белокты кодтайтын TaLST8 генінің жоғары деңгейдегі консервативті бөлігін (talst8/150) рЕТ-28с векторына клондадық. Қояндар тазартылған рекомбинантты TaLST8/150 белогымен иммунизацияланды. Алынған антисарысу, антиденелердің спецификалығын арттыру үшін аффиндік жолмен тазартылды. Өндірілген антиденелердің спецификалығын иммуноферменттік талдау, иммуноблоттинг және иммунодоттық зерттеу арқылы талданды. Иммуноферменттік талдау, тазартылған 6xHis-TaLST8/150 белогы негізінде иммунизациялау, жоғары титрлі (1:64000) және спецификалық дәрежесі жоғары поликлоналды антиденелердің пайда болуына алып келді. TaLST8-ге қарсы антиденелер иммуноблоттинг және иммунодоттық талдауларда денатурацияланбаған және денатурацияланған белокты нақты анықтауға мүмкіндік беретінін көрсетті.

Рекомбинантты TaLST8/150 белогына қарсы алынған тазартылған поликлоналды антиденелер айтарлықтай спецификалық көрсетті және болашақта бидай өсімдіктеріндегі TOR сигналдық жүйесінің қызметін түсіну бағытында пайдалы құрал болуы мүмкін.

**Түйін сөздер:** *Triticum aestivum*, LST8, протеин экспрессиясы, поликлоналды антиденелер, иммундық-ферменттік талдау.

### **Введение**

Мишень рапамицина (Target of rapamycin, TOR) представляет собой эволюционно консервативную протеинкиназу, которая служит как центральный регулятор роста клеток. В присутствии необходимых питательных веществ TOR способствует росту клеток, активируя анаболические процессы, такие как синтез белка и биогенез рибосом, а также подавляет катаболические процессы, такие как аутофагия [1, 2]. У дрожжей и животных TOR присутствует по крайней мере в двух структурно и функционально различных мультибелковых комплексах TORC1 и TORC2. TORC1 состоит из трех основных белков: TOR, KOG1/RAPTOR и LST8/GβL, тогда как TORC2 состоит из TOR, LST8/GβL и AVO3/RICTOR [3-5]. Наряду с TOR киназой, небольшой белок LST8/GβL молекулярной массой 34 кДа является единственным общим компонентом обоих комплексов.

LST8 был впервые идентифицирован у дрожжей в ходе скрининга мутаций, проявляющих синтетические летальные взаимодействия с аллелями *sec13* гена, который участвует в транспорте белков из эндоплазматического ретикула к аппарату Гольджи, а также необходим для

транспорта Gap1 пермеазы аминокислот от аппарата Гольджи к поверхности плазматической мембраны [6]. Белок LST8 состоит из нескольких WD40 повторов длиной приблизительно 40 аминокислот, которые участвуют в различных клеточных процессах, таких как передача сигнала и везикулярный транспорт [7]. WD повторы в LST8 приводят к формированию стабильной пропеллер подобной платформы, позволяющей взаимодействовать с несколькими белками-партнерами [8].

Показано, что мутантные по гену *lst8* дрожжи сверхчувствительны к рапамицину, ингибитору функций TORC1, и имеют дефекты клеточной стенки. В клетках животных белок mLST8 связывается с киназным доменом и активирует TOR киназу и, по-видимому, необходим для поддержания взаимодействия TOR-RAPTOR комплекса TORC1 в зависимости от наличия питательных веществ [4, 9].

Недавно было также показано, что mLST8 взаимодействует с киназой IкappaB и ингибирует фосфорилирование этой киназы путем привлечения PP2A и PP6 фосфатаз [10]. У мышей было продемонстрировано, что эмбрионы с делецией гена mLST8, выживают в течение некоторого времени и умирают из-за дефектов развития сосудов плода [11].

Геном арабидопсиса содержит один ген TOR (AtTOR) [12], два гена RAPTOR [13-17] и два гена LST8 [18]. Мутация с нокаутом гена TOR у *Arabidopsis* является летальной для эмбрионов [12]. Генетические исследования гомозиготных линий арабидопсиса по мутации в гене LST8-1 показало, что отсутствие этого гена приводит к замедлению вегетативного роста и преимущественному развитию верхушечной почки, и тормозило рост боковых почек [18]. При этом наблюдалось отклонения в развитии цветка. Кроме этого, мутантные растения проявляли значительную чувствительность к продолжительности светового дня и содержали более высокие концентрации крахмала и аминокислот, включая пролин и глютамин. У мутантных растений наблюдались низкие концентрации инозита и рафинозы. Следовательно, представляется вероятным, что белок LST8-1 играет в растениях важную роль в регуляции уровня аминокислот и синтеза миоинозита и рафинозы во время адаптации растений к длительному световому дню.

Гексаплоидная пшеница (AABBDD) является основной продовольственной культурой и является источником пищи для более чем 40% мирового населения [19]. Несмотря на экономическое значение пшеницы и необходимость ускоренного улучшения сельскохозяйственных культур на основе исследований геномики, сложность их геномов по сравнению с геномами других культур часто считалась слишком сложной для эффективных молекулярных исследований [20]. Однако, несмотря на прогресс в секвенировании полного генома пшеницы (IWGSC RefSeq v1.0), сам белок TOR и основные компоненты TORC1 сигнальной системы в пшенице все еще не обнаружены. Следовательно, компоненты и функционирование TOR-сигнальной системы у злаков практически не исследованы.

В этом исследовании впервые была выделена кДНК ген LST8/GβL пшеницы и экспрессирован в *E. coli*. Получены поликлональное антитела с использованием рекомбинантного белка в качестве антигена, и специфичность поликлональных антител анализирован с помощью дот-иммуноблоттинга, вестерн-блот гибридизации и иммуноферментного анализа.

## Материалы и методы исследования

### Растительный материал

Сорт пшеницы Казахстанская 19 получен из отдела генофонда полевых культур Казахского научно-исследовательского института сельско-

го хозяйства и растениеводства, г. Алматы, Казахстан.

### Синтез кДНК гена *TaLST8*

Выделение тотальной РНК проводили с использованием 100 мг свежих 2–3 дневных проростков (*Triticum aestivum*) сорта Казахстанская 19 с использованием реагента TRIzol (Invitrogen) в соответствии с инструкциями производителя. Выход и чистоту нуклеиновых кислот (НК) определяли спектрофотометрический при помощи nanodrop 2000с. Качественный анализ проводили с помощью электрофореза в 1% агарозном геле. Интактность и качество РНК подтверждалось присутствием двух интенсивных полос 28S и 18S рибосомной РНК в агарозных гелях, визуализированных в УФ-свете.

кДНК ген, кодирующий предполагаемый TaLST8 пшеницы (KAF7052037.1), был идентифицирован по ее гомологии с LST8/GβL человека (LST8, каталожный номер – NP\_001186102.1) и арабидопсиса (LST8, каталожный номер – NP\_188442.1). Праймеры, использованные для ОТ-ПЦР, приведены в таблице 1. ОТ-ПЦР-амплификацию фрагмента кДНК TaLST8 размером 951 п.н. проводили с использованием Dir\_LST8\_NdeI и Rev\_LST8\_EcoRI в качестве прямого и обратного праймеров соответственно. ПЦР проводили с Taq ДНК-полимеразой (Promega, Мэдисон, WI 53711 США). Полученные продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 1% агарозном геле и визуализировали путем окрашивания бромидом этидия.

кДНК первой цепи синтезировали обратной транскрипцией из 5 мкг общей РНК в качестве матрицы в следующих условиях: обратная транскриптаза RevertAid M-MuLV 200 ед. (Thermo Scientific, Литва), 0,5 мкг праймера олиго-dT<sub>18</sub> и 1 мкМ dNTP в конечном объеме 20 мкл. Аликвота кДНК первой цепи служила в качестве матрицы в ПЦР для синтеза второй цепи кДНК, а последующая амплификация двухцепочечной кДНК была выполнена с помощью ген-специфичных праймеров. Ампликоны разделяли электрофорезом в 1% -ном агарозном геле, и продукт ожидаемого размера экстрагировали из геля с помощью набора DNA Gel Extraction Kit (Thermo Scientific, Литва). Полный фрагмент клонировали в вектор pBluescript II SK (+) по сайтам рестрикции NdeI и EcoRI с помощью набора для быстрого лигирования ДНК (Thermo Scientific, Литва), и продукт лигирования трансформировали в компетентные клетки DH5α *E. coli*. Колонии

*E. coli*, несущие плазмиду со вставкой, подвергали скринингу путем комплементации гена *lacZ*, и плазмидные ДНК выделяли с помощью набора GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Thermo Scientific, Литва). Наличие вставки в выделен-

ных плаزمидах подтверждали с помощью ПЦР с ген-специфическими праймерами, а ее последовательность подтверждали секвенированием в обоих направлениях с прямым и обратным праймерами M13.

**Таблица 1** – Праймеры для ПЦР

Праймеры	Последовательности ДНК
Dir_LST8_NdeI	5'- CGGACCATATGGCTCAACCTTCTGTCAATTC -3'
Rev_LST8_EcoRI	5'- ATCCAGAATTCTTATGAGGGTGCCGATTCAGC -3'
Dir_Lst8_Ab	5'- GAATTCgaATGGCTCAACCTTCTGTCA -3'
Rev_Lst8_Ab	5'- CTCGAGAGCTGCCAAATCCCA -3'

### Экспрессии гена TaLST8/150 в бактериальных клетках и их хроматографическая очистка

Клонирование N-концевой части кДНК гена размером 450 п.н. проводили с помощью ПЦР с праймерами Dir\_Lst8\_Ab и Rev\_Lst8\_Ab (таблица 1). Амплифицированные фрагменты *TaLST8* клонировали в вектор в pET-28c по *EcoRI* и *XhoI* сайтам рестрикции. Полученная в результате экспрессионная плаزمида pET-28c-*talst8/150*, продуцировала гибридный белок с 6xHis-tag-последовательностью на N-конце. Белок TaLST8/150 очищали из штамма ArcticExpress (DE3) *E. coli*. Трансформированные клетки *E. coli* выращивали в среде LB до  $OD_{600} = 0.6$  при 37 °C, а затем индуцировали их экспрессию внесением 50 мкМ изопропил-D-1-тиогаляктопиранозидом (ИПТГ) и инкубацией клеток в течение ночи при 13 °C.

Бактерии собирали центрифугированием и осадок лизировали с использованием ультразвука Omni Ruptor 4000 (Omni Inc.), содержащем 50 мМ Трис-HCl (pH 8,0), 100 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА (pH 8,0), 5 % глицерина, 1 мМ DTT и 0,5 % NP-40, ингибиторы протеаз (Roche Diagnostics, Швейцария). Лизаты очищали центрифугированием при 16000 rpm в течение 60 мин при 4 °C, полученный супернатант разбавляли до 500 мМ NaCl и 10 мМ имидазола и наносили на колонку HisTrap HP column (GE Healthcare), заряженную  $Ni^{2+}$ . Очищенные образцы белка хранили при -20 °C в 50 % глицерине. Гомогенность белковых препаратов была подтверждена ДСН-ПААГ электрофорезом.

### Получение поликлональных антител против TaLST8

Поликлональные антитела против TaLST8 были индуцированы против неполного 6xHis-меченного рекомбинантного белка TaLST8/150. Для первичной иммунизации мы подкожно вводили приблизительно 0,5 мг очищенного белка, смешанного с равным объемом полного адьюванта Фрейнда (F5881, Sigma-Aldrich, Канада), в пять точек на спинной части каждого кролика. Затем реиммунизацию проводили трижды по 1 мл раствора, содержащего 0,5 мг очищенного белка в 0,5 мл элюирующего буфера и 0,5 мл неполного адьюванта Фрейнда (F5506, Sigma-Aldrich, Канада) с 14-дневным интервалом. Через одну неделю после последней инъекции собирали кровь и к 3 мл полученной кроличьей антисыворотке добавляли сульфат аммония для достижения 50 % насыщения. Осадок собирали центрифугированием, растворяли в очищенной воде и подвергали диализу против 10 мМ калий-фосфатного буфера (pH 7,0). Полученную фракцию иммуноглобулина наносили на колонку с гранулами протеин А агарозы, уравновешенную указанным выше буфером. После промывки тем же буфером антитела элюировали с 100 мМ глициновым буфером (pH 3,0). Фракции, содержащие IgG, объединяли, и pH доводили до 7,0 с помощью 1,0 М трис-основания. Полученную суспензию хранили при 4 °C.

### Определение титра антисыворотки с помощью метода ИФА

Титры антисыворотки определяли непрямой иммуноферментным анализом (ИФА). Каж-

дую лунку 96-луночного планшета для ИФА (Corning Inc., США) покрывали 1 мкг рекомбинантного белка (rTaLST8), растворенным в 100 мкл 50 мМ карбонатно-бикарбонатном буфере (pH 9,6), путем инкубации в течение ночи при 4°C. После трех промывок фосфатно-солевым буфером (PBS) с твин-буфером (PBST; 0,05 % Tween 20 в PBS, pH 7,4), лунки блокировали 100 мкл 3 % BSA растворенного в PBST в течение 1 ч при 37°C, а затем снова дважды промыли с PBST. После блокировки 100 мкл серийно-разведенной сыворотки против TaLST8/150 (от 1:1000 до 1:128000) добавляли в лунки, покрытые антигеном. Планшет покрывали липкой пластиковой пленкой и инкубировали 2 ч при комнатной температуре, а затем четыре раза промывали с PBST. На следующем этапе добавляли козы антитела против кроличьего IgG с разведением 1:30000, конъюгированные со щелочной фосфатазой (Sigma, Канада), в количестве 100 мкл/лунку и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. После промывки в каждую лунку добавляли 100 мкл свежеприготовленного раствора п-нитрофенилфосфата (субстрата) и планшет инкубировали при комнатной температуре в темном месте. Оптическую плотность измеряли при 405 нм ( $A_{405}$ ) на планшетном ридере Multiskan FC (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс, США). Титр антител определяется как максимальное разведение антисыворотки, при котором соотношение  $A_{405}$  ( $A_{405}$  сыворотки после иммунизации/ $A_{405}$  сыворотки перед иммунизацией) составляет >2:1. Все образцы тестировали трижды, причем каждый планшет содержал контрольные лунки с положительными образцами сыворотки и контрольные лунки с отрицательной контрольной сывороткой.

#### Дот-блоттинг

Для дот-блоттинга 1,0 мкг каждого белкового препарата наносили каплями на сухую поливинилдифторидную мембрану (Pierce PVDF Transfer Membrane) и сушили. Мембраны блокировали 5% обезжиренным сухим молоком в 1х солевом буфере, содержащего Tween 20 (TBST; 50 мМ Трис-НСl pH 7,6, 150 мМ NaCl, 0,005 % Tween 20) в течение 1 ч при комнатной температуре. После этого мембраны инкубировали в блокирующем буфере, содержащем анти- TaLST8 (разведение 1:10000 в блокирующем растворе с 0,1 % Tween 20) или поликлональные антитела против AtARP (разведение 1:5000 в блокирующем растворе с 0,1 % Tween 20) на качалке в течение ночи при 4°C. Затем мембраны трижды

промывали 1×TBST и инкубировали с козыми антикроличьими антителами (ab6702, Abcam, Кембридж, Великобритания) в разведении 1:20000 на качалке в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем каждую мембрану промывали пять раз в 10 мл 1×TBST по 5 мин каждый раз. Для выявления сигнала на пленке Kodak X-Omat (Carestream Health, США) использовался набор реагентов ECL (Bio-Rad, США). Белок TaLST8, меченный 6xHis, также был выявлен с помощью анти-His антителами (разведение 1:1000; sc-803; Santa Cruz Biotechnology, Техас, США), и антителами Ig кролика, конъюгированных с пероксидазой хрена (разведение 1:10000).

#### Экстракция растительного белка и вестерн-блоттинг

Зародыши пшеницы из 6-7-дневных проростков гомогенизировали в жидком азоте, а затем ресуспендировали в лизис буфере А, состоящем из 50 мМ трис-НСl, 50 мМ β-глицерофосфата натрия (pH 7,6), 25 мМ ЭДТА, 25 мМ EGTA, 50 мМ NaF, 5 мМ Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 10 % глицерина, 1 % Triton X-100, 1 мМ фенилметилсульфонилфторид и ингибиторы протеаз, не содержащие ЭДТА (Roche Applied Science, Пенцберг, Германия). Клеточный дебрис осаждали, и концентрацию белка определяли с использованием набора Bradford для анализа белков (Bio-Rad, Франция). Образцы общего белка (25 мкг) из каждого экстракта фракционировали с помощью ДСН-ПААГ в 10 % геле, а затем переносили электроблоттингом на PVDF мембрану с помощью Bio-Rad Minitransblot Cell. После этого мембрану осторожно встряхивали в блокирующем растворе, состоящем из 5 % молока и 0,1 % Tween 20 в 1 × TBS (Солевой трис-буфер: 50 мМ Трис-НСl [pH 7,5] и 20 мМ NaCl) в течение 1 ч при комнатной температуре. После удаления блокирующего раствора мембрану инкубировали в растворе антител против TaLST8 (1:20000) в течение ночи при 4°C. Мембрану промывали пять раз в 10 мл промывочного буфера (1 × TBS с 0,1 % Tween 20) каждый раз по 5 мин. Затем мембрану инкубировали в растворе 10 мл вторичного антитела (разведение 1:30000 в блокирующем растворе с 0,1 % Твина 20) в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем мембрану промывали пять раз в растворе 10 мл промывочного буфера по 5 мин каждый раз. Раствор рабочего субстрата готовили смешиванием равного объема раствора пероксида и раствора люминала/усилителя и использовали из расчета 0,1 мл/(см<sup>2</sup> площади блоттинга). Мембрану инкубировали в рабочем

растворе в течение 2 мин в темноте и экспонировали на пленку Kodak X-Omat.

### Результаты исследования и их обсуждение

С использованием поисковой системы tBLASTn в базе данных NCBI по гомологии к LST8/GβL человека (LST8, каталожный номер – NP\_001186102.1) и арабидопсиса (LST8, каталожный номер – NP\_188442.1) идентифициро-

вали κДНК ген, кодирующий предполагаемого LST8 *Triticum aestivum* (TaLST8, каталожный номер – KAF7052037.1) κДНК. TaLST8 содержит одну рамку считывания из 316 аминокислот (рис. 1). Расчетная молекулярная масса составляет 35,3 кДа. Выравнивание аминокислотной последовательности TaLST8 показало высокую гомологию с LST8 дрожжей (55% идентичность), LST8 человека (51% идентичность) и AtLST8 арабидопсиса (85% идентичность) (рис. 1).

<b>HsLST8</b>	MNTSPGTVGSDPVILATAGYDHTVRFWQAHSGICTRTVQHQDSQVNALEVT PDRSMIAAA	<b>60</b>
<b>ScLST8</b>	-----MSVILVSAGYDHTIRFWEALTGVCSRTIQHSDSQVNRLEITNDKKLLATA	<b>50</b>
<b>TaLST8</b>	-----MAQPSVILATASYDHTIRFWEAKSGRCYRTIQYPPDSQVNRLEITPDKRFLAAA	<b>53</b>
<b>AtLST8</b>	-----MSQPSVILATASYDHTIRFWEAETGRCYRTIQYPPDSHVNRLLEITPKHYLAAA	<b>53</b>
	***.:*.****:***:* : * * ***: * **:* * : * : *	
<b>HsLST8</b>	GYQHIRMVDLNSNPN-IISYDGVNKNIASVGFHEDGRWMTGGEDCTARIWDLRSRNLQ	<b>119</b>
<b>ScLST8</b>	GHQNVRLYDIRTNPNPVASFEGHRGNVTSVVSFQQDNRWMTSSEDGTIKVWDVRSF--S	<b>108</b>
<b>TaLST8</b>	GNSHIRLFDVNSNSPQPVISYDSHTSNVMAVGFHCDGNWMTSGSEDGTVRIWDLRTA--T	<b>111</b>
<b>AtLST8</b>	CNPHIRLFDVNSNSPQPVMTYDSHTNNVMAVGFQCDAKWMTSGSEDGTVKIWDLRAP--G	<b>111</b>
	:*:*:*:*.:.*: : : : : . * : :*. * : * .** :.:.** * :*:*:*	
<b>HsLST8</b>	CQRI FQVNAPINCVCVLPHPNQAELIVGDSGAIHIWDLKTDH-NEQLIPEPEVSITSAHID	<b>178</b>
<b>ScLST8</b>	I PRNYKHNAFVNEVVIHPNQGELI SCDRDGNIRIWDLGENQCTHQLTPEDDTSLSQSLSMA	<b>168</b>
<b>TaLST8</b>	CQREYESRAAVNTVVLHPNQKELISGDQNGNIRVWDLAANSCSCELVPEVDTAIRSLTVM	<b>171</b>
<b>AtLST8</b>	CQKEYESVAAVNTVVLHPNQTELSGDQNGNIRVWDLRANSCSCELVPEVDTAVRSLTVM	<b>171</b>
	: : : * : * * :**** * * * :.* * :*:*** : . : * ** : : : * :	
<b>HsLST8</b>	PDASYMAAVNSTGNCYVWNL TGGIGDEV TQLI PKTKIPAHTRYALQCRFSPD----STLL	<b>234</b>
<b>ScLST8</b>	SDGSMLAAANTKGCYVWEMPNHT--DASHLKPVTKFRAHSTYITRI LLSSD----VKHL	<b>222</b>
<b>TaLST8</b>	WDGSMVVAANNRGTCTYVWRL LKGTQ-TITSEFPLHKLQAHGDI LKCLLSPEFCDPNRYL	<b>230</b>
<b>AtLST8</b>	WDGTMVVAANNRGTCTYVWRL LRGKQ-TMTEFEPHKLQAHNGH I LKCLLSPA----NKYL	<b>226</b>
	*.: :*. * .****.: : : * * : ** : : : * *	
<b>HsLST8</b>	ATCSADQTCIKWRTS-NFSLMTELSIKSGNPGESSRGWMMWGCAFSGDSQYIVTASSDNLA	<b>293</b>
<b>ScLST8</b>	ATCSADHTARVWSIDDDFKLETTL-----DGHQRWVWDCAFSADSAYLV TASSDHVY	<b>274</b>
<b>TaLST8</b>	ATASSDHTVKIWNVD-GFKLEKTL-----VGHQRWVWDCVFSVDGAYLITASSDTTA	<b>281</b>
<b>AtLST8</b>	ATASSDKTVKIWNVD-GFKLEKVL-----TGHQRWVWDCVFSVDGEFLVTASSDMTA	<b>277</b>
	**.*:*: * :*: . .*. * . * : : * :*. * .** * . :*:***** .	
<b>HsLST8</b>	RLWCVETGEIKREYGGHQKAVVCLAFNDSVLG---	<b>325</b>
<b>ScLST8</b>	RLWDLSTREIVRQYGGHHKGAVCVALNDV-----	<b>303</b>
<b>TaLST8</b>	RLWMTSTGEAIRVYQGGHKA TVCCALHDGAESAPS	<b>316</b>
<b>AtLST8</b>	RLWMPAGKEVKVYQGGHKA TVCCALHD-----	<b>305</b>
	*** : : : : * ***:*. ** * : : *	

Обозначение: Звездочки (\*), двоеточий (:), и точки (.) указывают на идентичные, консервативные и полуконсервативные аминокислотные участки, соответственно.

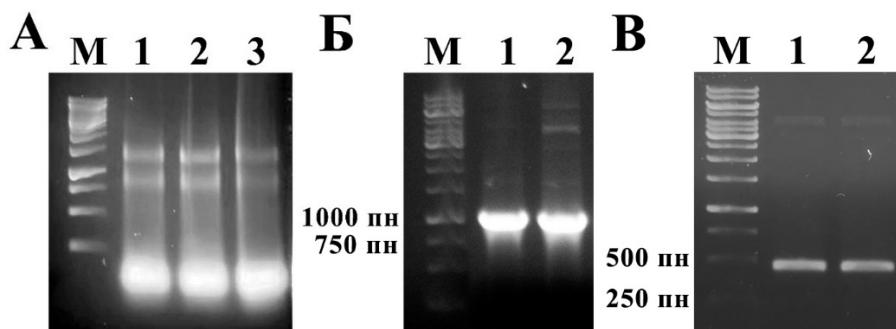
**Рисунок 1** – Сравнительное выравнивание аминокислотной последовательности TaLST8 с LST8 человека, *Saccharomyces cerevisiae* и *Arabidopsis thaliana*

В последующих экспериментах мы выделяли κДНК TaLST8 с помощью ОТ-ПЦР (см. раздел «Материалы и методы исследования»). В качестве источника мРНК для реакции ОТ-ПЦР были выбраны листья 2–3 дневных проростков пшеницы. Для этого тотальный препарат РНК выделяли при помощи TRIzol метода,

как описано в разделе методы исследования. Электрофоретический анализ РНК на 0.8% агарозном геле показал наличие 28S рРНК и 18S рРНК (рис. 2А). Далее препарат РНК использовали в качестве матрицы для синтеза первой цепи κДНК с помощью ОТ-ПЦР с использованием 3'-праймера, содержащего олиго(dT<sub>18</sub>)

последовательность. В последующем кДНК амплифицировали с помощью ПЦР с ген-специфическими праймерами. Из приведенной электрофореграммы (рис. 2Б) видно, что главным продуктом амплификации является кДНК с ожидаемым размером около 971 пар нуклеотидов, что соответствующий длине кДНК гена TaLST8. Далее фрагмент кДНК лигировали с линеаризованным вектором pBluescriptII SK

(+). Продукты лигирования pBluescriptII SK (+)/*talst8* трансформировали в компетентные клетки *E. coli* DH5 $\alpha$ . Затем, плазмиды выделенные из ампициллин устойчивых колоний секвенировали. В результате была получена полная нуклеотидная последовательность кДНК предполагаемого гена TaLST8 длиной 952 пн, что полностью соответствует к предполагаемой открытой рамке считывания TaLST8.



А – Препараты тотальной РНК; Б – Амплификация кДНК гена TaLST8; В – Амплификация N-концевой части кДНК гена TaLST8. Обозначения: М – маркерные ДНК, размеры которых указаны в нуклеотидах слева; 1–3 – образцы.

**Рисунок 2** – Амплификация кДНК TaLST8 с помощью ОТ-ПЦР

Если доступно достаточное количество полноразмерного белка, иммунизация полноразмерным белком в форме нативного, рекомбинантного или слитого может быть удобным и экономически эффективным вариантом. Одной из характеристик больших молекул антигенов является то, что они вызывают активацию множества продуцирующих антитела клонов В-клеток. Использование полноразмерного рекомбинантного белка в качестве антигена для получения антител является эффективным вариантом. Поликлональная смесь полученных антител может затем распознавать несколько эпитопов на антигене. В результате существует очень высокая вероятность того, что антитела по крайней мере против одного из этих эпитопов будут связываться с нативным белком в целевом анализе. Однако, недостатком этого подхода является то, что, поскольку антитела генерируются против нескольких эпитопов, существует более высокая вероятность того, что антитела против некоторых из этих эпитопов могут распознавать другие белки, содержащие гомологичные эпитопы. Иммунизация с последовательностью, соответствующей конкретной области полноразмерного белка может привести к генерации антител против вы-

бранных высоко консервативной части белкового антигена [21].

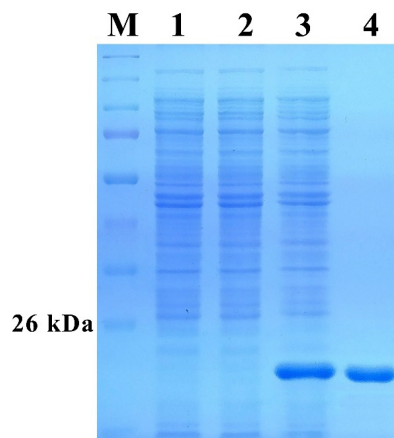
В связи с этим мы в дальнейших исследованиях решили использовать в качестве антигена высоко консервативную часть TaLST8, состоящей из 150 аминокислот (*talst8/150*). Для этого с использованием в качестве матрицы рекомбинантной плазмиды pBluescriptII SK (+)/*talst8*, нами была амплифицирована часть гена TaLST8, кодирующая белок, состоящий из 150 аминокислот начиная с N-конца, с применением комбинации праймеров Dir\_Lst8\_Ab и Rev\_Lst8\_Ab (рис. 2В; таблица 1), содержащие сайты рестрикции *EcoRI* и *XhoI* соответственно. Продукт ПЦР использовали, обозначенный нами как *talst8/150* для последующего клонирования в вектор pET-28с. Для этого ПЦР продукт был обработан соответствующими сайтами рестрикции и элюированы из агарозного геля и клонированы в вектор pET-28с.

Наиболее широко используемые рекомбинантные системы для получения иммуногенных антигенов – это гибридные белки, меченные глутатион-S-трансферазой (GST) [22]. Тем не менее, у некоторых животных есть антитела, реагирующие с частью GST гибридного белка; следо-

вательно, все полученные антисыворотки необходимо проверять не только на рекомбинантный антиген, но и отдельно на GST. Полигистидиновая метка широко и предпочтительно используется для получения рекомбинантного иммуногена из-за ее низкой иммуногенности и довольно слабого влияния на функцию или активность белка [23]. Поэтому мы решили использовать систему экспрессии с гистидиновой меткой для получения рекомбинантного TaLST8/150 белка. Вектор для экспрессии гена *talst8/150*, кодирующий 6xHis-метку на N-конце белка, был сконструирован, как описано в разделе «Материалы и методы исследования». Плазмида, экспрессирующая клонированный ген *talst8/150*, была обозначена как pET-28c-*talst8/150*. Для достижения сильных иммунологических ответов против TaLST8/150 желательнее экспрессировать его как хорошо растворимый белок. С целью улучшения растворимости рекомбинантного белка сначала были протестированы три экспрессионных штамма *E. coli*: BL21(DE3), Rosetta-gami 2(DE3) и ArcticExpress(DE3).

Плазмиду pET-28c-*talst8/150* трансформировали в клетки *E. coli* с последующим культивированием стандартным способом, описанным в разделе «Материалы и методы исследования». Экспрессию белка анализировали методом ДСН-ПААГ. Общее количество белка, продуцируемого штаммами *E. coli* BL21(DE3) и Rosetta-gami 2(DE3), было ниже, и интересующий белок оставался в основном в нерастворимой фракции. Поэтому эти компетентные клетки не использовались в дальнейших экспериментах. Наиболее растворимая форма белка была достигнута при экспрессии в компетентных клетках *E. coli* Arctic Express (DE3). С точки зрения растворимости белка, 16 часов постиндукционной инкубации при 13°C оказались оптимальными для получения наиболее растворимого белка. При анализе ДСН-ПААГ одна мажорная белковая полоса с молекулярной массой около 21,9 кДа выявила основное различие между лизатами бактериальных клеток индуцированных и неиндуцированных с ИПТГ. Эта полоса отчетливо появлялась после индукции во всех выбранных клонах, несущих *talst8/150* (рис. 2, дорожка 3). Белок TaLST8/150, слитый с 6xHis-меткой на N-конце, очищали от лизата бактериальных клеток с помощью аффинной хроматографии на колонке HisTrap HP объемом 1 мл (GE Healthcare). Рекомбинантный белок TaLST8/150, выглядел в виде полосы (после очистки с помощью аффинной хроматографии и ДСН-ПААГ) с приблизительной молеку-

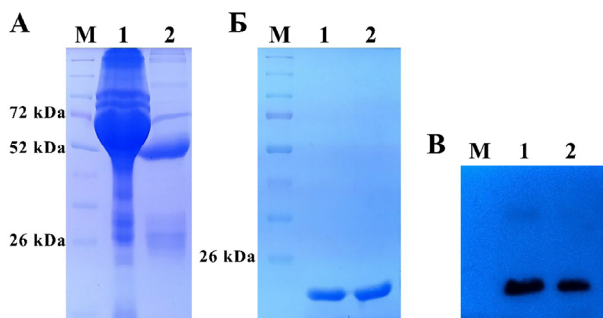
лярной массой 21,9 кДа (рис. 3, дорожка 4). Выход рекомбинантного белка 6xHis- TaLST8/150 составил 4 мг на литр бактериальной культуры.



Обозначена: М – Стандартный белковый молекулярный маркер; 1 – Белковый лизат из нетрансформированных клеток *E. coli*; 2 – Белковый лизат *E. coli* до индукции; 3 – Лизат тех же клеток после индукции с ИПТГ; 4 – Очищенный белок TaLST8/150.

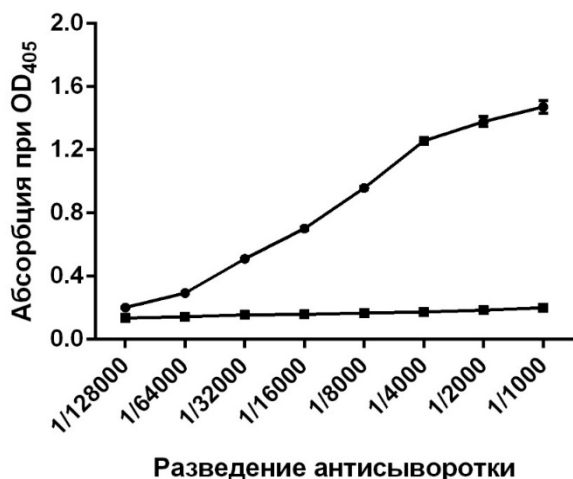
**Рисунок 3** – Очистка белка TaLST8/150 сорта пшеницы Казахстанская 19

Далее, очищенный белок 6xHis-TaLST8/150 использовали в качестве антигена для получения поликлональных антител против TaLST8/150 пшеницы. После четырехкратной иммунизации кроликов очищенным белком 6xHis-TaLST8/150, поликлональные антитела против TaLST8/150 сначала осаждали различными концентрациями сульфата аммония и затем очищали на колонке с протеином А-агарозой, следуя инструкциям производителя. Очищенные антитела показали высокую чистоту и состояли из двух полос: одна представляла собой тяжелую цепь (~ 50 кДа), а другая – легкую цепь (~ 25 кДа), по анализу с помощью ДСН-ПААГ в 10% геле (рис. 4А, дорожка 2). Титры полученных антисывороток к TaLST8 тестировали с помощью непрямого ELISA метода. Результаты ELISA показали, что титр очищенных поликлональных антител против TaLST8 составляет 1:64000, что позволяет предположить, что очищенные поликлональные антитела имеют хорошую чувствительность к TaLST8/150 (рис. 5). Титр антител определяется как максимальное разведение антисыворотки, при котором соотношение  $A_{405}$  ( $A_{405}$  сыворотки после иммунизации/ $A_{405}$  сыворотки перед иммунизацией) составляет >2:1.



**А** – Очистка кроличьих поликлональных антител. Обозначения: М – стандартный маркер молекулярной массы белков; 1 – сыворотка до очистки, 2 – сыворотка после очистки; **Б** – ДСН-ПААГ очищенного рекомбинантного белка TaLST8/150; **В** – Вестрн блоттинг. Обозначения: 1-2 – образцы.

**Рисунок 4** – Очистка и анализ поликлональных антител к TaLST8/150



**Рисунок 5** – Титр антисыворотки по данным ИФА

Был проведен вестерн-блоттинг для проверки реактивности и специфичности очищенных поликлональных антител с использованием различных количеств очищенного белка TaLST8/150 (1 и 2 мкг). Очищенная антисыворотка реагировала при различных разведениях (от 1:1000 до 1:30000) с равным количеством соответствующих рекомбинантных белков. В сыворотке кроликов до иммунизации, которая использовалась в качестве отрицательного контроля, не было обнаружено положительного сигнала. Вестерн-блоттинг с антителами против TaLST8/150 выявил интенсивную полосу белка соответствующей молекулярной массе TaLST8/150 (рис. 4В).

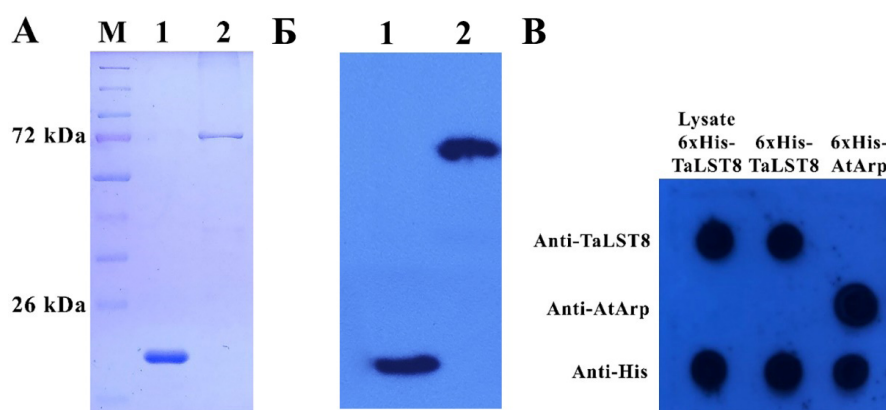
Важно проверить, являются ли антитела специфичными к нативному, денатурированному состоянию белка или к денатурированному белку, поскольку денатурирующая обработка образцов белка перед ДСН-ПААГ может изменить доступность эпитопа, тем самым влияя на аффинность антител [24]. Способность, полученных поликлональных антител против TaLST8/150, идентифицировать денатурированные формы TaLST8/150, тестировали с помощью иммунодот анализа с использованием рекомбинантного белка 6xHis-TaLST8/150. Очищенный рекомбинантный белок 6xHis-TaLST8/150, который использовали для иммунизации кроликов, и лизат *E. coli*, содержащий белок 6xHis-TaLST8/150, наносили на мембрану PVDF в виде отдельных точек.

Очищенный рекомбинантный белок AtARP с 6xHis-меткой [25], который был клонирован и помечен так же, как и белок TaLST8/150, был нанесен в качестве отрицательного контроля. Эти контрольные белки также использовали для тестирования специфичности и исключения возможности того, что поликлональные антитела могут узнать и связываться с 6xHis меткой. Очищенные 6xHis-меченные белки TaLST8/150 и AtARP сначала анализировали с помощью ДСН-ПААГ (рис. 6А), а затем с помощью иммунодот-гибридизации (рис. 6В).

Дот-блоты лизата *E. coli*, содержащего 6xHis-TaLST8/150, и очищенного рекомбинантного белка 6xHis-TaLST8/150 давали сильные сигналы с поликлональными антителами анти-TaLST8/150. Дот-блоты контрольного рекомбинантного белка 6xHis-ARP дали отрицательный результат, тогда как антитела анти-6xHis распознали оба белка: 6xHis-TaLST8/150 и 6xHis-ARP. Затем мы оценили способность поликлональных антител анти-TaLST8/150 связывать денатурированные TaLST8/150 белки с помощью вестерн-блоттинга. Поликлональные антитела против TaLST8/150 распознают денатурированный 6xHis-TaLST8/150, но не рекомбинантный белок 6xHis-ARP (рис. 6Б).

Анализ дот-блоттинга и вестерн-блоттинга показал, что антитела против TaLST8/150 распознают как не денатурированный, так и денатурированный белок TaLST8/150. Кроме этого, эти результаты также исключают возможность того, что поликлональные антитела против TaLST8/150 распознают метку 6xHis, которая присутствовала в 6xHis-TaLST8/150 иммуногене, использованного для создания поликлональных антител.





**А** – ДСН-ПААГ очищенных белков в 10% геле. Обозначения: М – стандартный маркер молекулярной массы белков; 1 – очищенный белок 6xHis-TaLST8; 2 – очищенный белок 6xHis-AtArp; **Б** – Вестерн-блоттинг с поликлональными антителами анти-TaLST8 против денатурированных белков rTaLST8. В Вестерн-блотах 1 мкг очищенного 6xHis-TaLST8 загружали в первую дорожку и 1 мкг очищенного 6xHis-AtArp во вторую дорожку; **В** – Дот-блот-анализ антитела против нативного и рекомбинантного белка 6xHis-TaLST8. Антитела анти-TaLST8, анти-AtArp и анти-His оценивали с помощью дот-блоттинга с очищенными белками 6xHis-TaLST8 и 6xHis-AtArp, а также лизатом клеток *E. coli*, экспрессирующих 6xHis-TaLST8.

**Рисунок 6** – ДСН-ПААГ и иммунодот анализ поликлональных антител против TaLST8/150 с помощью нативных и денатурированных белков TaLST8/150.

Таким образом, очищенные поликлональные антитела, полученные против рекомбинантного белка TaLST8/150, достаточно специфично и чувствительно и может быть полезным инструментом для будущего понимания функционирования TOR сигнальной системы в растениях пшеницы.

### Заключение

Выделен кДНК ген TaLST8 и экспрессирован в системе *E. coli*. Получены поликлональные антитела против LST8 *Triticum aestivum* (TaLST8) путем иммунизации кроликов с использованием рекомбинантного 6xHis-TaLST8/150 белка. Показано, что поликлональные антитела эффективны в иммуноферментном анализе, иммуноблоттинге и иммунодот исследованиях. Представленные результаты указывают на то, что использование рекомби-

нантного антигена TaLST8/150, генерированного в прокариотической системе экспрессии, не приводит к вариациям в реакциях распознавания антиген-антитело для TaLST8.

Очищенные и охарактеризованные антитела специфичные к TaLST8 может быть полезным инструментом для дальнейших исследований функционирования TOR сигнальной системы в этой очень важной группе растений.

### Конфликт интересов

Авторы не имеют конфликтов интересов.

### Источник финансирования

Работа выполнена в рамках грантового финансирования Министерства образования и науки Республики Казахстан по проекту AP09259754.

### Литература

- 1 Loewith R., Hall M.N. Target of rapamycin (TOR) in nutrient signaling and growth control // *Genetics*. – 2011. – Vol. 189. – P. 1177–1201.
- 2 Saxton R.A., Sabatini D.M. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease // *Cell*. – 2017. – Vol. 168. – P. 960–976.
- 3 Hara K., Maruki Y., Long X., Yoshino K., Oshiro N., Hidayat S., Tokunaga C., Avruch J., Yonezawa K. Raptor, a binding partner of target of rapamycin (TOR), mediates TOR action // *Cell*. – 2002. – Vol. 110. – P. 177–189.

- 4 Kim D.H., Sarbassov D.D., Ali S.M., Latek R.R., Guntur K.V., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Sabatini D.M. GbetaL, a positive regulator of the rapamycin-sensitive pathway required for the nutrient-sensitive interaction between raptor and mTOR // *Mol. Cell.* – 2003. – Vol. 11. – P. 895–904.
- 5 Loewith R., Jacinto E., Wullschlegel S., Lorberg A., Crespo J.L., Bonenfant D., Oppliger W., Jenoe P., Hall M.N. Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in cell growth control // *Mol. Cell.* – 2002. – Vol. 10. – P. 457–468.
- 6 Roberg K.J., Bickel S., Rowley N., Kaiser C.A. Control of amino acid permease sorting in the late secretory pathway of *Saccharomyces cerevisiae* by SEC13, LST4, LST7 and LST8 // *Genetics.* – 1997. – Vol. 147. – P. 1569–1584.
- 7 Neer E.J., Schmidt C.J., Nambudripad R., Smith T.F. The ancient regulatory-protein family of WD-repeat proteins // *Nature.* – 1994. – Vol. 371. – P. 297–300.
- 8 Smith T.F., Gaitatzes C., Saxena K., Neer E.J. The WD repeat: A common architecture for diverse functions // *Trends Biochem. Sci.* – 1999. – Vol. 24. – P. 181–185.
- 9 Adami A., Garcí'a-Alvarez B., Arias-Palomo E., Barford D., Llorca O. Structure of TOR and its complex with KOG1 // *Mol. Cell.* – 2007. – Vol. 27. – P. 509–516.
- 10 You D.J., Kim Y.L., Park C.R., Kim D.K., Yeom J., Lee C., Ahn C., Seong J.Y., Hwang J.I. Regulation of Ikb kinase by Gbl through recruitment of the protein phosphatases // *Mol. Cells.* – 2010. – Vol. 30. – P. 527–532.
- 11 Guertin D.A., Stevens D.M., Thoren C.C., Burds A.A., Kalaany N.Y., Moffat J., Brown M., Fitzgerald K.J., Sabatini D.M. Ablation in mice of the mTORC components raptor, rictor, or mLST8 reveals that mTORC2 is required for signaling to Akt-FOXO and PKCalpha, but not S6K1 // *Dev. Cell.* – 2006. – Vol. 11. – P. 859–871.
- 12 Menand B., Desnos T., Nussaume L., Berger F., Bouchez D., Meyer C., Robaglia C. Expression and disruption of the Arabidopsis TOR (target of rapamycin) gene // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2002. – Vol. 99. – P. 6422–6427.
- 13 Anderson G. H., Veit B., Hanson M. R. The Arabidopsis AtRaptor genes are essential for post-embryonic plant growth // *BMC Biology.* – 2005. – Vol. 3. – P. 12.
- 14 Deprost D., Truong H. N., Robaglia C., Meyer C. An Arabidopsis homolog of RAPTOR/KOG1 is essential for early embryo development // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* – 2005. – Vol. 326. – P. 844–850.
- 15 Mahfouz M.M., Kim S., Delauney A.J., Verma D.P. Arabidopsis TARGET OF RAPAMYCIN interacts with RAPTOR, which regulates the activity of S6 kinase in response to osmotic stress signals // *The Plant Cell.* – 2006. – Vol. 18. – P. 477–490.
- 16 Rexin D., Meyer C., Robaglia C., Veit B. TOR signalling in plants // *Biochemical Journal.* – 2015. – Vol. 470. – P. 1–14.
- 17 Salem M.A., Li Y., Bajdzienko K., Fisahn J., Watanabe M., Hoefgen R., Schottler M.A., Giavalisco P. RAPTOR controls developmental growth transitions by altering the hormonal and metabolic balance // *Plant Physiology.* – 2018. – Vol. 177. – P. 565–593.
- 18 Moreau M., Azzopardi M., Clement G., Dobrenel T., Marchive C., Renne C., Martin-Magniette M.L., Taconnat L., Renou J.-P., Robaglia C., Meyer C. Mutations in the Arabidopsis homolog of LST8/GbetaL, a partner of the target of Rapamycin kinase, impair plant growth, flowering, and metabolic adaptation to long days // *The Plant Cell.* – 2012. – Vol. 24. – P. 463–481.
- 19 Giraldo P., Benavente E., Manzano-Agugliaro F., Gimenez E. Worldwide research trends on wheat and barley: A bibliometric comparative analysis // *Agronomy.* – 2019. – Vol. 9. – P. 352.
- 20 Gupta P.K., Mir R.R., Mohan A., Kumar J. Wheat Genomics: Present Status and Future Prospects // *Int J Plant Genomics.* – 2008. – Vol. 2008. – P. 896451.
- 21 Bordeaux J., Welsh A.W., Agarwal S., Killiam E., Baquero M.T., Hanna J.A., Anagnostou V.K., Rimm D.L. Antibody validation // *Biotechniques.* – 2010. Vol. 48. – P. 197–209.
- 22 Zanoni R.G., Nauta I.M., Pauli U., Peterhans E. Expression in *Escherichia coli* and sequencing of the coding region for the capsid protein of Dutch maedi-visna virus strain ZZV 1050: application of recombinant protein in enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of caprine and ovine lentiviruses // *J Clin Microbiol.* – 1991. – Vol. 29. – P. 1290–1294.
- 23 Molinkova D. Purification of *Escherichia coli*-expressed HIS-tagged Maedi-Visna p25 core antigen by Ni<sup>2+</sup>-chelate affinity chromatography // *Vet Med-Czech.* – 2001. – Vol. 46. – P. 50–54.
- 24 Bass J.J., Wilkinson D.J., Rankin D., Phillips B.E., Szewczyk N.J., Smith K., Atherton P.J. An overview of technical considerations for Western blotting applications to physiological research // *Scand J Med Sci Sports.* – 2017. – Vol. 27. – P. 4–25.
- 25 Akishev Z., Taipakova S., Joldybayeva B., Zutterling C., Smekenov I., Ishchenko A.A., Zharkov D.O., Bissenbaev A.K., Saparbaev M. The major Arabidopsis thaliana apurinic/apyrimidinic endonuclease, ARP is involved in the plant nucleotide incision repair pathway // *DNA Repair.* – 2016. – Vol. 48. – P. 430–421.

## References

- 1 Adami A., Garcí'a-Alvarez B., Arias-Palomo E., Barford D., Llorca O. (2007) Structure of TOR and its complex with KOG1. *Mol. Cell.*, vol. 27, pp. 509–516.
- 2 Akishev Z., Taipakova S., Joldybayeva B., Zutterling C., Smekenov I., Ishchenko A.A., Zharkov D.O., Bissenbaev A.K., Saparbaev M. (2016) The major Arabidopsis thaliana apurinic/apyrimidinic endonuclease, ARP is involved in the plant nucleotide incision repair pathway. *DNA Repair.*, vol. 48, pp. 430–421.
- 3 Anderson G. H., Veit B., Hanson M. R. (2005) The Arabidopsis AtRaptor genes are essential for post-embryonic plant growth. *BMC Biology.*, vol. 3, pp. 12.
- 4 Bass J.J., Wilkinson D.J., Rankin D., Phillips B.E., Szewczyk N.J., Smith K., Atherton P.J. (2017) An overview of technical considerations for Western blotting applications to physiological research. *Scand J Med Sci Sports.*, vol. 27, pp. 4–25.
- 5 Bordeaux J., Welsh A.W., Agarwal S., Killiam E., Baquero M.T., Hanna J.A., Anagnostou V.K., Rimm D.L. (2010) Antibody validation. *Biotechniques.*, vol. 48, pp. 197–209.
- 6 Deprost D., Truong H. N., Robaglia C., Meyer C. (2005) An Arabidopsis homolog of RAPTOR/KOG1 is essential for early embryo development. *Biochemical and Biophysical Research Communications.*, vol. 326, pp. 844–850.

- 7 Giraldo P., Benavente E., Manzano-Agugliaro F., Gimenez E. (2019) Worldwide research trends on wheat and barley: A bibliometric comparative analysis. *Agronomy*, vol. 9, pp. 352.
- 8 Guertin D.A., Stevens D.M., Thoreen C.C., Burds A.A., Kalaany N.Y., Moffat J., Brown M., Fitzgerald K.J., Sabatini D.M. (2006) Ablation in mice of the mTORC components raptor, rictor, or mLST8 reveals that mTORC2 is required for signaling to Akt-FOXO and PKC $\alpha$ , but not S6K1. *Dev. Cell.*, vol. 11, pp. 859–871.
- 9 Gupta P.K., Mir R.R., Mohan A., Kumar J. (2008) Wheat Genomics: Present Status and Future Prospects. *Int J Plant Genomics*. vol. 2008, pp. 896451.
- 10 Hara K., Maruki Y., Long X., Yoshino K., Oshiro N., Hidayat S., Tokunaga C., Avruch J., Yonezawa K. (2002) Raptor, a binding partner of target of rapamycin (TOR), mediates TOR action. *Cell.*, vol. 110, pp. 177–189.
- 11 Kim D.H., Sarbassov D.D., Ali S.M., Latek R.R., Guntur K.V., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Sabatini D.M. (2003) GbetaL, a positive regulator of the rapamycin-sensitive pathway required for the nutrient-sensitive interaction between raptor and mTOR. *Mol. Cell.*, vol. 11, pp. 895–904.
- 12 Loewith R., Hall M.N. (2011) Target of rapamycin (TOR) in nutrient signaling and growth control. *Genetics*, vol. 189, pp. 1177–1201.
- 13 Loewith R., Jacinto E., Wullschlegel S., Lorbeg A., Crespo J.L., Bonenfant D., Oppliger W., Jenoe P., Hall M.N. (2002) Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in cell growth control. *Mol. Cell.*, vol. 10, pp. 457–468.
- 14 Mahfouz M.M., Kim S., Delauney A.J., Verma D.P. (2006) Arabidopsis TARGET OF RAPAMYCIN interacts with RAPTOR, which regulates the activity of S6 kinase in response to osmotic stress signals. *The Plant Cell.*, vol. 18, pp. 477–490.
- 15 Menand B., Desnos T., Nussaume L., Berger F., Bouchez D., Meyer C., Robaglia C. (2002) Expression and disruption of the Arabidopsis TOR (target of rapamycin) gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 99, pp. 6422–6427.
- 16 Molinkova D. (2001) Purification of Escherichia coli-expressed HIS-tagged Maedi-Visna p25 core antigen by Ni<sup>2+</sup>-chelate affinity chromatography. *Vet Med-Czech.*, vol. 46, pp. 50–54.
- 17 Moreau M., Azzopardi M., Clement G., Dobrenel T., Marchive C., Renne C., Martin-Magniette M.L., Taconnat L., Renou J.-P., Robaglia C., Meyer C. (2012) Mutations in the Arabidopsis homolog of LST8/GbetaL, a partner of the target of Rapamycin kinase, impair plant growth, flowering, and metabolic adaptation to long days. *The Plant Cell.*, vol. 24, pp. 463–481.
- 18 Neer E.J., Schmidt C.J., Nambudripad R., Smith T.F. (1994) The ancient regulatory-protein family of WD-repeat proteins. *Nature*, vol. 371, p. 297–300.
- 19 Rexin D., Meyer C., Robaglia C., Veit B. (2015) TOR signalling in plants. *Biochemical Journal*, vol. 470, pp. 1–14.
- 20 Roberg K.J., Bickel S., Rowley N., Kaiser C.A. (1997) Control of amino acid permease sorting in the late secretory pathway of *Saccharomyces cerevisiae* by SEC13, LST4, LST7 and LST8. *Genetics*, vol. 147, pp. 1569–1584.
- 21 Salem M.A., Li Y., Bajdzienko K., Fisahn J., Watanabe M., Hoefgen R., Schottler M.A., Giavalisco P. (2018) RAPTOR controls developmental growth transitions by altering the hormonal and metabolic balance. *Plant Physiology*, vol. 177, pp. 565–593.
- 22 Saxton R.A., Sabatini D.M. (2017) mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell*, vol. 168., pp. 960–976.
- 23 Smith T.F., Gaitatzes C., Saxena K., Neer E.J. (1999) The WD repeat: A common architecture for diverse functions. *Trends Biochem. Sci.*, vol. 24, pp. 181–185.
- 24 You D.J., Kim Y.L., Park C.R., Kim D.K., Yeom J., Lee C., Ahn C., Seong J.Y., Hwang J.I. (2010) Regulation of I $\kappa$ B kinase by G $\beta$ L through recruitment of the protein phosphatases. *Mol. Cells*. vol. 30, pp. 527–532.
- 25 Zanoni R.G., Nauta I.M., Pauli U., Peterhans E. (1991) Expression in Escherichia coli and sequencing of the coding region for the capsid protein of Dutch maedi-visna virus strain ZZV 1050: application of recombinant protein in enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of caprine and ovine lentiviruses. *J Clin Microbiol.*, vol. 29, pp. 1290–1294.



4-бөлім  
**ЗООЛОГИЯ**

---

Section 4  
**ZOOLOGY**

---

Раздел 4  
**ЗООЛОГИЯ**

А.С. Асылбекова<sup>1\*</sup>, Г.К. Барина<sup>1</sup>,  
А.Б. Маханбетова<sup>2</sup>, Б.С. Сейсенов<sup>2</sup>, А.Д. Мусина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НАО Казахский агротехнический университет имени С. Сейфуллина, Казахстан, Г. Нур-Султан

<sup>2</sup>АО «Республиканский центр по племенному делу  
в животноводстве «Асыл түлік», Казахстан, с. Косшы

\*e-mail: gamily-05@mail.ru

## КРИОКОНСЕРВАЦИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ КЛЕТОК САМЦОВ КАРПА

В настоящее время криоконсервация репродуктивных клеток рыб является актуальным направлением в стратегии сохранения генетического биоразнообразия, а также развития рыбного хозяйства и аквакультуры. Научные исследования проводились в Научно-исследовательском центре «Рыбное хозяйство» НАО «Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина» и в АО «Республиканский центр по племенному делу в животноводстве «Асыл түлік» в 2021 году. В ходе исследований был изучен метод криоконсервации репродуктивных клеток самцов карпа с использованием двух видов криопротектора на основе 10% этиленгликоля и 10% диметилсульфидоксида. При проведении экспериментальных работ были использованы общепринятые методики по проведению бонитировки рыб и заморозки спермы карпа. Оценка качества спермы карпа проводили по 5-балльной шкале Персова. Также при оценке качества учитывались объем, концентрация спермы, время активности и подвижности спермиев карпа. В результате проведения научных исследований установлено, что использование криозащитной среды в составе 10% этиленгликоля оказывает положительный эффект в сравнении с ДМСО, так как он снижает осмотический и окислительный стресс, испытываемый клетками во время заморозки. Полученные результаты позволяют рекомендовать корректировку концентрации проникающих протекторов в криозащитном растворе в зависимости от количества внутриклеточной воды для повышения выживаемости репродуктивных клеток самцов рыб после двойного температурного шока. Результаты исследований дают возможность создать криобанк генофонда племенного материала карпа на рыбных заводах для сохранения генетического разнообразия этих промысловых объектов.

**Ключевые слова:** криоконсервация, криопротектор, репродуктивные клетки, карп, сперма.

A.S. Assylbekova<sup>1\*</sup>, G.K. Barinova<sup>1</sup>,  
A.B. Makhanbetova<sup>2</sup>, B.S. Seisenov<sup>2</sup>, A.D. Mussina<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>S. Seifullin Kazakh Agro Technical University, Kazakhstan, Nur-Sultan  
<sup>2</sup>Joint-Stock Company "Republican Center for Breeding  
in Animal Husbandry" Asyl Tulik, Kazakhstan, Kosshy v.  
\*e-mail: gamily-05@mail.ru

### Cryopreservation of male carp reproductive cells

Currently, cryopreservation of fish reproductive cells is an urgent direction in the strategy of preserving genetic biodiversity, as well as the development of fisheries and aquaculture, scientific research was carried out in the research center "Fisheries" of the «S.Seifullin Kazakh Agro Technical University» and in the JSC "Republican Center for Breeding in Animal Husbandry "Assyl Tulik" in 2021. During the research, the method of cryopreservation of male carp reproductive cells using two types of cryoprotector based on 10% ethylene glycol and 10% dimethyl sulfide oxide was studied. During the experimental work, the generally accepted methods for conducting fish bonitization and freezing carp sperm were used. The assessment of the quality of carp sperm was carried out on a 5-point Persov scale. Also, when assessing the quality, the volume, concentration of sperm, the time of activity and mobility of carp sperm were taken into account. As a result of scientific research, it was found that the use of a cryoprotective medium consisting of 10% ethylene glycol has a positive effect in comparison with DMSO, since it reduces the osmotic and oxidative stress experienced by cells during freezing. The obtained results allow us to recommend adjusting the concentration of penetrating protectors in the cryoprotective solution depending on the amount of intracellular water to increase the survival rate of male fish reproductive cells after a double temperature shock. The results of the research make it possible to create a cryobank

of the gene pool of carp breeding material at fish hatcheries to preserve the genetic diversity of these commercial objects.

**Key words:** cryopreservation, cryoprotector, reproductive cells, carp, sperm.

А.С. Асылбекова<sup>1\*</sup>, Г.К. Баринаева<sup>1</sup>,  
А.Б. Маханбетова<sup>2</sup>, Б.С. Сейсенов<sup>2</sup>, А.Д. Мусина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>«С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті» КеАҚ, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.

<sup>2</sup>«Республикалық мал шаруашылығын асылдандыру  
«Асыл түлік» АҚ, Қазақстан, Қосшы а.

\*e-mail: gamily-05@mail.ru

### **Тұқы аталықтарының репродуктивті жасушаларының криоконсервациясы**

Қазіргі уақытта балықтардың репродуктивтік жасушаларын криоконсервациялау генетикалық биоалуантүрлілікті сақтау, сондай-ақ балық шаруашылығы мен аквакультураны дамыту стратегиясында өзекті бағыт болып табылады. Ғылыми зерттеулер 2021 ж. «С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің» КеАҚ «Балық шаруашылығы» ғылыми-зерттеу орталығында және «Республикалық мал шаруашылығын асылдандыру «Асыл түлік» АҚ-да жүргізілді. Зерттеу барысында 10% этиленгликоль және 10% диметилсульфидоксид негізінде криопротектордың екі түрін қолдана отырып, аталық тұқы репродуктивті жасушаларын криоконсервациялау әдісі зерттелді. Эксперименттік жұмыстарды жүргізу кезінде балықтарды сұрыптау және тұқы шәуетін мұздату бойынша жалпы қабылданған әдістер қолданылды. Жыныс өнімдерінің сапасын бағалау Персовтың 5 балдық шкаласы бойынша жүргізілді. Сондай-ақ, сапаны бағалау кезінде ұрықтың көлемі, концентрациясы, тұқы сперматозоидтарының белсенділігі мен қозғалғыштығы ескерілді. Ғылыми зерттеулер жүргізу нәтижесінде этиленгликольдің 10% құрамында криопротекторлық ортаны пайдалану ДМСО-мен салыстырғанда оң әсер ететіні анықталды, өйткені ол мұздату кезінде жасушалар бастан кешіретін осмотикалық және тотықтырғыш стресті төмендетеді. Алынған нәтижелер қос температуралық соққыдан кейін аталық балықтардың репродуктивті жасушаларының өмір сүруін арттыру үшін жасушаішілік судың мөлшеріне байланысты криопротекторлық ерітіндідегі енетін протекторлардың концентрациясын түзетуді ұсынуға мүмкіндік береді. Зерттеу нәтижелері осы кәсіптік нысандардың генетикалық алуантүрлілігін сақтау үшін балық зауыттарында тұқы асыл тұқымды материалдарының криобанк гендік қорын құруға мүмкіндік береді.

**Түйін сөздер:** криоконсервация, криопротектор, репродуктивті жасушалар, тұқы, шәует.

### **Сокращения и обозначения**

ДМСО – диметилсульфидоксид;  $\text{NaHCO}_3$  – гидрокарбоната натрия;  $\text{NaCl}$  – хлорид натрия;  $\text{KCl}$  – хлорид калия; мл – миллилитр; с – секунд.

### **Введение**

Один из побочных эффектов развития цивилизации – обеднение генофонда и в конечном счете гибель и исчезновение многих видов растений и животных. Пространства многих природных экосистем стремительно сокращаются, изменяются и разрушаются места обитания, уменьшается их численность и разнообразие. Эти процессы приняты особенно угрожающие масштабы с конца XX в. [1].

В настоящее время важнейшей задачей является сохранение генофонда редких и исчезающих популяций и видов рыб, особенно тех, которые представляют практический интерес для увеличения уловов рыб в естественных во-

доемах или для введения их в аквакультуру как перспективных объектов разведения [2].

Для сохранения и восполнения численности отдельных популяций рыб разработаны биотехнологии искусственного воспроизводства на различных рыбоводных предприятиях. В их основу положены принципы содержания и использования производителей из маточных стад, содержащихся на предприятии, что, в свою очередь, ограничивает число особей, скрещивающихся между собой, и приводит впоследствии к инбридингу [3].

Использование криоконсервации половых продуктов на заводах по искусственному воспроизводству, а также предприятиях аквакультуры, позволит получать генетически разнородное потомство, сократит площади и затраты на содержание самцов, тем самым позволив увеличить продуктивное стадо самок [4]. Применение криоконсервированных половых продуктов возможно в любое время, без риска несвоевременного созревания производителей или полу-

чения от них половых продуктов ненадлежащего качества.

В настоящее время в мировой практике исследований работы по сохранению и использованию замороженной спермы рыб ведутся достаточно широко [5-7]. За последние десятилетия научные знания о специфике процедур криоконсервации спермы рыб существенно пополнились [8-11]. Разработаны методы криоконсервации спермы более 250 видов различных рыб [12-18]. Это, в основном, зарубежные разработки, которые успешно применяют в аквакультуре этих стран для сохранения гетерогенности генофонда таких рыб как форель, карповые, сиговые (Норвегия, Франция, Турция, Америка, Япония) [19-24].

Однако в Казахстане применение методов криоконсервации репродуктивных клеток рыб в искусственном воспроизводстве не развито.

Таким образом, криоконсервация репродуктивных клеток рыб является актуальным направлением в стратегии сохранения генетического биоразнообразия, а также развития рыбного хозяйства и аквакультуры. Исходя из этого, исследования в данной области являются актуальными и требуют досконального изучения.

Цель исследования: применение методов криоконсервации половых продуктов карпа, и оценка качества половых продуктов до и после заморозки.

### Материалы и методы исследования

Научно-исследовательская работа проводилась в 2021г. на базе научно-исследовательского центра «Рыбное хозяйство» кафедры охотоведения и рыбного хозяйства, Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина

Материалы для исследований были взяты в Карагандинском рыбопитомнике. Определение линейно-весовых показателей проводилось по стандартным методикам [25] статистическую обработку – по руководству Г.Ф. Лакина [26] и все расчеты проводились на ПК с применением программы «Excel» [27]. Материалом послужили половозрелые самцы карпа. Так же биоматериал после заморозки был изучен на качество в лаборатории АО «Республиканский центр по племенному делу в животноводстве «Асыл түлік»».

Качества спермы исследуемых объектов проводили по 5-бальной шкале Персова. При оценке качества спермы учитывали объем, консистенцию и цвет. Качество спермы, пригодной

для криоконсервации, определяли по времени жизни спермиев после ее активации. На предметное стекло наносили каплю спермы, затем разбавляли ее водой в соотношении 1:300, тем самым активируя сперматозоиды. Двигательную активность спермиев (время жизни) регистрировали на мониторе персонального компьютера с использованием видеоприставки под микроскопом при увеличении от 180 до 400 раз.

Низкотемпературное консервирование репродуктивных клеток самцов карпа проводили согласно разработанной методики астраханских ученых [3]. Однако в криозащитном растворе, содержание криопротекторов и введение базового раствора скорректировано ввиду того, что в качестве объекта исследования был выбран карп (*Cyprinus carpio*). Размораживали криопробирки в дистиллированной воде при температуре 38°C в течение 1 минуты. Для разморозки применяли водяную баню.

Для проведения экспериментальной работы применялись следующие материалы: сосуд Дьюара для хранения биологического материала в азоте, тринокулярный микроскоп с камерой и программным обеспечением CEROS компьютерной технологии системы CASA (IMV-technologies, Франция) для оценки качества дефростированной спермы рыб, микроскоп при увеличении x40 для оценки качества нативной спермы, криопробирки, водяная баня, секундомер, микропипетка. При заморозке использовались криопробирки Эпшпандорфа с объемом 0,2мл и 1,9мл и полипропиленовые соломинки объемом 0,25мл. Использовали криопротекторы на основе: ДМСО (диметилсульфидоксид) и этиленгликоль (таблица 1).

**Таблица 1** – Сравнительный состав криопротекторов на водном растворе, %

№ п/п	Наименование	Основа криопротектора	
		Этиленгликоль	ДМСО
1	NaCl	0,73	0,036
2	KCl	0,04	0,1
3	Сахароза	0,115	-
4	NaHCO <sub>3</sub>	0,23	0,002
5	Этиленгликоль	10	-
6	ДМСО	-	10

Криопротекторы отличались соотношением составляющих компонентов и в криопротекторе на основе этиленгликоля содержалась сахароза в составе 0,115%.



### Результаты исследования и их обсуждения

Перед началом проведения научных исследований была проведена бонитировка производителей карпа Карагандинского рыбобитомника. Для проведения экспериментальной работы нами были отобраны производители из общего стада. Отбор проводили по следующим параметрам: масса тела, упитанность, размер, внешний вид (таблица 2). В общей сложности было отобрано 15 самцов. Длина тела в среднем составила: 65,9 см, длина тела без хвостового плавника 56,6 см, масса тела 4188 г, упитанность по Фультону 2,4. Длина головы в среднем составляет 24,38%.

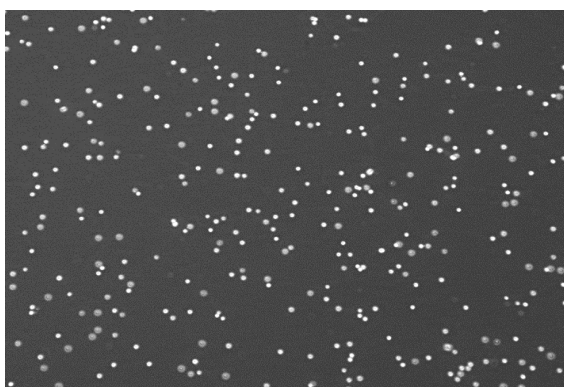
Зрелые половые продукты самцов карпа получали после гормональной стимуляции путем сцеживания. Визуальная оценка качества спермы по цвету и консистенции проводилась во время отцеживания половых продуктов. Оценка

качества спермиев карпа по подвижности проводили под микроскопом по процентному отношению сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением к общему количеству сперматозоидов в поле зрения (рисунок 1,2).

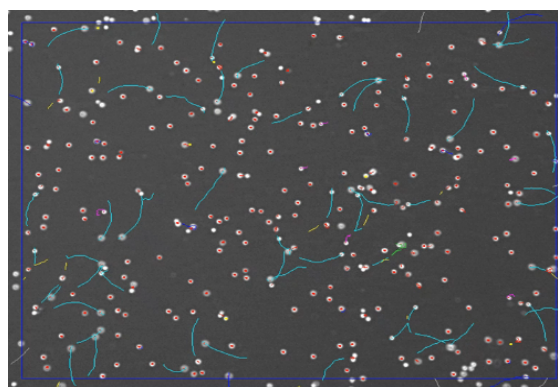
**Таблица 2** – Биологические показатели карпа Карагандинского рыбобитомника, n=15

Признаки	min-max	M±m
L, см	57-76	65,93±5,53
l, см	49-66	56,60±5,22
Q, г	3130-5185	4188,2±608,50
Fulton	1,83-2,89	2,36±0,30
B %		
lc, см	21,53-28,30	24,38±1,37

Примечание: \* L – общая длина рыбы; l-длина тела без хвостового плавника; Q – полная масса, Fulton – коэффициент упитанности по Фультону, lc – длина головы.



**Рисунок 1** – Нативная сперма карпа



**Рисунок 2** – Подвижность спермы карпа

**Таблица 3** – Оценка качества свежеполученной спермы карпа в зависимости от скорости выживания и подвижности спермиев карповых рыб

Группы рыб	Объем, мл	Концентрация, в млн/мм <sup>3</sup>	Подвижность спермиев, %	Скорость выживаемости спермиев, с	Качество спермы в баллах
1 (смесь спермы 3 самцов)	108±0,1	21,10±0,45	90±0,3	70±0,12	5
2 (смесь спермы 2 самцов)	58±0,2	20,50±0,28	87±0,5	65±0,11	5
3 (смесь спермы 2 самцов)	55±0,4	20,75±0,39	93±0,2	75±0,05	5
4 (смесь спермы 2 самцов)	63±0,2	20,68±0,51	83±0,2	60±0,13	5
5 (смесь спермы 3 самцов)	80±0,3	22,01±0,25	86±0,3	62±0,11	5
6 (смесь спермы 3 самцов)	95±0,1	20,11±0,31	92±0,1	75±0,12	5

Для эксперимента по криоконсервации были отобраны образцы спермы со 100%-ной подвижностью.

Для проведения исследований были выбраны 15 самцов карпа, отобрано путем сцеживания от 20мл до 50мл спермы от каждого самца карпа. В последующем от спермы 15 самцов после оценки нативной спермы по подвижности сформированы 6 групп (в 1 группу входила сперма по 2 -3 самца). Оценка качества свежеполученной спермы карпа представлена в таблице 3.

В таблице 3 представлены основные качественные показатели свежеполученной спермы карпа, полученные путем сцеживания, из образцов сперм сгруппированы для дальнейшей заморозки, при котором учитывались качественные показатели спермы каждого самца.

Процесс замораживания спермы карпа производился по следующей схеме: разбавление спермы с криозащитной средой, эквilibрация, замораживание, дефростирование. Разбавление спермы карпа с криопротектором производилось в соотношении 1:1. Криозащитная среда добавлялась медленно при непрерывном помешивании. Во время проведения заморозки спермы карпа было использовано 2 вида криопротектора. Первый криопротектор состоял из водного раствора, содержащий 0,73% хлорида натрия, 0,04% хлорида калия, 0,0115% сахарозы, 0,23% гидрокорбаната натрия и 10% этиленгликоля. Второй криопротектор состоял из водного раствора, содержащий 0,036% хлорида натрия, 0,1% хлорида калия, 0,002% гидрокорбаната натрия и 10% ДМСО. Полученную смесь спермы разлили

по криопробиркам и замораживали, применяя ступенчатое замораживание в парах жидкого азота. Замораживание осуществляли в три этапа: 6 °С/мин в течение 6 минут, 10 °С/мин, в течение 4 минут, а затем плавно погружали в жидкий азот, находящийся в сосуде Дьюара. Размораживание спермы осуществляли, извлекая пробирки с замороженной спермой из жидкого азота и помещая их в водяную баню с температурой 38-40°С, одновременно встряхивали в течение 20-40с до появления в них жидкой фазы. В размороженных образцах определяли количество подвижных сперматозоидов.

Во время проведения научных исследований нами был создан банк половых продуктов самцов карпа, отобранных в Карагандинском рыбопитомнике. Половые продукты (молоки) были помещены в сосуды Дьюара заполненные жидким азотом. Температура хранения половых продуктов в жидком азоте составляла -196°С.

Оценку качества спермы карпа проводили перед замораживанием на нативной сперме и после на дефростированной сперме, затем через час и через месяц после заморозки. При изучении качества спермы применялся метод определения по 5 бальной шкале Персова.

За активностью спермиев следили через тринокулярный микроскоп с камерой и программным обеспечением CEROS компьютерной технологии системы CASA (IMV-technologies, Франция). Продолжительность активности сперматозоидов измеряли секундомером.

Показатели качества спермы карпа до заморозки и после с применением криопротектора этиленгликоль 10% отображены в таблице 4.

Таблица 4 – Оценка качества спермы на основе криопротектора с 10% этиленгликолем

Оценка качества	Нативная сперма	После замораживания	Через час после заморозки	Через месяц после заморозки
По шкале Персова	5	4	4	4
Время активности, с	71	66	54	51

Как видно на таблице 4 до заморозки активность спермиев составляла 5 баллов по шкале Персова, это означает что сперма отличного качества (заметна подвижность всех спермиев), а после этот показатель снизился до 4. По времени активности спермиев, так же показывают отличный результат. Возможно это связано с добавлением сахарозы. Ведь базовый раствор благоприятно

влияет на среду обитания спермиев как до заморозки проникая внутрь клетки, предотвращая разрушение при глубокой заморозке, а также после размораживания являясь питательной средой для клеток после температурного шока.

Показатели качества спермы карпа до заморозки и после с применением криопротектора ДМСО отображены в таблице 5.

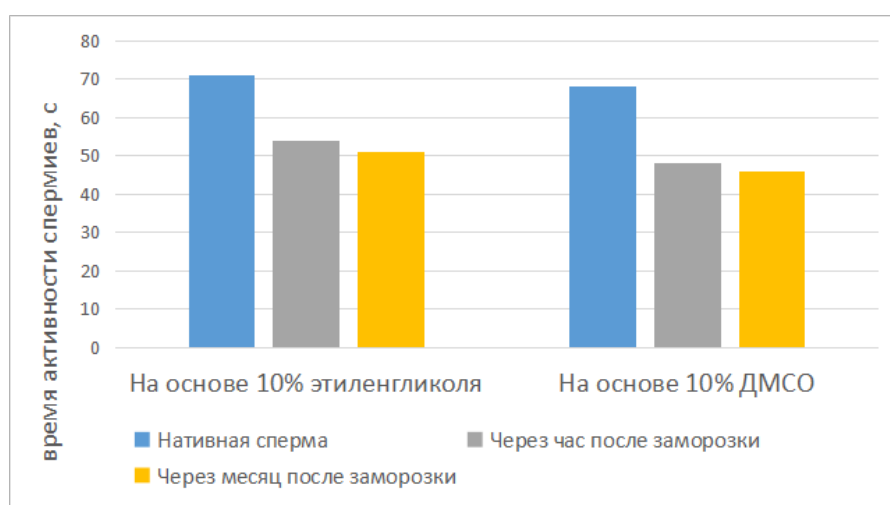
**Таблица 5** – Оценка качества спермы на основе криопротектора с ДМСО 10%

Оценка качества	Нативная сперма	После замораживания	Через час после заморозки	Через месяц после заморозки
По шкале Персова	5	4	4	4
Время активности, с	69	61	48	46

Как видно из таблицы 5, дефростированная сперма карпа с содержанием криопротектора ДМСО 10% имеют оценку 4 балла. По времени активности спермы мы так же наблюдаем из-

менения в пробах после размораживания, время жизни спермиев сократилось на 23 секунды.

Время активности спермиев наглядно отображено на рисунке 3.

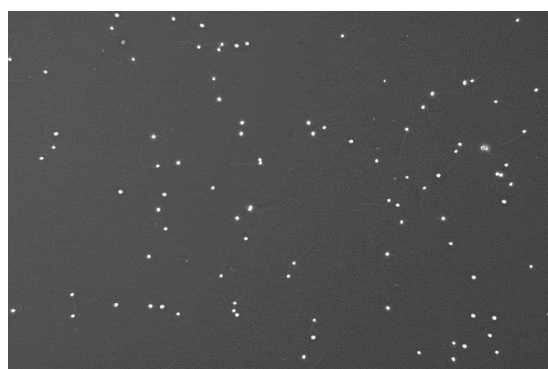


**Рисунок 3** – Время активности спермиев до заморозки и после размораживания

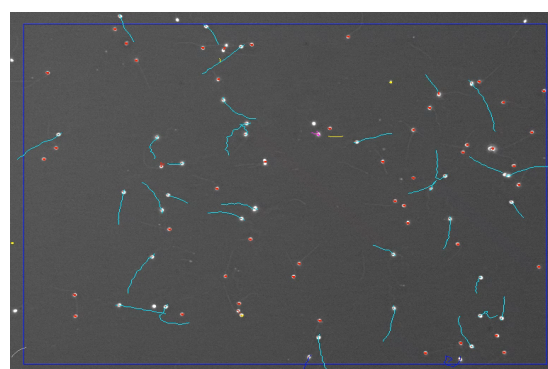
Сравнивая эти показатели можно сделать вывод, что использование криопротектора на основе 10% этиленгликоля является наиболее оптимальным, по сравнению с 10% содержанием ДМСО. Исходя из данных диаграммы можно

утверждать, что способность к выживанию спермиев с добавлением базового раствора для криоконсервации в составе сахарозы, увеличивается.

Оценка качества дефростированной спермы приведена на рисунках 4 и 5.



**Рисунок 4** – Дефростированная сперма карпа на основе этиленгликоля



**Рисунок 5** – Подвижность дефростированной спермы карпа на основе этиленгликоля

Как видно из рисунков 4 и 5 подвижность и жизнеспособность сперматозоидов были в пределах 4 баллов, со временем активности 51-54с, замороженных криопротектором на основе 10% этиленгликоля.

Таким образом использование 10% этиленгликоля в сравнении с 10% ДМСО является более эффективным для замораживания спермы карпа, так как он снижает осмотический и окислительный стресс, испытываемый клетками во время криоконсервации.

### **Заключение**

Криоконсервация остается одним из наиболее привлекательных и быстроразвивающихся направлений сохранения редких и исчезающих видов. Наличие в криобанке генофонда племенного материала рыб на рыбоводных заводах позволяет с максимальным эффектом сохранить генетическое разнообразие этих промысловых объектов.

По результатам оценки качества половых клеток до и после замораживания спермы карпа, было установлено, что способность к выживанию спермиев с использованием криораствора 10% этиленгликоля с добавлением сахарозы выше, чем показатели качества спермы карпа до заморозки и после с применением криопротектора ДМСО 10%.

Таким образом использование этиленгликоля с сахарозой в сравнении с ДМСО является более эффективным для замораживания спермы карпа, а также увеличивает вероятность благополучного оплодотворения и выхода жизнеспособных особей карпа.

В результате проведения научных исследований установлена эффективность снижения

объемов отравляющих веществ в составе криозащитной среды для сперматозоидов карпа, что в свою очередь уменьшило токсическое действие последней на объект. Полученные результаты позволяют рекомендовать корректировку концентрации проникающих протекторов в криозащитном растворе в зависимости от количества внутриклеточной воды для повышения выживаемости репродуктивных клеток самцов рыб после двойного температурного шока.

Криоконсервация спермы карповых рыб при использовании криопротектора на основе с 10% этиленгликоля и получение вполне жизнеспособного потомства из области одиночных лабораторных экспериментов переходит в разряд высокотехнологичной аквакультуры.

### **Конфликт интересов**

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

### **Благодарности**

Авторы статьи выражают свою благодарность руководству Карагандинского рыбопитомника за оказание помощи при получении спермы карпа в период нереста.

### **Источник финансирования**

Работа выполнена в рамках проекта грантового финансирования молодых ученых по научно-техническим проектам на 2021-2023 годы по теме «Создание криобанка репродуктивных клеток ценных видов рыб Казахстана».

### **Литература**





- 1 Бапсанова, А.М. Криоконсервация генетического материала для сохранения редких и исчезающих видов животных / А.М. Бапсанова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – № 1. – С. 79.
- 2 Ананьев, В.И. К вопросу о создании национальной системы генофондных коллекций рыб и других гидробионтов России для аквакультуры и сохранения редких и исчезающих видов: правовые и нормативно-методологические аспекты / В.И. Ананьев, М.С. Манохина // Ветеринарная патология. – 2007. – № 1. – С. 19-24.
- 3 Белая М.М., Красильникова А.А., Пономарева Е.Н. Разработки южного научного центра РАН в области криоконсервации репродуктивных клеток рыб // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, т. 20, № 5(2), 2018 – С. 280-286.
- 4 Чипинов, В.Г. Экономическая эффективность использования криоконсервированной спермы при выращивании осетровых видов рыб / В.Г. Чипинов, М.М. Богатырева // Актуальные проблемы обеспечения продовольственной безопасности юга России: инновационные технологии для сохранения биоресурсов, плодородия почв, мелиорации и водообеспечения: материалы Международной научной конференции (27-30 сентября 2011 г., Ростов-на-Дону). – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2011. – С. 133-135.

- 5 Бех В.В. Криоконсервация спермы карпов украинских пород // Докл. Межд. конф. «Сохранение генетических ресурсов», Санкт-Петербург, 19-22 октября 2004. Цитология. – 2004. Т. 46, № 9. – С. 769-770.
- 6 Горбунов Л.В., Филипов В.Ю., Бучацкий Л.П. Воспроизводимость результатов оплодотворения ооцитов деконсервированными спермиями карпа (*Cyprinus carpio* L.) // Биотехнология. – 2010. Т. 3, № 6. – С. 80-84.
- 7 Матишов Г.Г., Пономарева Е.Н., Белая М.М. Сохранение генетического разнообразия рыб методами низкотемпературного консервирования // Рыбное хозяйство. – 2012. № 3. – С. 59-62
- 8 Bernath G., Zarski D, Kása E., Staszny Á., Várkonyi L., Kollár T., Hegyi Á., Bokor Z., Urbányi B., Horváth Á. Improvement of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm cryopreservation using a programmable freezer // *General and Comparative Endocrinology*. – 2016. V. 237. – P. 78-88.
- 9 Boryshpolets S., Dzyuba B., Rodina M., Li P., Hulak M., Gela D, Linhart O. Freeze-thawing as the factor of spontaneous activation of spermatozoa motility in common carp (*Cyprinus carpio* L.) // *Cryobiology*. – 2009. V 59. – P. 291-296.
- 10 Boryshpolets S., Sochorova D., Rodina M., Linhart O., Dzyuba B. Cryopreservation of carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm: impact of seeding and freezing rates on post-thaw outputs // *Biopreserv and Biobanking*. – 2017. V. 15, 3. – P. 234-240.
- 11 Bozkurt Y., Yavas I. Effect of different straw volumes and thawing rates on post-thaw quality and fertilization ability of cryopreserved common carp (*Cyprinus carpio*) sperm // *LIMNOFISH – Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*. – 2017. V 3 N 1. – P 25-31.
- 12 Bozkurt Y., Yavas I., Yildiz C. Effect of extender supplemented with different sugar types on post-thaw motility, viability and fertilizing ability of cryopreserved common carp (*Cyprinus carpio*) // *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgheh, IJA*. – 2016. V. 68. – P. 1334.
- 13 Dietrich M.A., Irnazarow I., Ciereszko A. Proteomic identification of seminal plasma proteins related to the freezability of carp semen // *Journal of Proteomics*. – 2017. V. 162. – P. 52-61.
- 14 Dzyuba B., Cosson J., Yamaner G., Bondarenko O., Rodina M., Gela D., Bondarenko V., Shaliutina A., Linhart O. Hypotonic treatment prior to freezing improves cryoresistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa // *Cryobiology*. – 2013. V. 66. – P. 192-194.
- 15 Horokhovatskiy Y., Sampels S., Cosson J., Linhart O., Rodina M., Fedorov P., Blecha M., Dzyuba B. Lipid composition in common carp (*Cyprinus carpio*) sperm possessing different cryor // *Cryobiology*. – 2016. V 73. P282-285.
- 16 Horváth Á., Miskolczi E., Urbányi B. Cryopreservation of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm in 1.2 and 5 ml straws and occurrence of haploids among larvae produced with cryopreserved sperm // *Cryobiology*. – 2007. V. 54. P. 251-257.
- 17 Irawan H., Vuthiphandchai V., Nimrat S. The effect of ext, cryoprotectants and cryopreservation methods on common carp (*Cyprinus carpio*) sperm // *Anim. Reprod. Sci*. 2010. V 122 P 236-243.
- 18 Kutluyer F., Öğretmen F., İnanan B.E. Cryopreservation of goldfish (*Carassius auratus*) spermatozoa: Effects of extender supplemented with taurine on sperm motility and DNA damage // *CryoLetters*. 2016. V.37., N 1. – P. 41-46.
- 19 Li P., Hulak M., Koubek P., Sulc M., Dzyuba B., Boryshpolets S., Rodina M., Gela D., Manaskova-Postlerova P., Peknicova J., Linhart O. Ice-age endurance: the effects of cryopreservation on proteins of sperm of common carp, *Cyprinus carpio* L. // *Theriogenology*. – 2010. V. 74. – P. 413-423.
- 20 Li P., Li Z., Dzyuba B., Hulak M., Rodina M., Linhart O. Evaluating the impacts of osmotic and oxidative stress on Common carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm caused by cryopreservation techniques // *Biol. Reprod*. – 2010. V. 83. – P. 852-858
- 21 Magyary I., Urbányi B., Horváth Á., Dinnyes A. Cryopreservation of gametes and embryos of Cyprinid fishes. Cryopreservation in Aquatic Species, 2 ndEd. Ed. Tiersch T.R., Green Ch.C. World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana, USA. 2011. – P. 525-538.
- 22 Öğretmen F., İnanan B.E. Evaluation of cryoprotective effect of Turkish pine honey on common carp (*cyprinus carpio*) // *CryoLetters*. – 2014. V. 35, № 5. – P. 427-437.
- 23 Öğretmen F., İnanan B.E., Kutluyer F., Kayim M. Effect of semen extender supplementation with cysteine on post-thaw sperm quality, DNA damage, and fertilizing ability in the common carp (*Cyprinus carpio*) // *Theriogenology*. – 2015. V.83, N9. – P. 1548-1552.
- 24 Yavas I., Bozkurt Y., Yildiz C. Cryopreservation of scaly carp (*Cyprinus carpio*) sperm: effect of different cryoprotectant concentr post-thaw motility, fertilization and hatching success of embryos // *Aquacult. Int*. – 2014. V. 22. – P. 141-148.
- 25 Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. – М.: Пищевая промышленность, 1966. – 376 с.
- 26 Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш.школа, 1990. – 352 с.
- 27 Коросов А. В., Горбач В. В. Компьютерная обработка биологических данных. – Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2007. – 76 с.

## References

- 1 Anan'ev, V.I. K voprosu o sozdanii nacional'noj sistemy genofondnyh kollekcij ryb i drugih gidrobiontov Rossii dlja akvakul'tury i sohraneniya redkih i ischezajushhih vidov: pravovye i normativnometodologicheskie aspekty / V.I. Anan'ev, M.S. Manohina // *Veterinarnaja patologija*. – 2007. – № 1. – S. 19-24.
- 2 Bapsanova, A.M. Kriokonservacija geneticheskogo materiala dlja sohraneniya redkih i ischezajushhih vidov zhivotnyh / A.M. Bapsanova // *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij*. – 2012. – № 1. – S. 79.
- 3 Beh V.V. Kriokonservacija spermy karpov ukrainskih porod // *Dokl. Mezhhd. konf. «Sohranenie geneticheskikh resursov»*, Sankt-Peterburg, 19-22 oktjabrja 2004. *Citologija*. 2004. T. 46, № 9. S.769-770.

- 4 Belaja M.M., Krasil'nikova A.A., Ponomareva E.N. Razrabotki juzhnogo nauchnogo centra RAN v oblasti kriokonservacii reproduktivnyh kletok ryb / *Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*, t. 20, № 5(2), 2018 – S 280-286.
- 5 Bernath G., Zarski D, Kása E., Staszny Á., Várkonyi L., Kollár T., Hegyi Á., Bokor Z., Urbányi B., Horváth Á. Improvement of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm cryopreservation using a programmable freezer // *General and Comparative Endocrinology*. 2016. V.237. P 78-88.
- 6 Boryshpolets S., Dzyuba B., Rodina M., Li P., Hulak M., Gela D, Linhart O. Freeze-thawing as the factor of spontaneous activation of spermatozoa motility in common carp (*Cyprinus carpio* L.) // *Cryobiology*. 2009. V 59. P291-296.
- 7 Boryshpolets S., Sochorova D., Rodina M., Linhart O., Dzyuba B. Cryopreservation of carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm: impact of seeding and freezing rates on post-thaw outputs // *Biopreserv and Biobanking*. 2017. V. 15, 3. P. 234-240.
- 8 Bozkurt Y., Yavas I. Effect of different straw volumes and thawing rates on post-thaw quality and fertilization ability of cryopreserved common carp (*Cyprinus carpio*) sperm // *LIMNOFISH – Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*. 2017. V 3 N 1. P 25-31.
- 9 Bozkurt Y., Yavas I., Yildiz C. Effect of extender supplemented with different sugar types on post-thaw motility, viability and fertilizing ability of cryopreserved common carp (*Cyprinus carpio*) // *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgheh, IJA*. 2016. V. 68. P. 1334.
- 10 CHipinov, V.G. JEkonomicheskaja jeffektivnost' ispol'zovanija kriokonservirovannoj spermy pri vyrashhivanii osetrovyh vidov ryb / V.G. CHipinov, M.M. Bogatyreva // *Aktual'nye problemy obespechenija prodovol'stvennoj bezopasnosti juga Rossii: innovacionnye tehnologii dlja sohraneniya biosursov, plodorodija pochv, melioracii i vodoobespechenija: materialy Mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii (27-30 sentjabrja 2011 g., Rostov-na-Donu)*. – Rostov-na-Donu: Izd-vo JUNC RAN, 2011. – S. 133-135.
- 11 Dietrich M.A., Irnazarow I., Ciereszko A. Proteomic identification of seminal plasma proteins related to the freezability of carp semen // *Journal of Proteomics*. 2017. V. 162. P. 52-61.
- 12 Dzyuba B., Cosson J., Yamaner G., Bondarenko O., Rodina M., Gela D., Bondarenko V., Shaliutina A., Linhart O. Hypotonic treatment prior to freezing improves cryoresistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa // *Cryobiology*. 2013. V. 66. P192-194.
- 13 Gorbunov L.V., Filipov V.JU., Buchackij L.P. Vosproizvodimost' rezul'tatov oplodotvorenija oocitov dekonservirovannymi spermijami karpa (*Syprinus carpio* L.) // *Biotehnologija*. 2010. T. 3, № 6. S. 80-84.
- 14 Horokhovatskiy Y., Sampels S., Cosson J., Linhart O., Rodina M., Fedorov P., Blecha M., Dzyuba B. Lipid composition in common carp (*Cyprinus carpio*) sperm possessing different cryor // *Cryobiology*. 2016. V 73. P282-285.
- 15 Horváth Á., Miskolczi E., Urbányi B. Cryopreservation of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm in 1.2 and 5 ml straws and occurrence of haploids among larvae produced with cryopreserved sperm // *Cryobiology*. 2007. V.54. P251-257.
- 16 Irawan H., Vuthiphandchai V., Nimrat S. The effect of ext, cryoprotectants and cryopreservation methods on common carp (*Cyprinus carpio*) sperm // *Anim. Reprod. Sci*. 2010. V 122 P 236-243.
- 17 Korosov A. V., Gorbach V. V. Komp'juternaja obrabotka biologicheskikh dannyh. –Petrozavodsk: Izd-vo PetrGU,– 2007, –76 s.
- 18 Kutluyer F., Öğretmen F., İnanan B.E. Cryopreservation of goldfish (*Carassius auratus*) spermatozoa: Effects of extender supplemented with taurine on sperm motility and DNA damage // *CryoLetters*. 2016. V.37., N 1. P41-46.
- 19 Lakin G.F. *Biometrija – M.: Vyssh.shkola*, 1990.-352 s.
- 20 Li P., Hulak M., Koubek P., Sulc M., Dzyuba B., Boryshpolets S., Rodina M., Gela D., Manaskova-Postlerova P., Peknicova J., Linhart O. Ice-age endurance: the effects of cryopreservation on proteins of sperm of common carp, *Cyprinus carpio* L. // *Theriogenology*. 2010. V. 74. P. 413-423.
- 21 Li P., Li Z., Dzyuba B., Hulak M., Rodina M., Linhart O. Evaluating the impacts of osmotic and oxidative stress on Common carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm caused by cryopreservation techniques // *Biol. Reprod*. 2010. V. 83. P. 852-858
- 22 Magyary I., Urbányi B., Horváth Á., Dinnyes A. Cryopreservation of gametes and embryos of Cyprinid fishes. *Cryopreservation in Aquatic Species*, 2 ndEd. Ed. Tiersch T.R., Green Ch.C. World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana, USA. 2011. P. 525-538.
- 23 Matishov G.G., Ponomareva E.N., Belaja M.M. Sohranenie geneticheskogo raznoobrazija ryb metodami nizkotemperaturnogo konservirovaniya // *Rybnoe hozjajstvo*. 2012. № 3. S. 59-62.
- 24 Öğretmen F., İnanan B.E. Evaluation of cryoprotective effect of Turkish pine honey on common carp (*cyprinus carpio*) // *CryoLetters*. 2014. V. 35, № 5. P. 427-437.
- 25 Öğretmen F., İnanan B.E., Kutluyer F., Kayim M. Effect of semen extender supplementation with cysteine on post-thaw sperm quality, DNA damage, and fertilizing ability in the common carp (*Cyprinus carpio*) // *Theriogenology*. 2015. V.83, N9. P. 1548-1552.
- 26 Pravdin I.F. *Rukovodstvo po izucheniju ryb. – M.: Pishhevaja promyshlennost'*, 1966. – 376 s.
- 27 Yavas I., Bozkurt Y., Yildiz C. Cryopreservation of scaly carp (*Cyprinus carpio*) sperm: effect of different cryoprotectant concentr post-thaw motility, fertilization and hatching success of embryos // *Aquacult. Int*. 2014. V. 22. P. 141-148.

S. Berdiakhmetkyzy<sup>1\*</sup> , S.Zh. Assylbekova<sup>2</sup> ,  
A.M. Abdybekova<sup>3</sup> , T.T. Barakbaev<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Al-Faraby Kazakh national university, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>LLP “Research and Production Center of Fisheries” MEGNR RK, Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>LLP «Kazakh Research-Scientific Veterinary Institute», Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: camal-90.ok@mail.ru.

## CURRENT STATE OF POPULATIONS OF THE MAIN COMMERCIAL FISH SPECIES OF THE SMALL ARAL SEA

The Aral Sea was one of the main commercial basins until the 80s of the last century. However, intensive water management activities aimed at regulating the upper reaches of the Syrdarya and Amudarya rivers, which were the main sources of water supply in the Aral Sea, led to a decrease in the water level and the sea was initially divided into two reservoirs: Small and Large.

As a result, huge damage was caused to the fishing industry of the region. And only after more than 20 years, a decision was made to restore the Aral Sea, by building a dam, in order to block the channel connecting the Small Aral with the Big Sea. In 2005, the construction of the Kokaral separation dam was completed.

The basis of the fishery is: bream (*Abramis brama*), zander (*Sander lucioperca*), pike (*Esox lucius*), asp (*Aspius aspius*), carp (*Cyprinus caspio*), crucian carp (*Carasius auratus*), roach (*Rutilus rutilus*), sabrefish (*Pelecus cultratus*), rudd (*Scardinius erythrophthalmus*). The fewly presented species include silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), snakehead (*Channa argus*), ide (*Leuciscus idus*), white-eyed bream (*Ballerus sapa*), perch (*Perca fluviatilis*). Flounder glossa (*Platichthys flesus*), catfish (*Silurus glanis*), shemaya (*Alburnus chalcoides*) that are found in catches.

According to the research of the current year, the commercial fishes in Small Aral Sea was represented by 16 species of fish, of which 9 species (*Abramis brama*, *Cyprinus caspio*, *Aspius aspius*, *Esox lucius*, *Silurus glanis*, *Sander lucioperca*, *Rutilus rutilus*, *Channa argus*, *Pelecus cultratus*) form the basis of the fishery, 6 species (*Ctenopharyngodon idella*, *Carasius auratus*, *Ballerus sapa*, *Chalcalburnus chalcoides*, *Leuciscus idus*, *Hypophthalmichthys molitrix*) are few and 1 species (*Platichthys flesus*) of fish are isolated in catches.

This article provides a brief assessment of the state of the populations of the main commercial fish in the Aral Sea based on research in 2019–2020.

**Key words:** Aral Sea, ichthyofauna, aboriginal, alien species, abundance, species composition.

С. Бердіахметқызы<sup>1\*</sup>, С.Ж. Асылбекова<sup>2</sup>,  
А.М. Абдыбекова<sup>3</sup>, Т.Т. Барақбаев<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Балық шаруашылығы ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Қазақстан, Алматы қ.

\*camal-90.ok@mail.ru

### Кіші Арал теңізінің негізгі кәсіптік балық түрлерінің қазіргі жағдайы

Арал теңізі өткен ғасырдың 80-ші жылдарына дейін негізгі кәсіптік суалаптың бірі болған. Алайда Арал теңізін сумен қамтамасыз ететін негізгі көздері болып табылатын Сырдария мен Әмудария өзендерінің жоғарғы ағыстарын реттеу жөніндегі қарқынды су шаруашылығын жүргізу, су деңгейінің төмендеуіне алып келді және Кіші Арал мен Үлкен Арал болып екі бөлікке бөлінді. Кейіннен Кіші Арал теңізі тез құрғап, балық шаруашылықтық маңызын жоғалтты. Тұщы су ағыны жоқ Үлкен теңіздің тұздылығы артты.

Нәтижесінде аймақтың балық шаруашылығына үлкен залал келді. Тек 20 жылдан астам уақыттан кейін, Кіші Аралды Үлкен теңізбен жалғайтын каналды бөгеу мақсатында бөгет салу арқылы Арал теңізін қалпына келтіру туралы шешім қабылданды. 2005 жылы Көкарал бөгетінің құрылысы аяқталды. Бөгеттің құрылысының арқасында 2006 жылдың сәуір айында Арал (Кіші)

теңізінің су деңгейі тұщы суы бар БС 42,0 М белгісіне жетті, 2002–2005 жылдары Сырдария өзенінің сулылығының артуына ықпал етті. Осының есебінен тұщы аймақтың ауданы едәуір ұлғайды.

Балық аулаудың негізін келесі балық түрлері құрайды: табан (*Abramis brama*), көксерке (*Sander lucioperca*), шортан (*Esox lucius*), ақмарқа (*Aspius aspius*), сазан (*Cyprinus caspio*), мөңке (*Carasius auratus*), торта (*Rutilus rutilus*), қылышбалық (*Pelecus cultratus*), қызылқанат (*Scardinius erythrophthalmus*). Аз кездесетін түрлерге ақ дөңмаңдай (*Hypophthalmichthys molitrix*), жыланбас (*Channa argus*), аққайраң (*Leuciscus idus*), айнакөз (*Ballerus sapa*), алабұға (*Perca fluviatilis*) жатады. Камбала глосса (*Platichthys flesus*), жайын (*Silurus glanis*), шимай (*Alburnus chalcoides*) сирек кездеседі.

Ағымдағы жылдың зерттеулері бойынша Кіші Арал теңізінің кәсіптік ихтиофаунасы 16 түрді құрады, оның 9 түрі (*Abramis brama*, *Cyprinus caspio*, *Aspius aspius*, *Esox lucius*, *Silurus glanis*, *Sander lucioperca*, *Rutilus rutilus*, *Channa argus*, *Pelecus cultratus*) кәсіптік ихтиофаунаның негізін құрайды. Сонымен қатар, 6 түр (*Stenopharyngodon idella*, *Carasius auratus*, *Ballerus sapa*, *Chalcalburnus chalcoides*, *Leuciscus idus*, *Hypophthalmichthys molitrix*) аз кездесетін және 1 түр (*Platichthys flesus*) сирек кездесетіндігі анықталды. Алайда, пілмай және Арал қаязы секілді құнды түрлердің популяциясы әлі қалпына келтірілген жоқ.

Бұл жұмыста Кіші Арал теңізі ихтиофаунасының заманауи құрамы талданады. Негізгі кәсіптік балық түрлері популяцияларының жай-күйіне қысқаша баға берілді.

**Түйін сөздер:** Арал теңізі, ихтиофауна, абориген, жерсінген түрлер, балық саны, түрлік құрам.

С. Бердіахметқызы<sup>1\*</sup>, С.Ж. Асылбекова<sup>2</sup>,  
А.М. Абдыбекова<sup>3</sup>, Т.Т. Баракбаев<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ТОО «Научно-производственный центр рыбного хозяйства», Казахстан, г. Алматы

<sup>3</sup>ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: camal-90.ok@mail.ru

### Современное состояние популяций основных видов промысловых рыб Малого Аральского моря

Аральское море до 80-х годов прошлого столетия являлось одним из главных промысловых бассейнов. Однако интенсивная водохозяйственная деятельность по регулированию верховьев рек Сырдария и Амударья, которые являлись основными источниками водоснабжения Аральского моря, привела к уменьшению уровня воды и море разделилось вначале на два водоема – Малое и Большое. Впоследствии Малое Аральское море быстро осушилось и потеряло рыбохозяйственное значение. Большое море без притока пресной воды осолонилось. В результате чего рыбному хозяйству региона был нанесен огромный ущерб. И только через 20 с лишним лет было принято решение по восстановлению Аральского моря путем строительства плотины с целью перекрытия протока, соединяющего Малый Арал с Большим морем. В 2005 г. было закончено строительство Кокаральской разделительной плотины. Благодаря строительству плотины уже в апреле 2006 г. уровень воды Аральского (Малого) моря достиг отметки 42,0 м БС с распресненной водой, этому способствовало еще и увеличение водности р. Сырдарья в 2002–2005 гг., за счет чего значительно увеличилась площадь опресненной зоны.

Основу промысла составляют: лещ (*Abramis brama*), судак (*Sander lucioperca*), щука (*Esox lucius*), жерех (*Aspius aspius*), сазан (*Cyprinus caspio*), карась (*Carasius auratus*), плотва (*Rutilus rutilus*), чехонь (*Pelecus cultratus*), красноперка (*Scardinius erythrophthalmus*). К немногочисленным видам относятся белый толстолобик (*Hypophthalmichthys molitrix*), змееголов (*Channa argus*), язь (*Leuciscus idus*), белоглазка (*Ballerus sapa*), окунь (*Perca fluviatilis*). Единично в уловах присутствуют камбала глосса (*Platichthys flesus*), сом (*Silurus glanis*), шемая (*Alburnus chalcoides*).

По исследованиям текущего года промысловая ихтиофауна Малого Аральского моря была представлена 14 видами рыб, из которых 9 видов (*Abramis brama*, *Cyprinus caspio*, *Aspius aspius*, *Esox lucius*, *Silurus glanis*, *Sander lucioperca*, *Rutilus rutilus*, *Channa argus*, *Pelecus cultratus*) составляют основу промысла. К немногочисленным относятся 6 видов (*Stenopharyngodon idella*, *Carasius auratus*, *Ballerus sapa*, *Chalcalburnus chalcoides*, *Leuciscus idus*, *Hypophthalmichthys molitrix*) и единичны в уловах 1 вид (*Platichthys flesus*) рыб.

В данной работе анализируется современный состав ихтиофауны Малого Аральского моря. Дана краткая оценка состояния популяций основных промысловых видов рыб.

**Ключевые слова:** Аральское море, ихтиофауна, аборигенные, чужеродные виды, численность, видовой состав.



## Introduction

The Aral Sea is a terminal drainless salt lake lying among the vast deserts of Central Asia. According to F. Miklin et al., its drainage basin occupies more than 2 million km<sup>2</sup> [21].

Commercial fishing in Kazakhstan developed well in the first half of the 20th century (44,000 tons). The basin is mainly a low-lying desert [17].

Back in the middle of the last century, the Aral Sea was the fourth largest lake in the world, which filled a gigantic 426 kilometers long bowl until the 60s of the last century. The reservoir on the border of Kazakhstan and Uzbekistan was so large that it is still called the «sea», although it does not have access to the ocean, therefore it is formally a lake. There were legends about the fishwealth of the Aral Sea, it provided all of Central Asia and exported it to the socialist countries of Europe: Hungary, Czechoslovakia, the German Democratic Republic. The diversion of the Amu Darya and Syr Darya rivers is considered the main cause of the death of the sea. Today, almost 30 species of fish live in its waters [7].

However, intensive water management activities aimed at regulating the upper reaches of the Syr Darya and Amu Darya rivers, which were the main sources of water supply for the Aral Sea, led to a decrease in the water level and the sea was initially divided into two reservoirs, the Maloye shallow part and the deeper Big part. Subsequently, the Small Aral Sea quickly dried up and lost its fishery value. The Big Sea, without an influx of fresh water, became saline [8].

The Small (North) Aral Sea received a common name – in its short form «Kazal Sea» or «Kazakhstan Aral Sea». While the correct scientific name is the North Aral Sea, derived from a regulated reservoir with brackish water [1].

The current level state of the water volume of the Aral Small Sea and the area of the water area favorably affect the reproduction of many fish species (phytophilous, lithophilic). With further water freshening, the distribution of aboriginal freshwater forms of ichthyofauna and forage invertebrates is expected in the direction of the central and western parts of the sea, where favorable conditions for reproduction and feeding will be created [11].

Until the 80s of the last century, the Aral Sea was one of the main fishing basins in which valuable commercial fish species were found, such as thorn sturgeon, Aral barbel, bream, carp, Aral roach, shemaya, pike perch, asp, etc. [2].

In a relatively short period of time, the Aral roach, carp, bream, pike perch, asp, sabrefish, rudd

and pike have reached commercial numbers in the Small Aral Sea [9].

The local fish fauna of the Aral Sea Basin changed dramatically in the second half of the 20th century after the mismanagement of water resources and the introduction of alien fish. The Amur snakehead *Channa argus* (Cantor, 1842) was unintentionally introduced into the Aral Sea basin in early 1960-1963. This species is considered one of the most dangerous invaders. In addition, the abundance and state of alien species can serve as indicators of the reservoirs' state and sources of their ill-being [18]. The aim of this work was to study the morphological variability and biological characteristics of the snakehead in comparison with the early period of naturalization in the Syrdariya river [10].

For example, in order to increase the catches of commercial fish species, in particular the valuable species (carp) in the lake systems of the lower reaches of the Syrdariya river, it is necessary to carry out a number of measures. This is an increase in the commercial load on bream, reclamation catches of predatory and low-value fish species. Carp catches have changed significantly since the recovery period of the Small Aral Sea. In 2007, carp catches reached 260 tons, which is explained by a massive outbreak of numbers during the formation of the reservoir [24].

According to N. V. Aladin, I. S. Plotnikov and V. P. Mitrofanov modern ichthyofauna of the Aral Sea is represented by 17 species of fish: pike (*Esox lucius*), bream (*Abramis brama*), asp (*Aspius aspius*), carp (*Cyprinus caspio*), silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), sabrefish (*Pelecus cultratus*), roach (*Rutilus rutilus*), rudd (*Scardinius erythrophthalmus*), catfish (*Silurus glanis*), pike perch (*Sander lucioperca*), snakehead (*Channa argus*), shemaya (*Alburnus chalcoides*), crucian carp (*Carasius auratus*), ide (*Leuciscus idus*), perch (*Perca fluviatilis*), white-eyed bream (*Ballerus sapa*) and flounder (*Platichthys flesus*) [3,19].

## Importance of research

Today, the Small Aral Sea plays an important role in the development of the region's economy. There are 8 fish processing plants in the Aral region, which process up to 20 thousand tons of fish per year. One of the largest fish processing plants in Aralsk has been exporting zander fillets to China, Poland, and Germany for the second year. Frozen vobla, bream, and asp are sent to the domestic market and the CIS countries. According to E.O. Kozhabaeva [16] 22 species live in the

sea, the population of 14 previously missing fish species has been restored. Taking into account the scale of the problems of the Small Aral, the studies of domestic scientists are carried out in order to preserve the fish resources of the sea.

### Materials and methods

Determination of the species composition of the studied fish was conducted using the taxonomic description in the determinants of freshwater fish parasites of the USSR fauna [13,15,22] a complete biological analysis of fish with the determination of the length, weight, sex, stages of maturity of the gonads and the age of fish was also carried out [25]. Calculations of the total mass of the fish and the mass without entrails have been made. Fatness was considered as an indirect indicator characterizing fish nutrition. The exterior indicator was calculated using the Fulton formula [14]. According to many scientists, more indicative results are given by the Clarke fatness coefficient [5,23]. We used both methods in our work. Sex and the stage of maturity

of the reproductive products were determined visually using 6 scales in accordance with the method of I.F. Pravdin.

### Study results

According to the research of the current year, the commercial ichthyofauna of the Small Aral Sea was represented by 16 species of fish, of which 9 species (*Abramis brama*, *Cyprinus caspio*, *Aspius aspius*, *Esox lucius*, *Silurus glanis*, *Sander lucioperca*, *Rutilus rutilus*, *Channa argus*, *Pelecus cultratus*) form the basis of the fishery, 6 species (*Ctenopharyngodon idella*, *Carasius auratus*, *Ballerus sapa*, *Chalcalburnus chalcoides*, *Leuciscus idus*, *Hypophthalmichthys molitrix*) are few and 1 species (*Platichthys flesus*) of fish are isolated in catches.

This paper analyzes the current composition of the ichthyofauna of the Small Aral Sea. A brief assessment of the state of populations of the main commercial fish species is given.

Bream (*Abramis brama*) – mass commercial species, dominates both net and non-aquatic catches.

**Table 1** – The quantitative ratio of the main commercial fish in fishing gear in 2020

Fishing gear	Fish species									Total
	bream	pike	asp	carp	goldfish	sabrefish	roach	zander	rudd	
Fixed nets	523	69	28	13	209	232	845	93	69	3181
Seine, 50 m	429	9	4	40	76	129	700	02	04	2113

The quantitative ratio of the Gate nets and Seine of the main commercial fish on the fishing gear is indicated. Bream 523 (429), pike 69 (9), asp 28 (4), carp 13 (40), goldfish 209 (129), roach 845(700), zander 93(2), rudd 69(4) (Table 1).

According to recent studies, bream becomes sexually mature at a length of 16-21 cm, at the age of 4-6 years. The maximum length of juvenile fish in 2019 is 21 cm [12]. The mass onset of sexual maturity in bream occurs at the age of 5-6 years. During this period, 84.5-94.5% of bream were sexually mature, by the age of 7 the fish reach full (100%) maturity.

Observations show that in the bream population there was a reduction in the size-age range of the first maturing individuals (in 2020, these were fish of 4-6 years old). This can be explained by some improvement in habitat conditions, namely, by the rarefaction of the population under the influence of fishing (Table 2).

The sex ratio in the sexually mature part of the bream population during the spawning period of the current year was characterized by the prevalence of females 1.0:1.18. A shift in the sex structure of bream in favor of females can also result from changes in population density, i.e. seizures, it's older than the age part.

The average size and weight indicators of bream in 2020 are equal to 24.9 cm (length) and 376.3 g (weight) and exceed the data for 2019 – respectively 24.1 cm and 368 g. At the same time, there are no visible changes in the growth rate of bream, the average indicators of the linear sizes of individuals for all age groups remained within the last year (Table 2). The limiting age of bream in the catches of recent years has somewhat decreased and is 9 years with a length of 340 mm and a mass of 910 g. In the weight ratio, 60-70% of fish weigh up to 500 g, and specimens of more than 900 g were absent in the catches of 2020.

**Table 2** – Age composition of bream (as a whole for the reservoir), 2020

Age range	Length, cm (min-max)	Average length, cm	Weight, g (min-max)	Average weight, g	Qty, pcs	%
1+	10,0-13,0	11,4	18-44	27,5	7	1,3
2+	12,0-17,0	14,5	29-99	61,6	29	5,6
3+	16,0-22,0	19,0	72-203	145,2	45	8,6
4+	19,0-27,0	22,2	141-456	226,9	84	16,1
5+	22,0-29,0	25,5	197-568	374,8	159	30,4
6+	23,0-31,0	28,6	326-798	516	156	29,8
7+	29,0-33,0	30,6	536-867	643,6	33	6,3
8+	31,0-33,0	31,8	693-899	776,2	9	1,7
9+	34,0	34,0	910	910	1	0,2
Total	10,0-34,0	24,9	18-910	376,3	523	100

The fatness indicators of bream remained at the level of the last year and averaged 2.05 for Fulton versus 2.06 in 2019. The incidence of ligulosis in bream remains at the level of the average perennial and averaged 6.8% for the reservoir.

The indicators of individual fertility of bream in the current year remained within the limits of 2019, a slight increase in the average absolute fertility

from 92.44 thousand eggs in 2019 to 115.88 in 2020 was due to the presence of older fish in the sample. AIF – absolute individual fertility, RIF – relative individual fertility (Table 3).

**The zander** (*Sander lucioperca*) is a valuable commercial species and is characterized by a high degree of stock utilization, which determines the variability of a number of its biological population indicators.

**Table 3** – Fertility of bream by age group, thousand eggs

Years	Age groups						Average AIF	RIF(L)	RIF(M)
	4+	5+	6+	7+	8+	9+			
2019	-	39,310	50,630	85,560	175,270	-	92,44	3214	178
2020	35,652	39,420	62,780	95,810	210,540	251,122	115,88	4653	0,307

Significant changes in the timing of maturity perch is not observed in recent years. The age of the first maturing individuals is 3 years with a length of 32 cm. The onset of mass maturity occurs at the age of 4-5 years. The maximum size of immature fish is 42 cm [4,6,20]. The zander is a predator playing the role of a biological meliorator in the Small Aral Sea. Due to the intense desalination of the Small Sea, its habitat has expanded significantly, and it began to be found almost throughout its water area.

In the last years of research, zander began to enter Butakov Bay. Zander producers begin their pre-spawning migrations to the Syr Darya River from the end of September. The mass move was noted in late October and in the spring in March-April. The beginning of spawning is usually at the beginning of the second decade of April at a water temperature

of 7-8 °C, the height of spawning took place at the end of the third decade of April and in early May at a temperature of 14-15°C. The end of spawning occurs in the second decade of May at a water temperature of 18-20°C. The pike-perch, like other aboriginal freshwater species, began to inhabit the entire water area of the Small Aral Sea.

If in 2001-2003 zander lived only in the estuarine zone – in the Taur and Shagala regions, then in 2004, it began to occur in the northeastern and eastern regions, and in 2005 – almost throughout the entire water area of the Small Sea, with the exception of Bay of Butakov.

In scientific research catches of 2020, the length of the zander varied from 15 to 71 cm, the mass – from 44 to 4915 g, with an average body length of 30.9 cm and a mass of 456.4 g, respectively. The age

composition of zander in 2020 was represented by nine generations with predominance of young age groups (2 – 4+) 95%, which indicates its stable reproduction and the presence of self-regulation of the population under conditions of intensive harvesting by the fishery.

By the nature of spawning, zander belongs to the phytophilic group of fish. Zander breeders were found

in lengths from 30.2 to 48.3 cm and weighing from 450.4 to 3425 g. Females and males differ sharply in length, as well as in weight. Fertility of zander according to observations of recent years ranged from 33.320 to 154.32 thousand units (Table 4).

An increase in the fertility of zander should be regarded as a response of the population to its intensive harvest.

**Table 4** – Fertility of pike perch by age groups, thousand eggs

Years	Age groups					Average AIF	RIF(L)	RIF(M)
	3+	4+	5+	6+	7+			
							-	-
2019	34,222	33,320	76,100	130,50	-	64,120	-	-
2020	33,414	40,286	79,563	131,25	154,32	87,766	2840	192,3

**The pike** (*Esox lucius*) is a valuable aboriginal predator, it is subjected to intensive fishing, which affects the structure of the population and biological indicators. In recent years, there has been a uniform preservation of the average size and weight parameters of pike in the Small Aral Sea, which indicates an improvement in feeding conditions.

The age structure during the study period is presented from two to eight years. Dominated by four-year-olds (34.9% of the total population). The average length of pike individuals in the current year was 39.7 cm with a weight of 648.6 g (Table 5). As the population responds to excessive withdrawal, the timing of puberty changes.

**Table 5** – Main biological indicators of pike in the Small Aral Sea, 2020

Age range	Length, cm (min-max)	Average length, cm	Weight, g (min-max)	Average weight, g	Qty, pcs	%
2+	28,0-31,0	29,3	193-270	227,7	7	4,2
3+	25,0-38,0	32,8	153-544	322,4	39	23,1
4+	30,0-41,0	59,0	255-642	483,1	59	34,9
5+	39,5-50,0	42,9	506-1080	726,7	31	18,3
6+	45,0-54,0	48,9	758-1750	1148,5	22	13,0
7+	49,0-58,0	54,4	960-2115	1701	9	5,3
8+	56,5-61,0	58,7	1695-2145	1920	2	1,2
Total	25,0-61,0	39,7	153-2145	648,6	169	100

According to the data of the current year, the onset of pike's sexual maturity occurred at the age of 3-4 years with a size of 32.8 cm and a mass of 322.4 g. The beginning of spawning in pike in the Syr Darya River usually occurs in mid-April and depends on the climatic features of the year. It spawns immediately after opening the river from ice (sometimes still under ice) at a water temperature of 3 – 6°C. The eggs are laid on last year's vegetation.

The individual absolute fecundity of pike in the current year ranged from 12.14 to 41.32 thousand eggs (Table 6).

According to the research results, the fertility of pike is low, but it is impossible to draw conclusions due to the small size of the sample. The table shows that with an increase in the age and size of females, the individual absolute fertility increases.

**Table 6** – Fertility of pike by age groups, thousand eggs

Years	AIF by age group						AIF average	RIF (L)	RIF (M)
	3+	4+	5+	6+	7+	8+			
2019	6,52	9,56	15,23	-	-	-	16,23	0,215	0,014
2020	-	12,14	17,68	22,78	27,42	41,32	30,33	0,764	0,046

**Aral asp** (*Aspius aspius*) is a valuable native species of the Aral Sea and rivers flowing into it. Aral asp spawns in early spring for 8-10 days at a water temperature of 5-7 °C and continues up to 10-11 °C. Semi-anadromous asp begins spawning in rivers in late autumn, at a water temperature of 4-5 °C. Entering the river in autumn, asp hibernates in deep holes and goes to spawning grounds immediately after the drift of ice. In the catches of the current year, the age range of asp was represented by individuals up to 8+ years old, from 21.0 to 57.0 cm in length, weight – from 130 to 3155 g, with an aver-

age body length of 38.6 cm and a weight of 1060.5 g, six years old.

In the population of asp, the sex ratio in the current year was in favor of females and was 1:1.37. The individual absolute fecundity of the asp in 2020 ranged from 61.314 in four-year-olds to 183.514 thousand eggs in eight-year-old females (Table 7).

In recent years, there has been an increase in the size and weight indicators in the population of asp, which is associated with an increase in its number and a favorable food supply.

**Table 7** – Fertility of asp by age groups, thousand eggs

Years	Age groups						AIF average	RIF(L)	RIF(M)
	4+	5+	6+	7+	8+	9+			
2019	58,352	75,246	80,522	94,284	-	-	78,190	-	-
2020	61,314	89,354	87,446	112,325	183,514	-	106,790	2766	1006

**The Aral roach** (*Rutilus rutilus*) is the dominant species in abundance throughout the Small sea area. In the early 90s, the flow of the river. The Syr Darya began to flow into the Small sea, which contributed to the formation of a freshened zone and the appearance of commercial fish fauna, including roach. Already in 2004, roach was found in the eastern and northeastern regions, in the central region and in the bay. Shevchenko, and since 2008 it also enters Butakov Bay, where a relatively high salinity is still preserved.

During the research period in 2020, roach was the leader in both net and non-aquatic catches. In

net catches, the length of the Aral roach ranged from 10.0 to 24.0 cm, averaging 16.5 cm, and the weight varied from 21 to 392 g, on average -104.5 g. The age structure of the Aral roach is represented by seven generations, which are predominant are three years old (42.5%).

Sexually mature roach becomes in the second year of life, the period of mass puberty falls on fish 2-3 years old with a length of 11-16 cm. The sex ratio of roach in a commercial herd dominated by females is 3.58: 1. The individual absolute fecundity of females ranges from 42.256 in 2-year-olds to 325.452 thousand eggs in females aged 6+ (Table 8).

**Table 8** – Fertility of roach by age groups, thousand eggs, 2020

Years	Age groups						AIF average	RIF (L)	RIF (M)
	2+	3+	4+	5+	6+	7+			
2019	42,256	80,308	95,640	245,098	98,325	42,256	112,325	6171	1123
2020	54,331	61,964	57,419	114,256	325,452	-	122,684	6457	613,4

**Carp** (*Cyprinus caspio*) is one of the most valuable fish species in inland water bodies of Kazakhstan. In the Small Aral Sea it is one of the main fishing objects. Reaches sexual maturity in the third and fourth year of life, spawns annually. In choosing a spawning substrate, it is unpretentious, it lays eggs both on the stalks of reed, water milfoil, and ыфпщ pondweed, and on various underwater vegetation, except for chara algae and najas. In research catches in 2020, the length of the carp ranged from 13.0 to 74.0 cm, averaging 32.9 cm. The mass of the carp varied

from 145 to 9000 g, with an average of 1014.3 g. by nine generations, the main catch is carp at the age of 3+ to 5+ years. The carp reaches sexual maturity in the third and fourth year of life, spawns annually. In choosing a spawning substrate, it is unpretentious, it lays eggs both on the stems of reed, uruti, comb pondweed, and on various underwater vegetation, except for chara algae and sea rock cress.

The absolute fertility of the carp in the Small Aral Sea for the period 2019-2020 ranges from 153.165 to 559.455 thousand (Table 9).

**Table 9** – Fertility of carp by age groups, thousand seeds

Years	Age groups						AIF average	RIF (L)	RIF (M)
	4+	5+	6+	7+	8+	9+			
2019	-	135,312	241,465	429,523	422,109	-	331,324	-	-
2020	163,124	151,415	310,214	620,410	549,445	153,165	324,628	9867	0,320

**Sabrefish** (*Pelecus cultratus*) is a semi-anadromous fish that enters rivers for spawning. In the Small Aral Sea, the bulk of sabrefish spawns along the sea coast at depths of 2-6 m. The caviar of sabrefish is bathypelagic. The bulk of the sabrefish becomes sexually mature upon reaching the age of three. Spawning begins at a temperature of 12 ° C. and occurs in the second half of May – early June, sometimes stretching to mid-July. Sabrefish is a plastic euryphage. It feeds on plants and planktonic crustaceans, as well as on larvae and adults of Diptera, mysids, amphipods, beetles and juvenile fish. In recent years, sabrefish in the Small Aral

Sea has reached a commercial size. In the catches of 2020, the length of sabrefish ranged from 20.0 to 33.0 cm, averaging 26.7 cm. The mass of sabrefish varied from 67 to 333 g, averaging 171.6 g. The age structure of sabrefish was represented by seven generations, individuals from 4 to 6+ years old are predominant (89.3%).

The sex ratio in the sabrefish population this year was 1:1.3 in favor of males.

The individual absolute fecundity of sabrefish varied from 14.26 thousand pcs in four-year-olds up to 98.563 thousand pieces in seven-year-old individuals (Table 10).

**Table 10** – Fertility of sabrefish by age groups, thousand eggs

Years	Age groups						AIF average	RIF (L)	RIF (M)
	4+	5+	6+	7+	8+	9+			
2019	14,26	22,363	62,363	-	-	-	58,321	1854	294
2020	15,36	34,323	69,863	98,563	-	-	54,527	2042	317

**Crucian carp** (*Carasius auratus*) – makes a significant share in the catches of the Small Aral Sea inhabited by many species of fish. During the period of salinization of the Aral Sea, crucian carp lived in the estuary of the Syrdarya river. With the beginning of the filling of the sea and its freshening, the crucian carp mastered the previously lost niche.

In scientific research catches in 2020 in the Small Aral Sea, the length of the crucian carp varied from 13 to 29 cm, the mass – from 73 to 735 g, with an average body length of 22.1 cm and a mass of 393.4 g, respectively.

The age composition of crucian carp in the catches was noted up to 7+ years, middle-aged

groups dominate (65.5%), which indicates stable reproduction and the presence of self-regulation in the population under conditions of intensive harvesting by the fishery. The sex ratio in a female-dominated

population is 3.5:1. The fertility of crucian carp, according to observations of recent years, ranged from 12.356 in three-year-old individuals to 91438 thousand pieces in seven-year-old carp (Table 11).

**Table 11** – Fertility of crucian carp by age groups, thousand eggs

Years	Age groups						AIF average	RIF (L)	RIF (M)
	3+	4+	5+	6+	7+	8+			
2019	12,356	24,235	65,232	-	-	-	33,941	1593	2,00
2020	19,458	32,546	71,421	84144	91438	-	35,541	1608	90,3

## Conclusion

The modern ichthyofauna of the Small Aral Sea was represented by 17 species of fish: *Esox lucius*, *Abramis brama orientalis*, *Aspius aspius*, *Cyprinus carpio*, *Pelecus cultratus*, *Rutilus rutilus aralensis*, *Sander lucioperca*, *Alburnus chalcoides*, *Carasius auratus*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Scardinius erythrophthalmus*, *Silurus glanis*, *Channa argus*, *Leuciscus idus*, *Perca fluviatilis*, *Ballerus sapa* and *Platichthys flesus*.

The basis of the fishery is: *Abramis brama orientalis*, *Sander lucioperca*, *Esox lucius*, *Aspius aspius*, *Cyprinus carpio*, *Carasius auratus*, *Rutilus rutilus aralensis*, *Pelecus cultratus*, *Scardinius erythrophthalmus*. Rarely met species include *Hypophthalmichthys molitrix*, *Channa argus*, *Leuciscus idus*, *Ballerus sapa*, *Perca fluviatilis*. Occasionally, *Platichthys flesus*, *Silurus glanis* and *Alburnus chalcoides* are present in the catches.

The current state of fish populations in the Small Aral Sea can be characterized by the following provisions in 2020:

- a relatively high degree of biodiversity of the ichthyofauna of the Aral Sea in comparison with other water bodies of the basin;
- an increase in the variability of structural and biological indicators in fish populations intensively exploited by the fishery (pike perch, pike, carp, asp);
- relative stability of indicators of crucian carp, roach, sabrefish;
- numerical dominance of bream with weak variability of structural and biological indicators of the population.

**Acknowledgements.** The work was conducted within the framework of grant financing of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan № AP08955829 “Development of epidemiological methods for the prevention of parasitoses of commercial fish from the small Aral Sea”.

## Литература

- 1 Aladin N. V., Micklin Ph., Plotnikov I. S. The partial restoration of the Aral Sea and the biological, socio-economic and health conditions in the region // HUMAN CAPITAL AND PROFESSIONAL EDUCATION. – No. 3 (19) 2016. – pp. 62-68.
- 2 Асылбекова С.Ж. Акклиматизация рыб и водных беспозвоночных в водоемах Казахстана: результаты и перспективы: диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук: 06.04.01. – Астрахань, 2017. – С. 52-58.
- 3 Aladin N.V., Gontar V.I., Zhakova L.V., Plotnikov I.S., Smurov A.O., Rzymiski P., Klimaszuk P. 2019. The zoocenosis of the Aral Sea: six decades of fast-paced change // Environmental Science and Pollution Research, 26(3): 2228–2237. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3807-z>.
- 4 Аладин Н.В. и Плотников И.С. Современная фауна остаточных водоемов, образовавшихся на месте бывшего Аральского моря. // Труды Зоологического института РАН Том 312, № 1/2, 2008. – С. 145–154.
- 5 Бауер О.Н. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. – Ленинград, Наука, 1987. – Т. III. – 582 с.
- 6 Clark F. The Weight Length Relationship of the California Sardine (*Sardine caerulea*) et San. Pedro //Fish Bulletin, 1928. – № 12.
- 7 Определение рыбопродуктивности водоемов и/или их участков, разработка биологических обоснований прогноза допустимых уловов и выдача рекомендаций по режиму и регулированию рыболовства на водоемах международного и республиканского значения Арало-Сырдарьинского бассейна. Раздел: Аральское (Малое) море и р. Сырдарья часть: Отчет о НИР – Аральск, 2016-2017.

- 8 Дәуітбаева К.Ә., Сатыбалдиева А.С. Кіші Арал теңізінің балықтарында желбезектерінде кездесетін паразиттер // ҚазҰУ хабаршысы, Экология сериясы. – Алматы, 2012. – №1(33). – 50-52 б.
- 9 Dukravets G.M., Machulin A.I. «The morphology and ecology of the Amur snakehead, *Ophiocephalus argus warpachowskii*, acclimatized in the Syr Dar'ya Basin». *Journal of Ichthyology*. 16 (1978):203–208.
- 10 Ermakhanov Z. K., Plotnikov I. S., Aladin N. V., Micklin P. Changes in the Aral Sea Ichthyofauna and Fishery During the Period of Ecological Crisis. // *Lakes & Reservoirs: Research and Management*. 17 (2012):3–9. DOI: 10.1111/j.1440-1770.2012.00492.x
- 11 Ермаханов З.К., Жубанов К.У., Калымбетова М.Т., Самбаев Н.С., Ермаханова Ж.З. Современное состояние экосистемы Малого Аральского моря // 62-й Международной научной конференции Астраханского государственного технического университета. Астрахань, апрель 23-28, 2018.
- 12 Fulton T. Rate of growth of sea fishes. *Sc.Sci. Invest.Rept.*, 1902. – 20 p.
- 13 Gascho Landis A.M., Lapointe N.W.R., Angermeier P.L. «Individual growth and reproductive behavior in a newly established population of northern snakehead (*Channa argus*), Potomac River, USA». *Hydrobiologia*. 661 (2011):123–131. DOI 10.1007/s10750-010-0509-z.
- 14 Гусев А.В. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. – Ленинград, 1985. – Т. II. – 424 с.
- 15 <https://24.kz/ru/news/social/item/338855-рыбаки-обеспокоены-судьбой-Малого-Арала>.
- 16 Кожабаева Э.Б. Современное состояние фоновых видов рыб Арало-Сырдарьинского бассейна: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук: 03.00.08. – Алматы, 2010. – 21 с.
- 17 Micklin P., Aladin N., Plotnikov I. Introduction to the Aral Sea and its Region. The Aral Sea: the Devastation and Partial Rehabilitation of a Great Lake // *Springer Earth System Sciences*. Springer, Heidelberg, 2014. – pp 15–40.
- 18 Mamilov N.Sh., Amirbekova F.T., Khabibullin F.Kh., Adilbaev Zh.A., Bekkozhaeva D.K., Kozhabaeva E.B. New data on morphometry and biology of Alien snakehead *Channa Argus* in the Syrdarya river // *Series Biological and Medical* (№1). – Almaty, 2018. – 67 p.
- 19 Митрофанов, В. П. Рыба Казахстана. Т. 5 / под ред. Митрофанова В. П. – Алма-Ата: Гылым, 1992. – 464 с.
- 20 Определение рыбопродуктивности рыбохозяйственных водоемов и/или их участков, разработка биологических обоснований предельно допустимых уловов рыбы и других водных животных, режиму и регулированию рыболовства на рыбохозяйственных водоемах международного, республиканского значений и водоемах ООПТ Арало-Сырдаринского бассейна, а также оценка состояния рыбных ресурсов на резервных водоемах местного значения. Разд. Аральское море и р. Сырдарья // Отчет о НИР НПЦРХ. – Кызылорда, 2019. – 175 с.
- 21 Philip Micklin, Nikolai V. Aladin, Tetsuro Chida, Nikolaus Boroffka, Igor S. Plotnikov, Sergey Krivonogov and Kristopher White The Aral Sea: A Story of Devastation and Partial Recovery of a Large Lake // *Springer Water*. – Russia. 2020. – 109-112 pp.
- 22 Perez-Rodriguez A., Morgan J., Koen-Alonso M., Saborido-Rey F Disentangling genetic change from phenotypic response in reproductive parameters of Flemish Cap cod *Gadus morhua*. *Fisheries Research*. Volume.138 (2013):62-70. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2012.09.004>.
- 23 Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). – 4-е изд. – М.: Пищевая промышленность, 1966. – 374 с.
- 24 Самбаев Н. С. Приемная емкость Аральского Малого моря и потенциальные объемы искусственного воспроизводства карповыми видами рыб // *Вектор ГеоНаук*. – 2019 2(4). – С. 29. DOI: 10.24411/2619-0761-2019-10043.
- 25 Шульман С.С. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. – Ленинград, 1984. – Т. I. – 428 с.

## References




- 1 Aladin N. V., Micklin Ph., Plotnikov I. S. The partial restoration of the Aral Sea and the biological, socio-economic and health conditions in the region. // *HUMAN CAPITAL AND PROFESSIONAL EDUCATION* No. 3 (19) 2016. №. – pp. 62-68.
- 2 Asylbekova S. Zh. Acclimatization of fish and aquatic invertebrates in the reservoirs of Kazakhstan: results and prospects: dissertation for the degree of Doctor of Biological Sciences: 06.04.01. – Astrakhan, 2017. – pp.52-58.
- 3 Aladin N.V., Gontar V.I., Zhakova L.V., Plotnikov I.S., Smurov A.O., Rzymiski P., Klimaszuk P. 2019. The zoocenosis of the Aral Sea: six decades of fast-paced change // *Environmental Science and Pollution Research*, 26(3): 2228–2237. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3807-z>.
- 4 Aladin N.V. i Plotnikov I.S. Covremennaya fauna ostatechnykh vodoyemov, obrazovavshikhysya na meste byvshego Aral'skogo morya. // *Trudy Zoologicheskogo instituta RAN* Tom 312, № 1/2, 2008, с. 145–154.
- 5 Bauyer O.N. Opredelitel' parazitov presnovodnykh ryb fauny SSSR. – Leningrad, Nauka, 1987. – Т. III. – 582 s.
- 6 Clark F. The Weight Length Relationship of the California Sardine (*Sardine caerulea*) et San. Pedro // *Fish Bulletin*, 1928. – № 12.
- 7 Determination of fish productivity of water bodies and / or their areas, development of biological justifications for the forecast of allowable catches and issuing recommendations on the regime and regulation of fishing in water bodies of international and national significance of the Aral-Syrdarya basin. Section: The Aral (Small) Sea and the Syrdarya River part: Research Report-Aralsk, 2016-2017.
- 8 Dautbayeva K. A., Satybaldieva A. S. Gill parasites found in Fish of the Small Aral Sea // *Bulletin of kaznu*. – Ecology Series. – No. 1(33) 2012. – pp. 50-52.
- 9 Dukravets G.M., Machulin A.I. «The morphology and ecology of the Amur snakehead, *Ophiocephalus argus warpachowskii*, acclimatized in the Syr Dar'ya Basin». *Journal of Ichthyology*. 16 (1978):203–208.



- 10 Ermakhanov Z. K., Plotnikov I. S., Aladin N. V., Micklin P. Changes in the Aral Sea Ichthyofauna and Fishery During the Period of Ecological Crisis.// *Lakes & Reservoirs: Research and Management*. 17 (2012):3–9. DOI: 10.1111/j.1440-1770.2012.00492.x.
- 11 Ermakhanov Z. K., Zhubanov K. U., Kalymbetova M. T., Sambayev N. S., Ermakhanova Zh. Z. Current state of the ecosystem of the Small Aral Sea.// 62nd International scientific conference of Astrakhan state technical university. Astrakhan, April 23-27, 2018.
- 12 Fulton T. Rate of growth of sea fishes. *Sc.Sci. Invest.Rept.*, 1902. – 20 p.
- 13 Gascho Landis A.M., Lapointe N.W.R., Angermeier P.L. «Individual growth and reproductive behavior in a newly established population of northern snakehead (*Channa argus*), Potomac River, USA». *Hydrobiologia*. 661 (2011):123–131. DOI 10.1007/s10750-010-0509-z.
- 14 Gusev A.V. *Opredelitel' parazitov presnovodnykh ryb fauny SSSR*. – Leningrad, 1985. – T. II. – 424 s.
- 15 <https://24.kz/ru/news/social/item/338855-rybaki-obespokoyeny-sud'boy-malogo-arala>.
- 16 Kozhabayeva E.B. *Sovremennoye sostoyaniye fonovykh vidov ryb Aralo-Syrdar'inskogo basseyn: avtoreferat dissertatsii na soiskaniye uchenoy stepeni kandidata biologicheskikh nauk: 03.00.08*. – Almaty, 2010. – 21 s.
- 17 Micklin P., Aladin N., Plotnikov I. Introduction to the Aral Sea and its Region. *The Aral Sea: the Devastation and Partial Rehabilitation of a Great Lake*.// Springer Earth System Sciences. Springer, Heidelberg, 2014.- pp 15–40.
- 18 Mamilov N.Sh., Amirbekova F.T., Khabibullin F.Kh., Adilbaev Zh.A., Bekkozhaeva D.K., Kozhabaeva E.B. New data on morphometry and biology of Alien snakehead *Channa Argus* in the Syrdarya river// *Series Biological and Medical (№1)*.-Almaty, 2018.- 67 p.
- 19 Mitrofanov, V. P. *Ryba Kazakhstana. T. 5 / pod red. Mitrofanova V. P.*-Alma-Ata: Gylym, 1992. – 464 s.
- 20 *Opredeleniye ryboproduktivnosti rybokhozyaystvennykh vodoyemov i/ili ikh uchastkov, razrabotka biologicheskikh obosnovaniy predel'no dopustimyykh ulovov ryby i drugikh vodnykh zhyvotnykh, rezhimu i regulirovaniyu rybolovstva na rybokhozyaystvennykh vodoyemakh mezhdunarodnogo, respublikanskogo znacheniy i vodoyemakh OOPT Aralo-Syrdarinskogo basseyna, a takzhe otsenka sostoyaniya rybnykh resursov na rezervnykh vo-doyemakh mestnogo znacheniya. Razd. Aral'skoye more i r. Syrdar'ya //Otchet o NIR NPTSRKH*. – Kyzylorda, 2019. – 175 s.
- 21 Philip Micklin, Nikolai V. Aladin, Tetsuro Chida, Nikolaus Boroffka, Igor S. Plotnikov, Sergey Krivonogov and Kristopher White *The Aral Sea: A Story of Devastation and Partial Recovery of a Large Lake*// Springer Water. – Russia.2020.-109-112pp.
- 22 Perez-Rodriguez A., Morgan J., Koen-Alonso M., Saborido-Rey F *Disentangling genetic change from phenotypic response in reproductive parameters of Flemish Cap cod *Gadus morhua**. *Fisheries Research*.Volume.138 (2013):62-70. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2012.09.004>.
- 23 Ppavdin I.F. *Pukovodstvo po izucheniyu pyb (preimushchestvenno presnovodnykh)*. – 4-ye izd. – M.: Pishchevaya promyshlennost', 1966. – 374 c.
- 24 Sambayev N. S. *Priyemnaya yemkost' Aral'skogo Malogo morya i potentsial'nyye ob'yemy iskusstvennogo vosproizvodstva karpovymi vidami ryb // Vektor GeoNauk*.2019 2(4).-s.29. DOI: 10.24411/2619-0761-2019-10043.
- 25 Shul'man S.S. *Opredelitel' parazitov presnovodnykh ryb fauny SSSR*. – Leningrad, 1984. – T. I. – 428 s.

МРНТИ 69.25.13

<https://doi.org/10.26577/eb.2021.v88.i3.13>

К.Н. Сыздыков\* , Ж.Б. Куанчалеев ,  
Г.А. Аубакирова , С.Е. Мусин 

НАО «Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина», Казахстан, г. Нур-Султан,  
\*e-mail: k\_syzdykov@mail.ru

## ОПЫТ ВЫРАЩИВАНИЯ СУДАКА В УСЛОВИЯХ НИЦ «РЫБНОЕ ХОЗЯЙСТВО»

Научные исследования проводились в Научно-исследовательском центре «Рыбное хозяйство» НАО «Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина» по искусственному выращиванию судака в установках замкнутого водоснабжения в соответствии с грантовой программой по линии МОН РК.

Цель наших исследований – отработка технологических процессов содержания товарного судака в условиях УЗВ.

Для достижения поставленной цели определены были следующие задачи:

- изучение температурного и гидрохимического режима в УЗВ при выращивании судака;
- изучение морфобиологических показателей судака при выращивании в УЗВ.

Отработаны биотехнические приемы выращивания судака в установках замкнутого водоснабжения, проведен контроль гидрохимического режима, роста и развития судака при содержании в бассейнах УЗВ. В ходе проведения экспериментальной работы были использованы общепринятые методы исследования гидрохимического режима воды и проведены морфобиологические исследования судака по общепринятым методикам.

В результате проведенных исследований определены основные гидрохимические параметры, благоприятно оказывающие влияние на рост и развитие судака при выращивании в установках замкнутого водоснабжения.

Применяемые технологические процессы по искусственному выращиванию судака в установках замкнутого водоснабжения дадут возможность повысить воспроизводство рыбной продукции (товарной рыбы – судака), не оказывая воздействие на естественную популяцию.

**Ключевые слова:** установка замкнутого водоснабжения, бассейны, судак, гидрохимический режим.

K.N. Syzdykov\*, Zh.B. Kuanchaleyev, G.A. Aubakirova, S.E. Musin  
S. Seifullin Kazakh AgroTechnical University, Kazakhstan, Nur-Sultan  
\*e-mail: k\_syzdykov@mail.ru

## Experience of growing pikeperch in the conditions of the SRC “Fisheries”

Scientific research was carried out in the scientific research center “Fisheries” of the NCJSC “Kazakh Agrotechnical University S. Seifullin” on the artificial cultivation of pikeperch in recirculating aquatic system (RAS) in accordance with the grant program of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan.

The purpose of our research is to work out the technological processes of keeping commercial pikeperch in the conditions of RAS.

To achieve this goal, the following tasks were defined:

- Study of the temperature and hydrochemical regime in the ultrasonic system during the cultivation of pikeperch;
- To study the morphobiological parameters of pikeperch when growing in RAS.

The biotechnical methods of growing pikeperch in closed water supply installations were worked out, the hydrochemical regime was monitored, and the growth and development of pikeperch was carried out when kept in the basins of RAS. In the course of the experimental work, generally accepted methods of studying the hydrochemical regime of water were used and morpho-biological studies of pikeperch were carried out according to generally accepted methods.

As a result of the conducted studies, the main hydrochemical parameters that favorably affect the growth and development of pikeperch when growing in closed water supply installations were determined.

The applied technological processes for the artificial cultivation of pikeperch in closed water supply installations will make it possible to increase the reproduction of fish products (commercial pikeperch fish) does not affect the natural population.

**Key words:** recirculating aquatic system, fish tanks, pikeperch, hydrochemical mode.

К.Н. Сыздыков\*, Ж.Б. Куанчалеев, Г.А. Аубакирова, С.Е. Мусин

“С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті” КеАҚ, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.

\*e-mail: k\_syzdykov@mail.ru

### «Балық шаруашылығы» ҒЗО-ның жағдайында көксерке балығын өсіру тәжірибесі

С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің “Балық шаруашылығы” ғылыми-зерттеу орталығында ҚР БҒМ Білім және ғылым министрлігінің гранттық бағдарламасына сәйкес тұйық сумен жабдықталған қондырғыларында көксерке жасанды өсіру бойынша ғылыми зерттеулер жүргізілді.

Біздің зерттеулеріміздің мақсаты – ТСЖҚ жағдайында тауарлық көксерке құрамының технологиялық процестерін пысықтау.

Қойылған мақсатқа жету үшін келесі міндеттер анықталды:

- Көксерке өсіру кезінде ТСЖҚ-да температуралық және гидрохимиялық режимді зерттеу;
- ТСЖҚ-де өсіру кезінде көксерке морфобиологиялық көрсеткіштерін зерттеу.

Тұйық сумен жабдықталған қондырғыларында көксерке өсірудің биотехнологиялық тәсілдері пысықталды, гидрохимиялық режимге бақылау жүргізілді және ТСЖҚ бассейндерінде ұстау кезінде көксерке өсуі мен дамуы жүргізілді. Эксперименттік жұмыс барысында судың гидрохимиялық режимін зерттеудің жалпы қабылданған әдістері қолданылды және жалпы қабылданған әдістерге сәйкес көксерке морфо-биологиялық зерттеулері жүргізілді.

Зерттеулер нәтижесінде тұйық сумен жабдықталған қондырғыларында өсірілген кезде көксерке өсуіне және дамуына қолайлы негізгі гидрохимиялық параметрлер анықталды.

Тұйық сумен жабдықталған қондырғыларында көксерке жасанды өсіру бойынша қолданылатын технологиялық процестер балық өнімдерінің өсімін молайтуды арттыруға мүмкіндік береді (тауарлы көксерке балығы) табиғи популяцияға әсер етпейді.

**Түйін сөздер:** тұйық сумен жабдықталған қондырғы, бассейндер, көксерке, гидрохимиялық режим.

### Сокращения и обозначения

УЗВ – установка замкнутого водоснабжения; НИЦ «Рыбное хозяйство» – Научно-исследовательский центр «Рыбное хозяйство»;  $O_2$  – кислорода;  $CO_2$  – углекислого газа; pH – водородный показатель;  $t^{\circ}C$  – температура;  $NO_3$  – нитрат;  $NO_2$  – нитритов; мг/л – миллиграмм на литр; шт – штук; кг – килограмм; шт/м<sup>3</sup> – штук на метр кубический; кг/м<sup>3</sup> – килограмм на метр кубический.

### Введение

В Республике Казахстан европейский судак (*Sander lucioperca*, L.) имеет большое промышленное значение, и рассматривается, как один из основных экспортируемых видов рыб.

Выращивание судака в условиях замкнутого водоснабжения (УЗВ) до недавнего времени в нашей стране не проводилось.

Применяемые промышленные методы рыбоводства преимущественно направлены на по-

лучение жизнестойкой молоди [1,2]. Имеются некоторые научные исследования по, рассматривающие вопросы выращивания ремонтно-маточного стада в УЗВ [3].

Природопользователи и рыбоводы нашей страны считают судака, как объекта рыбоводства, обитающего в естественных водоемах, приспособленного к жизни в реках, водохранилищах и опресненных участках морей. В связи с этим основной промысел судака осуществляется в естественных водоемах.

Современное видение рыбоводства и в целом развития аквакультуры в Республике Казахстан сводится к тому, что возникает необходимость совершенно нового подхода в рыбоводстве с использованием инновационных технологических процессов. В постсоветский период учеными – рыбоводами [4] были проведены работы по разработке биотехники выращивания судака в прудах. В России в ГосНИРХ в 90 годах были проведены первые исследования по промышленному выращиванию молоди судака [1].

В 2009 г. научными сотрудниками ФГБОУ ВО «КГТУ» была разработана полициклическая технология выращивания молоди судака [3, 5].

В Европе опыт выращивания судака основывается преимущественно экстенсивными, полунтенсивными и интенсивными методами. Применение интенсивного метода выращивания подразумевают использование установок замкнутого водоснабжения. Данный метод получил широкое применение в Европе. Возможность выращивания судака в условиях замкнутого водоснабжения обусловлено его высокими вкусовыми качествами, хорошим темпом роста, а также растущей ценой [6]. В странах Польша и Чехия рыбноводные хозяйства в последние годы активно применяют методики выращивания судака в УЗВ [7,8,9,10,11]. В целом в Европе лидирующее место по выращиванию судака на протяжении долгих лет занимает датское предприятие Aquarri A/S (Frederiksværk, Denmark).

Цель наших исследований – отработка технологических процессов содержания товарного судака в условиях УЗВ.

Для достижения поставленной цели определены были следующие задачи:

- Изучение температурного и гидрохимического режима в УЗВ при выращивании судака;
- Изучение морфобиологических показателей судака при выращивании в УЗВ.

### Материалы и методы исследования

Научно-исследовательская работа проводилась на базе Научно-исследовательского центра «Рыбное хозяйство» НАО «Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина. Материалом для исследования послужили европейские судаки (*Sander lucioperca*, L.) в общем количестве 19 штук.

Для характеристики гидрохимического режима в рыбноводных бассейнах отбирались пробы воды. Исследования проводились по стандартным методикам. Контроль гидрохимического режима проводился по следующим основным показателям (параметрам) – содержания кислорода ( $O_2$ ), углекислого газа ( $CO_2$ ), pH – среда, температура воды ( $t^{\circ}C$ ), а также содержание нитратов ( $NO_3$ ) и нитритов ( $NO_2$ ) [12,13].

Проведен морфобиологический анализ судака из водохранилища Астана по общепринятым методикам [14]. Исследовано 19 экземпляров судака. Морфобиологический анализ включает в себя определение 6 признаков пластических признаков, линейных размеров, веса, упитанно-

сти. Статистическая обработка проводилась под руководством Г. Ф. Лакина [15] с использованием программы Excel.

### Результаты исследования и их обсуждения

Для полноценного роста и развития судака в установках замкнутого водоснабжения необходимо создания благоприятного гидрохимического режима. В нашем эксперименте использовалась водопроводная вода. Предварительно водопроводная вода проходила отстаивание с целью выветривания остаточного количества хлора, если таковой имеется в водопроводной воде.

Для котстотации качества водопроводной воды с целью содержания судака нами предварительно данная вода была опробирована неоднократно при содержании в УЗВ научно-исследовательского центра «Рыбное хозяйство» таких видов аквакультуры, как осетровые рыбы, тилапия, клариевый сом и австралийский красноклещевый рак.

Как уже говорилось, для определения гидрохимического режима при содержании судака в установках замкнутого водоснабжения нами определялись основные параметры – содержание растворенного в воде кислорода, углекислого газа, pH – среды, содержание нитратов и нитритов и температурный режим.

Для регулирования температурного режима нами была установлена в УЗВ охладительная установка «чилер». Судак крайне требователен к содержанию кислорода и температурному режиму. Повышение температуры воды приводит к понижению активности рыбы, заболеваниям и другим последствиям.

Температура воды в установках замкнутого водоснабжения при содержании судаков колебалась от  $17,0^{\circ}$  до  $22,4^{\circ}$

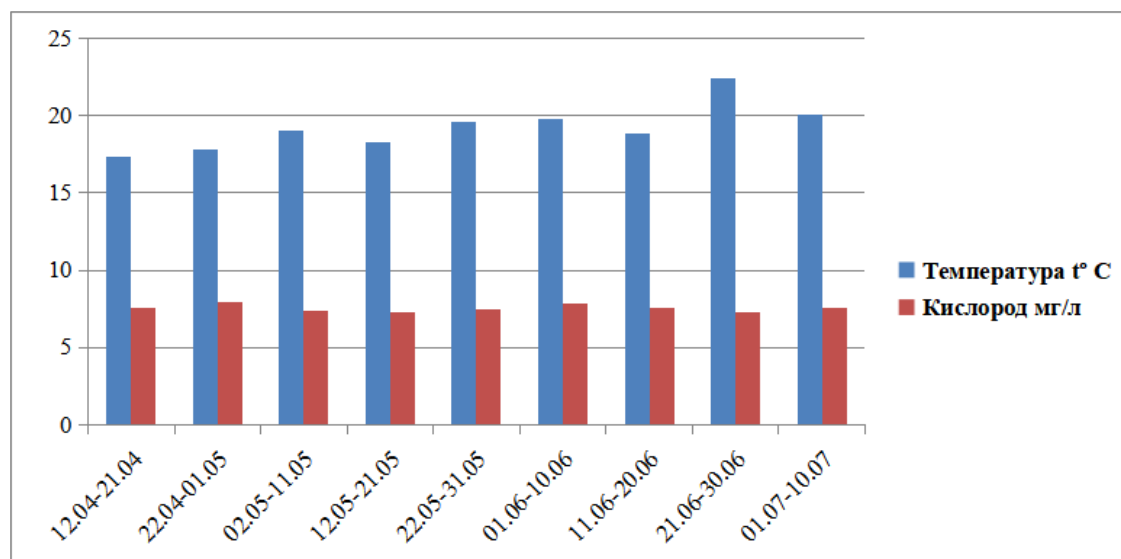
Динамика температуры воды и колебания содержания растворимого кислорода в воде в бассейнах установок замкнутого водоснабжения при содержании судака отражена в диаграмме (Рисунок 1).

В среднем температура воды за периоды исследования в среднем составляла  $19,2 \pm 0,4^{\circ}C$ .

Как показали исследования зарубежных ученых [16,17,18,19,20], при содержании судаков в искусственных условиях наиболее благоприятной температурой является порядка  $17-20^{\circ}C$ . При этом утверждается исследователями, что наиболее высокой скорости роста достигается молодь судака при температурном режиме в пределах  $25-30^{\circ}C$ . Тем не менее, не-

давние исследования чешских и датских ученых [21, 22] свидетельствуют, что оптимальной температурой для судака варьирует в пределах 10-27°C. Авторы утверждают, что в естественных условиях широкий диапазон температуры связан с определенными формами поведения

рыбы, такими как например, в течении дневного времени судак преимущественно обитает на дне, с приходом сумерек и ночного времени рыба устремляется на мелководья с более теплой водой, где и охотится активно на молодь различных рыб.



**Рисунок 1** – Динамика температурного режима и содержания растворимого в воде кислорода в бассейнах УЗВ НИЦ «Рыбное хозяйство» при содержании судака.

В наших исследованиях установлено было, что судак был наиболее активен при температуре воды 17-18°C. Он активно перемещался в бассейне и при кормлении достаточно хорошо поедал предоставляемый корм. В качестве корма судакам предоставляли живую рыбу – молодь карповых рыб (плотва, верховка, окунь и др.). При этом при данных параметрах температуры судак активно охотился за молодь и поглощал ее как в толще воды, так и на поверхности.

При изменении температурного режима, повышении температуры от 19 до 22°C активность судака снижалась. Рыба была пассивной, неохотно принимала корм, при этом захватывала молодь в толще воды и при непосредственной близости рыбы-корма. Часто судак выполнял пустые выпадения – промахи.

Таким образом наши данные свидетельствуют о том, что при содержании судаков в установках замкнутого водоснабжения необходимо регулирования температурного режима с целью поддержания биологической активности рыбы. Для решения данной задачи нами была переоборудована установка замкнутого водоснабжения.

Для поддержания необходимой оптимальной температуры водной среды нами в установку замкнутого водоснабжения был установлен охладитель -чиллер, который и регулировал температурный режим. Чиллер представляет собой агрегат, представляющий из себя как однокомпрессорный агрегат, на выходе/ входе поддерживающий температуру в пределах соответственно +7°C и +10°C. Агрегат компрессорно-конденсаторный изготовлен на базе герметического (спирального) компрессора YH150T1G-1005HP INVOTECN.

При искусственном содержании судака в установках замкнутого водоснабжения большую роль играет такой показатель, как концентрация растворенного кислорода в воде. Среднее колебание растворенного кислорода составляла порядка 7,5±0,1 мг/л. Максимальное концентрация кислорода в воде составило 7,9 мг/л, а минимальная концентрация составила 7,3 мг/л.

Как видно из рисунка 1, за период исследования наблюдались колебания концентрации кислорода в целом незначительные.

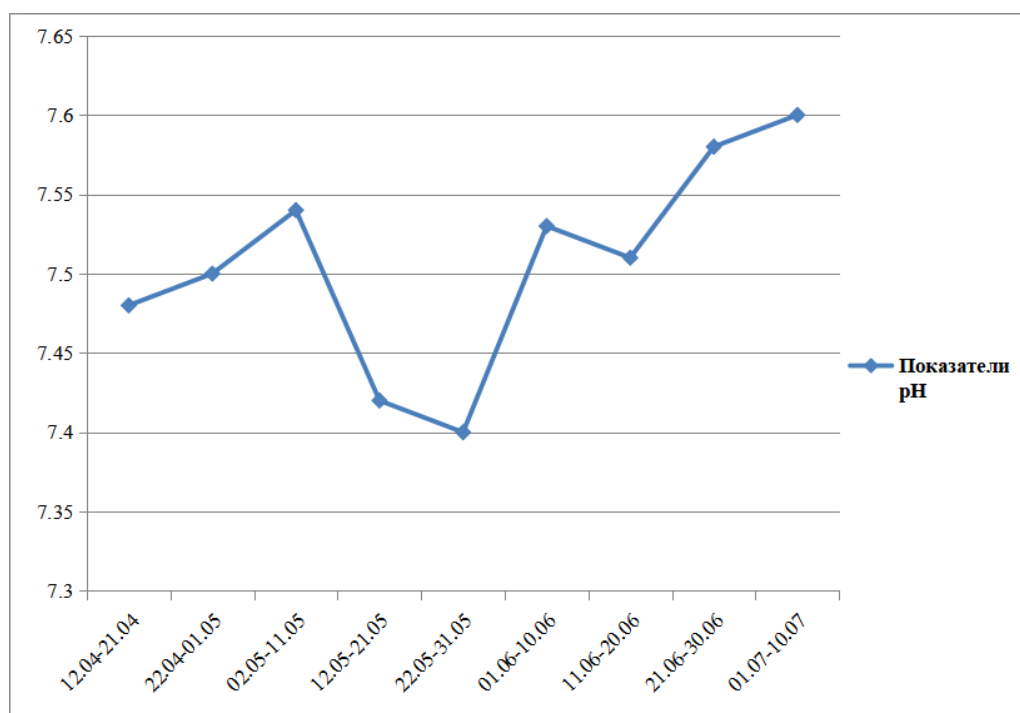
Стабильная концентрация кислорода связано с тем, что для дополнительной аэрации использовались стационарные компрессоры и достаточная циркуляция воды в бассейнах. В начальном периоде эксперимента наблюдалось незначительное снижение концентрации кислорода до 7,3 мг/л. Снижение концентрации кислорода связано с повышением внешней температуры окружающей среды. Это приводило к повышению температуры воды и снижению концентрации кислорода.

В целом, при проведении экспериментальной работы по содержанию судаков в УЗВ колебания концентрации кислорода было незначительное. Показатели кислорода в воде находились на уровне оптимальных для судака, концентрация кислорода не снижалась ниже 7 мг/л, что соответствует потребности организма рыб в кислороде [23].

Важным показателем воды при искусственном выращивании судака в установках замкнутого водоснабжения является величина рН (водородный показатель). Значение водородного

показателя (рН) за время содержания судака в бассейнах УЗВ соответствовала нормативным показателям. В ходе проведения экспериментальных исследований в воде бассейнов УЗВ сохранялась нейтральная и слабощелочная реакция среды.

Среднее значение водородного показателя составило  $7,5 \pm 0,01$ . Максимальное значение рН было отмечено в эксперименте со значением 7,6 к концу июня, начало июля месяцев, минимальное значение водородного показателя составил 7,4 (апрель-май месяцы). Возможно, это связано с тем, что рыба в первой половине эксперимента недостаточно адаптировалась к среде обитания, была пуглива и недостаточно активно питалась, соответственно в воде было меньше продуктов метаболизма. В последующем рыба достаточно адаптировалась к среде обитания, факторам беспокойства и стала активнее питаться. В воде значительно больше происходит накопление органических соединений, остатки каловых масс, пищи и т.д. (Рисунок 2).



**Рисунок 2** – Динамика водородного показателя воды бассейнов УЗВ НИЦ «Рыбное хозяйство» при искусственном содержании судака

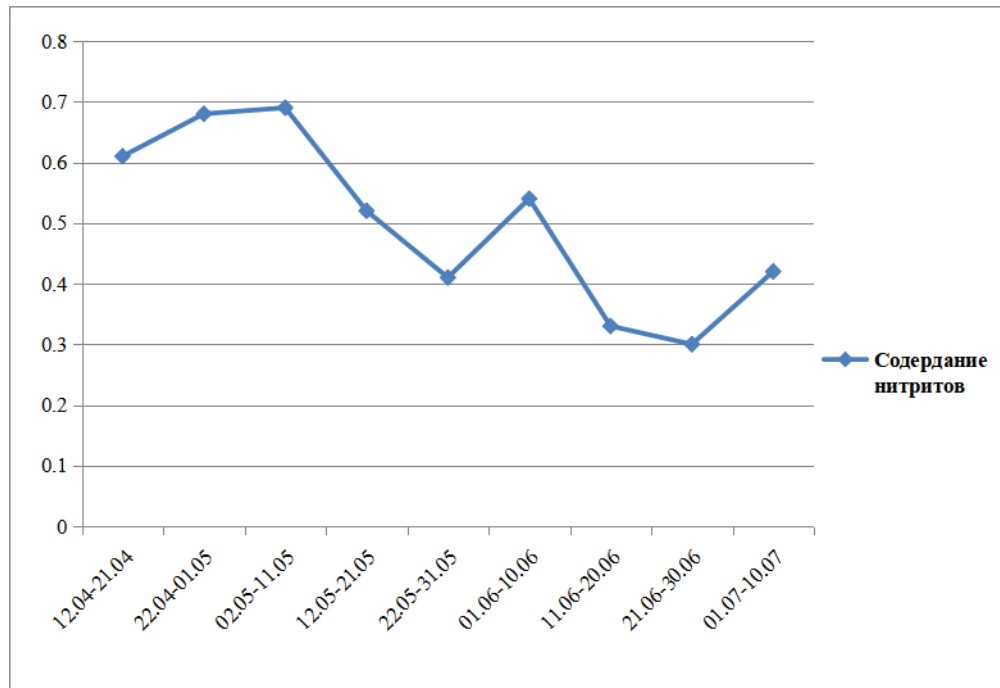
Значительной проблемой при искусственном выращивании рыб в установках замкнутого водоснабжения является скопление нитратов и

нитритов. Чем больше плотность посадки рыб, а также скопление продуктов метаболизма (каловые массы, остатки корма, трупы погибших рыб)

в воде тем более высокий уровень нитрита ( $\text{NO}_2$ ) и нитрата ( $\text{NO}_3$ ). Для нитрификации данных соединений в УЗВ установлены были биофильтры. Эффективная нитрификация биофильтрами осуществляется при равномерной нагрузке биомассы рыбы.

В процессе исследования нами были установлены следующие результаты: концентрация

нитритов в воде бассейнов УЗВ в среднем за период выращивания судака составило  $0,50 \pm 0,01$  мг/л. При этом максимальные показатели концентрации нитритов равно было 0,69 мг/л, а минимальное содержание достигало 0,30 мг/л. Динамика концентрации нитритов в бассейнах УЗВ при выращивании судака отражены в рисунке 3.



**Рисунок 3** – Динамика концентрации нитритов воды бассейнов УЗВ НИЦ «Рыбное хозяйство» при искусственном содержании судака.

Как видно на рисунке 3, повышенное содержание нитритов наблюдалось в начале исследований. Это связано с большой нагрузкой биомассы рыбы на биофильтры в период их запуска. Кроме того, следует отметить, что стрессовое воздействие на судака способно на длительное время нарушить пищевое поведение рыб, проявляемое в полном или частичном поедании расчетной дозы корма. Корма оседают на дно бассейна и подвергаются разложению. Это способствует накоплению органических веществ в воде бассейнов и соответственно, повышению концентрации нитритов.

Регистрируемые в период исследования концентрации нитритов в УЗВ не превосходили 0,69 мг/л, а средняя величина нитритов составила порядка 0,5 мг/л. Следует учесть, что содержание нитритов несколько превышает допустимые нормы. Мы связываем это с тем, что биофильтр

недостаточно полно осуществлял процесс нитрификации.

Следует отметить на различия в обозначении нормативной допустимой величины данного показателя. У одних авторов допустимая норма содержания нитритов до 0,20 мг/л, других исследователей только нитритного азота до 0,20 мг/л [24, 25]. Учитывая трехатомную структуру молекулы и близкий атомный вес азота и кислорода, допустимую концентрацию нитритов считают до 0,60 мг/л. Наши исследования свидетельствуют о том, что предельная концентрация нитритов соответствует нормативным данным.

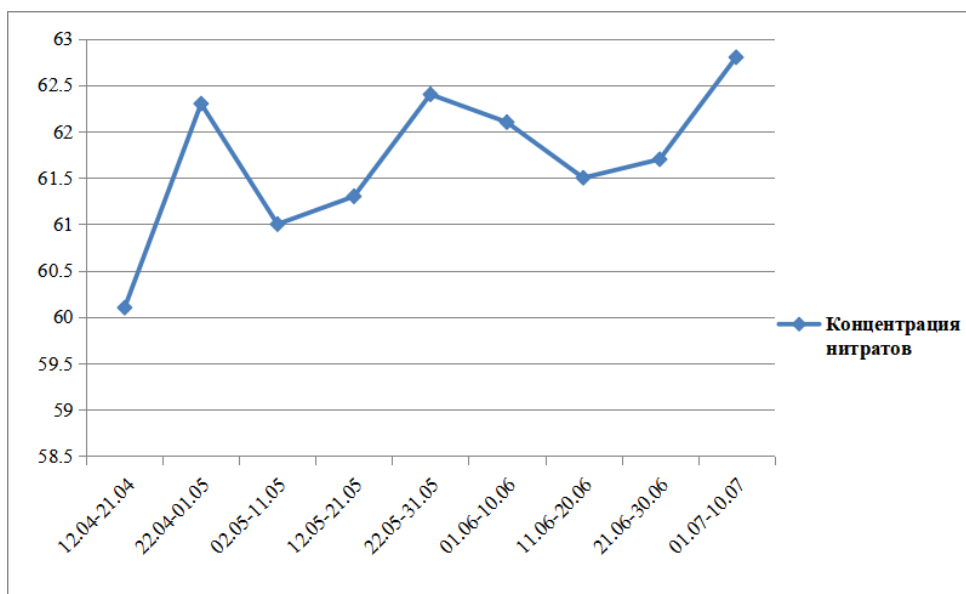
При искусственном содержании судака в установках замкнутого водоснабжения концентрация нитратов соответствовало допустимым показателям. Содержание нитратов в воде за период проведения экспериментальной работы

в среднем составило  $61,6 \pm 0,02$  мг/л, при максимальной концентрации до 62,8 мг/л и минимальной концентрации 61,0 мг/л. Динамика концентрации нитратов за период проведения эксперимента отражены на рисунке 4.

Как свидетельствуют наши показатели концентрации нитратов, в целом полученные данные соответствуют данным, полученными ис-

следователями, проводившим работы по данному направлению [21, 25].

Полученные нами в ходе исследования данные дают основания считать, что в период экспериментальной работы по искусственному выращиванию судака в установках замкнутого водоснабжения были созданы благоприятные гидрохимические условия для содержания их.



**Рисунок 4** – Динамика концентрации нитратов воды бассейнов УЗВ НИЦ «Рыбное хозяйство» при искусственном содержании судака.

Маточный материал судака, содержащийся в установках замкнутого водоснабжения НИЦ «Рыбное хозяйство» были от-

ловлены из естественного водоема (Селетинское водохранилище) 10 марта 2021 года (Рисунки 5-6).



**Рисунок 5** – Установка замкнутого водоснабжения НИЦ «Рыбное хозяйство» для выращивания судака



**Рисунок 6** – Бассейновое содержание судака в НИЦ «Рыбное хозяйство»



Перед посадкой в бассейны была проведена бонитировка производителей обыкновенного судака. Самцов от самок посадили в отдельные бассейны. Морфобиологический анализ рыб осуществлялся по традиционной схеме [14]. Используются следующие обозначения: L – полная длина рыбы, l – длина тела без хвостового плавника, Q – полная масса, Fulton – коэффициент упитанности по Фультону, lc – длина головы; H – наибольшая высота тела; НТТ – наибольшая ширина тела; h – наименьшая высота тела; hТТ

– наименьшая ширина тела; min, max, M – соответственно минимальное, максимальное и среднее значения показателя,  $\pm m$  – ошибка среднего.

Морфобиологическая характеристика обыкновенного судака приведена в таблице 1. По данным исследований длина тела производителей в среднем составила: 46,2 см, длина тела без хвостового плавника 40,1 см, масса тела 889 г, упитанность по Фультону 1,3. Длина головы в среднем составляет 25,72 %, наибольшая высота тела 23,46 %, наибольшая ширина тела 21,69 %.

**Таблица 1** – Морфобиологические показатели обыкновенного судака (самка n=12, самец n=7)

Признаки	min-max		M $\pm$ m	
	самка	самец	самка	самец
L, см	40,0-58,2	39-50	47,30 $\pm$ 4,72	44,41 $\pm$ 2,64
l, см	34,9-52,2	35,2-44	41,04 $\pm$ 4,52	38,55 $\pm$ 2,42
Q, г	505-1785	560-1085	953,3 $\pm$ 334,72	780 $\pm$ 132,85
Fulton	1,19-1,61	1,16-1,81	1,31 $\pm$ 0,08	1,35 $\pm$ 0,15
B %				
lc	19,6-30,1	20,8-30,4	25,59 $\pm$ 2,43	26,57 $\pm$ 2,40
H	21,6-26,8	20,8-29,8	23,80 $\pm$ 1,34	23,48 $\pm$ 2,27
h	18,9-23,8	20,0-29,8	21,63 $\pm$ 1,06	22,38 $\pm$ 2,75
НТТ	10,8-14,9	11,6-15,8	12,45 $\pm$ 0,75	12,59 $\pm$ 1,00
hТТ	9,8-14,4	9,7-14,2	10,97 $\pm$ 0,78	11,27 $\pm$ 1,20

Как видно из таблицы 1, морфобиологические признаки соответствуют нормативным показателям по искусственному воспроизводству обыкновенного судака.

Средняя масса рыб на момент первого контрольного облова составило: самок судака – 0,95 кг и самцов – 0,78 кг. Плотность посадки была низкая – в бассейне, где содержались самки судака (12 штук, общей массой 11,44 кг) составило 2,86 кг/м<sup>3</sup> (3 шт/м<sup>3</sup>). Во втором бассейне содержались самцы судака в количестве 7 штук, общей массой 5,46 кг. Плотность посадки составило 1,75 шт/м<sup>3</sup> (1,365кг/м<sup>3</sup>).

### Заключение

Таким образом, проведенные исследования по искусственному выращиванию судака на базе НИЦ «Рыбное хозяйство» свидетельству-

ют о том, что для выращивания судака необходимо соблюдение технологических процессов с учетом биологических особенностей судака. Результаты исследования указывают на то, что наиболее благоприятным гидрохимическим режимом для выращивания судака в искусственных условиях является достаточная концентрация растворенного кислорода в пределах 7 мг/л. Наши данные подтверждаются исследованиями зарубежных авторов, проводивших исследования в данном направлении [23]

В наших исследованиях установлено было, что судак был наиболее активен при температуре воды 17-18<sup>0</sup>С, данные температурный режим благоприятен для рыб, об этом свидетельствуют исследования И.В. Проскурено, С.В. Понамарева и др. ученых.

Среднее значение водородного показателя составило 7,5 $\pm$ 0,01. При искусственном выра-

щивании судака в воде бассейнов УЗВ сохранялась нейтральная и слабощелочная реакция среды, что так же благоприятно влияло на функциональное состояние рыб.

В процессе исследования нами были установлены следующие результаты: концентрация нитритов в воде бассейнов УЗВ в среднем за период выращивания судака составило  $0,50 \pm 0,01$  мг/л. Некоторое повышение концентрации нитритов в начальном этапе эксперимента было связано с большой нагрузкой биомассы рыбы на биофильтры в период их запуска. Концентрации нитратов, в целом полученные данные соответствуют данным, полученными исследователями, проводившим работы по данному направлению [21,25] и в среднем составило  $61,6 \pm 0,02$  мг/л.

Морфобиологические показатели маточного поголовья, содержащегося в установках замкнутого водоснабжения НИЦ «Рыбное хозяйство», соответствуют нормативным показателям европейского судака (*Sander lucioperca*, L.) описанного в научных источниках [3,4,24].

### Конфликт интересов

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

### Благодарности

Авторы статьи благодарны руководству Комитета рыбного хозяйства Министерства экологии, геологии и природных ресурсов РК, Акмолинской территориальной инспекции за оказание помощи в отлове маточного поголовья судака из естественных водоемов.

### Источник финансирования

Работа выполнена в соответствии с гос. бюджетной программой финансирования грантовых тематик научно-технических проектов МОН РК на 2021-2023 годы на тему «Разработка биотехнических приемов искусственного воспроизводства судака в установках с замкнутым циклом водоснабжения (УЗВ)», приоритетного направления «Наука о жизни и здоровье», специализированного направления «Биотехнологии в сельском хозяйстве и охране окружающей среды», «Изучение биоресурсов Казахстана, разработка технологий сохранения и воспроизводства биоразнообразия экосистем, восстановления экологически нарушенных экосистем под-держке».

### Литература

- 1 Королев А.Е. Биологические основы получения жизнестойкой молоди судака: дисс. ... канд. биол. наук. – СПб., 2000. – 188 с.
- 2 Пьянов Д.С., Дельмухаметов А.Б. Выращивание посадочного материала судака в установках замкнутого водоснабжения для выпуска в естественные водоемы // Труды второй международной научно-практической конференции «Водные биоресурсы, аквакультура и экология водоемов». – Калининград: ФГБОУ ВПО «КГТУ», 2014. – С. 67-69
- 3 Дельмухаметов А.Б. Биотехника формирования и эксплуатации ремонтно-маточного стада судака в установках замкнутого цикла водообеспечения: дисс. ... канд. биол. наук. – Калининград, 2012. – 157 с.
- 4 Михеев П.В., Мейснер Е.В. Разведение судака в прудах. – М.: Пищевая промышленность, 1966. – 64 с.
- 5 Биотехнический и производственный потенциал пастбищной аквакультуры на трансграничных водоемах России и Литвы / Е.И. Хрусталева, Т.М. Курапова, В.В. Жуков и др. – Калининград: Изд-во ИП Мишуткина И.В., 2009. – 198 с.
- 6 Ryanov D., Delmukhametov A., Khrustalev E. Pike-perch farming in recirculating aquaculture systems (RAS) in the Kaliningrad region // 9th Baltic Conference on Food Science and Technology “Food for consumer well-being” FOODBALT 2014 Conference Proceedings. Jelgava: LLU, 2014. – P. 315-317
- 7 Baránek V. Comparison of two weaning methods of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) from natural diets to commercial feed / V. Baránek, J. Dvořák, V. Kalenda, J. Mareš, J. Zrůstová, P. Spurný // Proceedings of International Ph.D. Students Conference “MendelNet’07 Agro”. Brno: Mendel University, 2007. – P. 45.
- 8 Szkudlarek M., Zakęś Z. Effect of stocking density on survival and growth performance of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), larvae under controlled conditions // Aquaculture Research. – 2007. – № 15. – P. 67-81.
- 9 Zakęś Z. Effect of feeding frequency on growth and size variation in juvenile pikeperch, *Sander lucioperca* (L.) / Z. Zakęś, A. Kowalska, S. Czerniak, K. Demska-Zakęś // Czech J. Anim. Sci. – 2006. – Vol. 51. – P. 85-91.
- 10 Zakęś Z. Impact of feeding pikeperch *Sander lucioperca* (L.) feeds of different particle size on the results of the initial on-growing phase in recirculation systems / Z. Zakęś, M. Hopko, A. Kowalska, K. Partyka, K. Stawecki // Archives of Polish Fisheries. – 2013. – Vol. 21 (1). – P. 3-9.
- 11 Kristan J., Blecha M., Policar T. Alcalase treatment for elimination of stickiness in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) eggs under controlled conditions // Aquaculture Research. – 2015. – P. 1–6.
- 12 Юдин Ф.А. Методика агрохимических исследований. – М.: Колос, 1980. – 366 с.

- 13 Семенов А.Д. д-р хим. наук проф. Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши. – Л.: Гидрометеорологиздат, 1977. – 542 с.
- 14 Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. – М.: Пищевая промышленность, 1966. – 376 с.
- 15 Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш.школа, 1990. – 352 с.
- 16 Hilge V. Beobachtungen zur Aufzucht von Zandern (*Sander lucioperca* L.) im Labor // Archiv für Fischereiwissenschaft. – 1990. – Vol. 40 (1-2). – P. 167-173
- 17 Kestemont P. Feeding and nutrition in european percid fishes – a review / P. Kestemont, X. Xu, G. Blanchard, C. Mélard, M. Gielen, J. Brun-Bellut, P. Fontaine // Proceedings of PERCIS. University of Wisconsin, Madison, WI, USA – 2003. – P. 39–40
- 18 Ronyai A., Csengeri I. Effect of feeding regime and temperature on ongrowing results of pikeperch (*Sander lucioperca* L.) // Aquaculture Research. – 2008. – Vol. 39. – P. 820–827.
- 19 Wang N., Xu X.L., Kestemont P. Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*) // Aquaculture. – 2009. – Vol. 289. – P. 70–73.
- 20 Willemsen J. Influence of temperature on feeding, growth and mortality of pikeperch and perch // Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Ungewandte Limnologie. – 1978. – Vol. 20. – P. 2127–2133.
- 21 Policar T., Kristan J., Blecha M., Vanis J. Adaptation and Culture of Pikeperch (*Sander lucioperca* L.) Juveniles in Recirculating Aquaculture System (RAS). Published in the Edition of Methodologies, Faculty of Fisheries and Protection of Waters, University of South Bohemia in České Budějovice, Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany, Czech Republic. – 2016. – 40 p.
- 22 Frisk M., Skov P.V., Steffensen J.F. Thermal optimum for pikeperch (*Sander lucioperca*) and the use of ventilation frequency as a predictor of metabolic rate // Aquaculture. – 2012. – Vol. 324-325. – P. 151-157
- 23 Сорвачев К.Ф. Основы биохимии питания рыб. – М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1982. – 247 с.
- 24 Пономарев С.В., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А. Индустриальное рыбоводство. – М.: Лань, 2013. – 420 с.
- 25 Проскуренко И.В. Замкнутые рыбоводные установки. – М.: ВНИРО. – 2003. – 152 с.

#### References

- 1 Baránek V. (2007) Comparison of two weaning methods of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) from natural diets to commercial feed // Proceedings of International Ph.D. Students Conference “MendelNet’07 Agro”. Brno: Mendel University, 45p.
- 2 Del'muhametov A.B. (2012) Biotehnika formirovaniya i jekspluatcii remontno-matochnogo stada sudaka v ustanovkakh zamknutogo cikla vodoobezpecheniya [Biotechnics of the formation and operation of the repair and brood stock of walleye in closed-cycle water supply installations] diss. ... kand. biol. nauk. – Kaliningrad, 157 p.
- 3 Frisk M., Skov P.V., Steffensen J.F. (2012) Thermal optimum for pikeperch (*Sander lucioperca*) and the use of ventilation frequency as a predictor of metabolic rate. Aquaculture. vol. 324-325. pp.151-157
- 4 Hilge V. (1990) Beobachtungen zur Aufzucht von Zandern (*Sander lucioperca* L.) im Labor. Archiv für Fischereiwissenschaft. vol. 40 (1-2), pp. 167-173
- 5 Hrustalev E.I., Kurapova T.M., Zhukov V.V. (2009) Biotehnicheskij i proizvodstvennyj potencial pastbishhnoj akvakul'tury na transgranichnyh vodoemah Rossii i Litvy [Biotechnical and production potential of pasture aquaculture in transboundary reservoirs of Russia and Lithuania] – Kaliningrad: Izd-vo IP Mishutkina I.V., 198 p.
- 6 JUDIN F.A. (1980) Metodika agrohicheskikh issledovanij [Methods of agrochemical research] M., Kolos, 366p.
- 7 Kestemont P., Kestemont P., Xu X., Mélard C., Gielen M., Brun-Bellut J., Fontaine P. Blanchard G. (2003) Feeding and nutrition in european percid fishes – a review. Proceedings of PERCIS. University of Wisconsin, Madison, WI, USA, pp. 39–40
- 8 Korolev A.E. (2000) Biologicheskie osnovy poluchenija zhiznestojkoj molodi sudaka [Biological bases of obtaining resilient young walleye]. diss ... kand. biol. nauk. – SPb, 188 p.
- 9 Kristan J., Blecha M., Policar T. (2015) Alcalase treatment for elimination of stickiness in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) eggs under controlled conditions. Aquaculture Research, pp. 1–6.
- 10 Lakin G.F. (1990) Biometrija [Biometrics] M.: Vyssh.shkola, 352 p.
- 11 Miheev P.V., Mejsner E.V. (1966) Razvedenie sudaka v purdah [Breeding of walleye in ponds] – M.: Pishhevaja promyshlennost', 64 p.
- 12 P'janov D.S., Del'muhametov A.B. (2014) Vyrashhivanie posadochnogo materiala sudaka v ustanovkakh zamknutogo vodosnabzheniya dlja vypuska v estestvennye vodoemy [Cultivation of walleye planting material in closed water supply installations for release into natural reservoirs] Trudy vtoroj mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoi konferencii «Vodnye bioresursy, akvakul'tura i jekologija vodoemov». Kaliningrad: FGBOU VPO «KGTU», pp. 67-69
- 13 Policar T., Kristan J., Blecha M., Vanis J. (2016) Adaptation and Culture of Pikeperch (*Sander lucioperca* L.) Juveniles in Recirculating Aquaculture System (RAS). Published in the Edition of Methodologies, Faculty of Fisheries and Protection of Waters, University of South Bohemia in České Budějovice, Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany, Czech Republic, 40p.
- 14 Ponomarev S.V., Grozesku JU.N., Bahareva A.A. (2013) Industrial'noe rybovodstvo. [Industrial fish farming] M.: Lan', 420 p.
- 15 Pravdin I.F. (1966) Rukovodstvo po izucheniju ryb [Guide to the study of fish] M.: Pishhevaja promyshlennost', 376 p.
- 16 Proskurenko I.V. (2003) Zamknutyje rybovodnye ustanovki [Closed fish-breeding installations] M.: VNIRO. 152 p.
- 17 Pyanov D., Delmukhametov A., Khrustalev E. (2014) Pike-perch farming in recirculating aquaculture systems (RAS) in the Kaliningrad region. 9th Baltic Conference on Food Science and Technology “Food for consumer well-being” FOODBALT 2014 Conference Proceedings. Jelgava: LLU, pp. 315-317

- 18 Ronyai A., Csengeri I. (2008) Effect of feeding regime and temperature on on-growing results of pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Aquaculture Research*. vol. 39, pp.820–827.
- 19 Semenov A.D. (1977) *Rukovodstvo po himicheskomu analizu poverhnostnyh vod sushi* [Guidelines for the chemical analysis of land surface waters] L.: Gidrometeoizdat, 542 p.
- 20 Sorvachev K.F. (1982) *Osnovy biohimii pitaniya ryb* [Basics of biochemistry of fish nutrition] M.: Legkaja i pishh. prom-st', 247 p.
- 21 Szkudlarek M., Zakęs Z. (2007) Effect of stocking density on survival and growth performance of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), larvae under controlled conditions. *Aquaculture Research*. no. 15, pp. 67-81.
- 22 Wang N., Xu X.L., Kestemont P. (2009) Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*. vol. 289, pp.70–73.
- 23 Willemsen J. (1978) Influence of temperature on feeding, growth and mortality of pikeperch and perch. *Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Ungewandte Limnologie*. vol. 20, pp.2127–2133.
- 24 Zakęs Z., Hopko M., Kowalska A., Partyka K., Stawecki K. (2013) Impact of feeding pikeperch *Sander lucioperca* (L.) feeds of different particle size on the results of the initial on-growing phase in recirculation systems. *Archives of Polish Fisheries*., vol. 21 (1), pp. 3-9.
- 25 Zakęs Z., Kowalska A., Czerniak S., Demska-Zakęs K. (2006) Effect of feeding frequency on growth and size variation in juvenile pikeperch, *Sander lucioperca* (L.). *Czech J. Anim. Sci.*, vol. 51., pp. 85-91.

5-бөлім  
**АДАМ ЖӘНЕ ЖАНУАРЛАР  
ФИЗИОЛОГИЯСЫ**

---








Section 5  
**HUMAN AND ANIMAL  
PHYSIOLOGY**

---

Раздел 5  
**ФИЗИОЛОГИЯ  
ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

МРНТИ 31.23.21: 34.45.05

<https://doi.org/10.26577/eb.2021.v88.i3.14>

Р.Б. Сейдахметова\* , К.Д. Рахимов , Д.С. Тутай ,  
Т.Т. Муханова , А.А. Жолбарыс , А. Аманжан ,  
С.М. Адекенов 

АО «Международный научно-производственный  
холдинг «Фитохимия», Казахстан, г. Караганда  
\*e-mail: [info@phyto.kz](mailto:info@phyto.kz)

## НЕЙРОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛКАЛОИДОВ

Природные алкалоиды являются перспективными соединениями для разработки на их основе новых отечественных нейротропных препаратов. В статье представлены результаты исследования нейротропного действия растительных алкалоидов (гармин, дельфинифолин, эхинопсин, зонгорамин). Оценка нейротропного действия образцов алкалоидов проведена на модели экспериментального стресса с применением тестов «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». В результате проведенных исследований установлено, что образцы растительных алкалоидов дельфинифолин, гармин, эхинопсин и зонгорамин в дозе 10 мг/кг проявляют нейротропное действие, повышая уровень ориентировочно-исследовательской деятельности, понижая уровень тревожности, чувство страха и тревоги у животных в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Наличие арильной группы в молекулах гармина, дельфинифолина, зонгорамина и эхинопсина имеет важное значение для их нейротропной активности. Анализ «структура-активность» показывает, что выявленная в эксперименте нейротропная активность дельфинифолина и зонгорамина связана с наличием в строении их молекул N-этильной группы, эхинопсина – N-метильной группы пиридиновой части, гармина – содержанием NH-группы в индольном кольце, взаимодействующих с соответствующими рецепторами. Изучаемые растительные алкалоиды перспективны для создания новых лекарственных субстанций для лечения заболеваний центральной нервной системы.

**Ключевые слова:** алкалоиды, гармин, дельфинифолин, эхинопсин, зонгорамин, нейротропное действие, экспериментальная модель.

R.B. Seydakhmetova\*, K.D. Rakhimov, D.S. Tutay,  
T.T. Mukhanova, A.A. Zholbarys, A. Amanzhan, S.M. Adekenov  
JSC "International Research and Production  
Holding "Phytochemistry", Kazakhstan, Karaganda  
\*e-mail: [info@phyto.kz](mailto:info@phyto.kz)

### Neurotropic activity of plant alkaloids

Natural alkaloids are promising compounds for the development of new domestic neurotropic drugs based on them. The article presents the results of a study of the neurotropic effect of plant alkaloids (harmine, delphinifolin, echinopsin, zongoramine). The assessment of the neurotropic effect of the samples of alkaloids was carried out on the model of experimental stress using the tests «Open field» and «Raised cross-shaped maze». As a result of the conducted studies, it was found that samples of plant alkaloids delphinifolin, harmine, echinopsin and zongoramine at a dose of 10 mg / kg exhibit a neurotropic effect, increasing the level of research activity, reducing the level of anxiety, fear and anxiety in animals in the tests «Open Field» and «Raised cross-shaped maze». The presence of an aryl group in the molecules of harmine, delphinifolin, zongoramine, and echinopsin is important for their neurotropic activity. The structure-activity analysis shows that the neurotropic activity of delphinifolin and zongoramine detected in the experiment is associated with the presence of N-ethyl group molecules in their structure, echinopsin – the N-methyl group of the pyridine part, and harmine – the content of the NH group in the indole ring interacting with the corresponding receptors. The studied plant alkaloids are promising for the creation of new medicinal substances for the treatment of diseases of the central nervous system.

**Key words:** alkaloids, harmine, delphinifolin, echinopsin, zongoramine, neurotropic effect, experimental model.

Р.Б. Сейдахметова\*, К.Д. Рахимов, Д.С. Тутай,  
Т.Т. Муханова, А.А. Жолбарыс, А. Аманжан, С.М. Адекенов  
"Фитохимия" Халықаралық ғылыми-өндірістік  
холдингі АҚ, Қазақстан, Қарағанды  
\*e-mail: info@phyto.kz

### Өсімдік алкалоидтарының нейротропты белсенділігі

Табиғи алкалоидтар жаңа отандық нейротропты препараттарды жасау үшін перспективті қосылыстар болып табылады. Мақалада өсімдік алкалоидтарының (гармин, дельфинифолин, эхинопсин, зонгорамин) нейротропты әсерін зерттеу нәтижелері келтірілген. Алкалоид үлгілерінің нейротропты әсеріне бағалау жүргізу «Ашық алаң» және «Крест тәрізді көтеріңкі лабиринт» тестілерін қолдана отырып, эксперименттік күйзеліс моделінде жүзеге асырылды. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде дельфинифолин, гармин, эхинопсин және зонгорамин өсімдік алкалоидтарының үлгілері 10 мг/кг дозада «Ашық алаң» мен «Крест тәрізді көтеріңкі лабиринт» тестілерінде жануарлардың бағдарлау-зерттеу қызметінің деңгейін жоғарылатып, сондай-ақ мазасыздық деңгейін, қорқыныш пен алаңдаушылық сезімін төмендете отырып, нейротропты әсер ететіні анықталды. Гармин, дельфинифолин, зонгорамин және эхинопсин молекулаларында арил тобының болуы олардың нейротропты белсенділігі үшін өте маңызды болып табылады. «Құрылым-белсенділік» талдауы көрсеткендей, экспериментте анықталған дельфинифолин мен зонгораминнің нейротропты белсенділігі олардың молекулаларының құрылымында тиісті рецепторлармен өзара әрекеттесетін N-этил тобының, эхинопсин молекулаларында пиридин бөлігінің N-метил тобының, гармин молекулаларында индол сақинасындағы NH-тобының болуымен байланысты. Зерттелген өсімдік алкалоидтары орталық жүйке жүйесінің ауруларын емдеуге арналған жаңа дәрілік субстанцияларды жасау үшін перспективті болып табылады.

**Түйін сөздер:** алкалоидтар, гармин, дельфинифолин, эхинопсин, зонгорамин, нейротропты әсер, эксперименттік модель.

### Введение

Нейротропные препараты способны активировать интегративную деятельность мозга, оказывать стимулирующее влияние на обучение, улучшать память и умственную деятельность. Они применяются при старении организма, психоорганических синдромах нейродегенеративного или сосудистого генеза, острых и хронических нарушениях мозгового кровообращения, инсультах и энцефалопатиях [1-4].

Известны две группы препаратов, стимулирующих центральную нервную систему (ЦНС): к первой группе относятся психостимулирующие средства, активирующие психическую и физическую деятельность организма, вызывающие эффекты эйфории, физического и психического благополучия. Из алкалоидов пуринового ряда наиболее сильный возбуждающий эффект на ЦНС оказывает кофеин, менее сильный – теofilлин и еще менее – теобромин. Важную роль в стимулировании ЦНС кофеином играет его способность взаимодействовать с пуриновыми или аденозиновыми рецепторами мозга, эндогенным лигандом, которых является пуриновый нуклеозид – аденозин.

Вторая группа стимуляторов ЦНС – аналептики – препараты, возбуждающие центры

продолговатого мозга. Из основных препаратов этого типа является камфора, кордиамин, коразол, лобелин, цитизин, анабазин гидрохлорид, стрихнин.

Интерес к изучению растительных алкалоидов, влияющих на деятельность нервной системы постоянно растёт и определяется, прежде всего, тем, что многие из них являются незаменимыми лекарственными средствами [5-7]. Имеются примеры соединений, включающие в свой состав  $\beta$ -карболиновый фрагмент и представляющие большой интерес в качестве новых физиологически активных агентов для лечения заболеваний центральной нервной системы [8-12].

Бразильскими исследователями проведен анализ нейропротекторной активности экстрактов растений *Banisteriopsis caapi* C.V.Morton и *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. [13]. Исследование проводилось на клеточной линии нейробластомы человека SH-SY5Y, которая ранее зарекомендовала себя как модель болезни Паркинсона для оценки нейропротекторного эффекта веществ [14, 15]. Результаты их исследований продемонстрировали не только нейропротекторную активность экстрактов вышеназванных растений, но и пролиферацию нейрональных клеток, что дает возможность рассматривать производные бета-карболинов перспективными для лечения

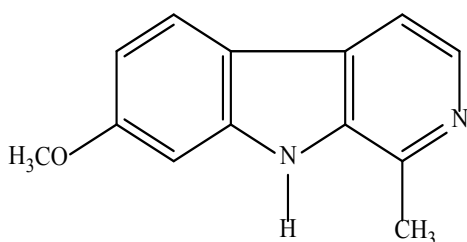
болезни Паркинсона и других нейродегенеративных заболеваний.

В работе [16] проведены исследования гармина (1), выделенного из *Ayahuasca*, на клеточных культурах нейронов человека (hNPC, 97 %), полученных из плюрипотентных стволовых клеток. Под влиянием гармина (1) пул пролиферирующих hNPC увеличился на 71,5 %, что объясняет его влияние на пролиферацию *in vitro* и антидепрессантные эффекты *in vivo* [17, 18]. Исследователи национального института технологий и трансляционной медицины Бразилии подтвердили влияние гармина (1) на поведенческие параметры на модели хронического легкого стресса, что доказывает его антидепрессантные свойства [19].

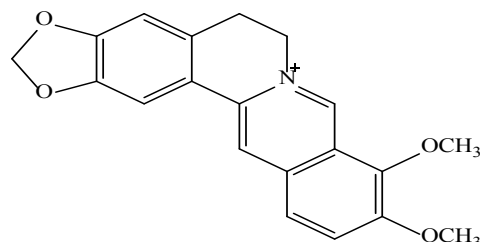
Результаты изучения алкалоида берберина (2), выделенного из *Berberis aristata* Linn. показали, что (2) активно действует на центральную нервную систему, в част-

ности обладает способностью ингибировать моноаминоксидазу-A, фермент, участвующий в деградации норэпинефрина и серотонина (5-НТ). Берберин (2) вызывает умеренное гипотермическое действие у крыс и проявляет анальгетический эффект у мышей. Результаты этих исследований свидетельствуют, что берберин (2) проявляет антидепрессантный эффект, возможно, путем модуляции биогенных аминов мозга (норэпинефрин, серотонин и дофамин) [20].

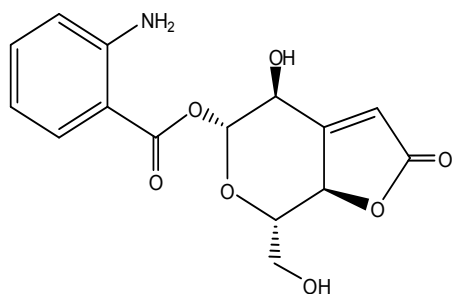
Изучена нейропротекторная активность алкалоидов индигофинов (A-F), выделенных из листьев *Isatis indigotica* Fortune в отношении H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированного клеточного повреждения нейробластомы человека SH-SY5Y. Результаты показали, что на моделях повреждения клеток SH-SY5Y, вызванного H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, индигофин А (3) и В (4) проявляли выраженную нейропротекторную активность [21].



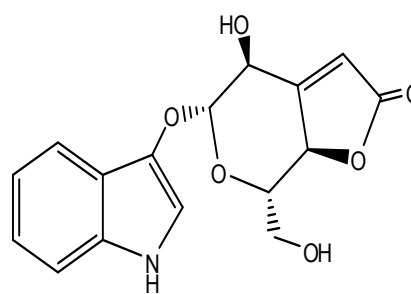
(1)



(2)



(3)

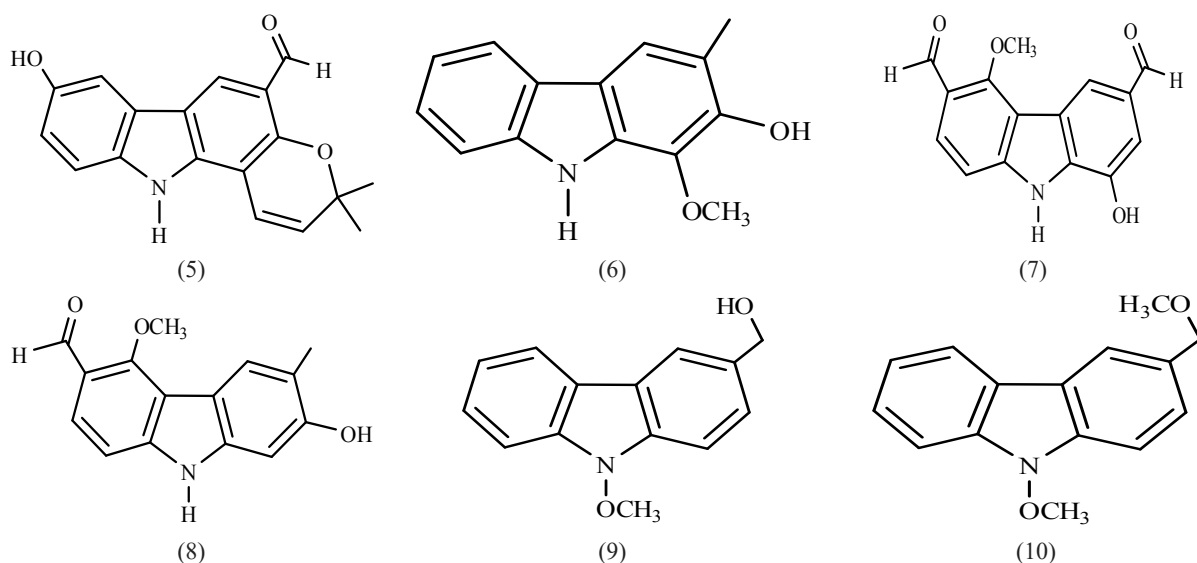


(4)

При химическом изучении плодов *Clausena lansium* Skeels, произрастающих в Южном Китае, выделены 16 карбазольных алкалоидов, шесть из которых новые: клаузеналансины А-Ф (5-10), которые протестированы *in vitro* на предмет их нейропротекторного действия против индуцированной 6-гидроксидамином гибели клеток в клетках нейробластомы человека SH-SY5Y [22]. При этом, карбазольные алкалоиды проявили нейропротекторные

эффекты, имея значения ЛД<sub>50</sub> от 0,36 ± 0,02 до 10,69 ± 0,15 мкМ, что обосновывает регулярное употребление плодов *Clausena lansium* Skeels может предотвратить возникновение болезни Паркинсона. Выделение и идентификация карбазольных алкалоидов из плодов *Clausena lansium* Skeels, обладающих нейропротекторным действием может быть важным для открытия новых агентов для профилактики и лечения болезни Паркинсона.





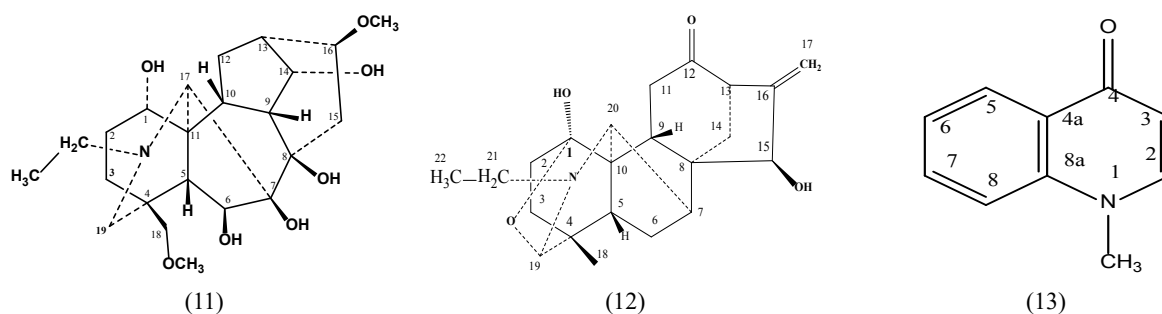
Приведённые выше сведения о нейротропных свойствах природных алкалоидов и их производных свидетельствуют о перспективности данного класса соединений в качестве потенциальных источников новых эффективных лекарственных средств психотропного действия.

В настоящее время действующую основу нейротропных препаратов составляют химические соединения различных классов, с разным спектром фармакологической активности и механизмом действия, которые объединены общностью терапевтических эффектов, выражающихся в улучшении общего состояния при различных заболеваниях, в повышении устойчивости организма, мозга, к различным экспериментальным воздействиям.

В связи с этим, целью данного исследования является изучение нейротропной активности растительных алкалоидов для разработки на их основе новых отечественных эффективных нейротропных лекарственных средств.

### Материалы и методы

Объектами исследования являются образцы алкалоидов: гармин (1), выделенный из гармалы обыкновенной (*Peganum harmala* L.), дельфинифолин (11), зонгорамин (12), из борца горного (*Aconitum monticola* Steinb.), эхинопсин (13), из мордовника белостебельного (*Echinops albicaulis* Kar & Kir). Нейротропные действия изучались на экспериментальных моделях эмоционального стресса.



Эксперименты проведены на 42 белых беспородных крысах-самцах массой 200-220 г, которые были распределены на 7 групп по 6 животных в каждой. 1-4 опытные группы – живот-

ные, получавшие гармин (1), дельфинифолин (11), зонгорамин (12) и эхинопсин (13) дозах 10 мг/кг; 5 группа сравнения- животные, получавшие препарат сравнения amitriptilin, 6

группа контрольная – животные, получавшие растворитель, 7 группа интактная – животные, находившиеся на стандартном рационе.

Исследовательская работа выполнена в соответствии с «Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» и согласно требованиям по изучению новых фармакологических веществ на половозрелых беспородных лабораторных крысах. Животные были отобраны из собственного вивария Международного научно-производственного холдинга «Фитохимия». Животные находились в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе и свободном доступе к воде и пище. Кроме того, проводились наблюдения за общим состоянием животных: изменением массы тела, двигательной активностью, аппетитом, реакцией на внешние раздражители.

Эмоциональный стресс моделировали помещением крыс в тесные пластиковые цилиндры с последующим погружением их в воду (20-22°C) до уровня шеи на 2 часа ежедневно в течение четырех суток [23]. Изучаемые вещества в дозе 10 мг/кг вводили внутривенно через зонд животным в течение семи дней до моделирования эмоционального стресса и затем ежедневно за 1 час до помещения животных в пластиковые цилиндры. В качестве препарата сравнения ис-

пользовали препарат «Амитриптилин» в дозе 10 мг/кг, который вводили животным по аналогичной схеме. Изучаемые вещества и препарат сравнения вводили ежедневно внутрь в виде водного раствора в объеме 1 мл/кг [24].

На четвертые сутки после моделирования эмоционального стресса проводили оценку влияния изучаемых соединений на поведенческие реакции общепринятыми методами в следующих тестах: «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ «Statistica 8.0». Полученные результаты представлены в виде «среднее значение ± стандартная ошибка среднего значения». Межгрупповые отличия оценивали непараметрическим критерием Mann-Whitney U-test».

### Результаты исследования и обсуждение

В ходе эксперимента регулярно фиксировались общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, состояние волосяного покрова, слизистых оболочек, потребление корма и воды. Динамика прироста массы тела животных во всех группах показана в Таблице 1.

Таблица 1 – Данные прироста массы крыс

Группа	Вес, г	
	До	После
Интактные крысы	211,0± 5,7	206,0 ± 4,6
Контроль (без лечения)	207,6 ± 4,5	210,0 ± 5,1
Группа сравнения (амитриптилин)	211,0 ± 5,7	214,8 ± 4,4
Гармин (1)	210,5± 5,1	212,2± 6,7
Дельфинифолин (11)	212,3 ± 2,7	215,5 ± 4,0
Эхинопсин (12)	206,0 ± 5,7	208,8 ± 6,2
Зонгорамин (13)	209,7± 4,8	213,2± 5,3

Отмечено, что данные массы тела крыс во всех группах были в пределах исходных данных, значительных изменений в приросте массы тела животных всех групп не наблюдалось.

Результаты исследования воздействия изучаемых соединений на уровень эмоционально – поведенческой реактивности животных в тесте «Открытое поле», представлены в Таблице 2.

В тесте «Открытое поле» в группе с применением соединения дельфинифолин (11) в дозе 10 мг/кг демонстрировался более высокий уровень ориентировочно-исследовательской деятельности у животных, чем в остальных опытных группах, так как количество горизонтальных и вертикальных перемещений больше чем в контрольной группе и превышает показатели группы сравнения. Уровень тревожности у животных данной группы был ниже, что отмечено снижением количества груминга, уринаций и дефекаций в сравнении с контрольной группой и группой сравнения (рисунок 1).

Показатели ориентировочно-исследовательской активности в опытных группах с применением гармина (1) и зонгорамина (12) в дозе 10 мг/кг были сопоставимы с группой сравнения. При этом, уровень тревожности был выше у животных при введении данных соединений, так, количество дефекаций и уринаций больше чем в группах контроля и сравнения.

В группе с применением соединения эхинопсин (13) в дозе 10 мг/кг, уровень тревожности ниже, так, показатели количества груминга и дефекаций были ниже контрольной группы и группы сравнения, а количество уринаций не отличалось от показателя группы сравнения.

**Таблица 2** – Влияние изучаемых соединений на поведенческие реакции крыс в тесте «Открытое поле»

Группа	Спектр ориентировочно-исследовательской активности		Спектр проявления тревожности		
	Количество горизонтальных перемещений	Вертикальная двигательная активность	Груминг	Количество дефекаций	Количество уринаций
Интактные крысы	23±4,4	7,7±1,4	2,2±0,8	1,0±0,6	0,6±0,8
Контроль (без лечения)	9,8±3,1	6,0±1,7	3,2±3,3	2,3±1,9	0,8±0,4
Группа сравнения (амитриптилин)	12,8±4,4	5,2±2,3	0,6±1,0	3,3±0,5*	0,6±1,0
Гармин (1)	13,8±5,4	6,2±1,5	4,7±1,0	1,3±0,5	0,5±0,8
Дельфинифолин (11)	33,6±6,0*	9,0±1,5*	0,5±0,8	0,7±1,6	0,3±0,5
Эхинопсин (12)	7,3±5,5	4,2±3,8	0,3±0,5	1,2±0,6	0,8±0,8
Зонгорамин (13)	10,6±4,2	4,8±1,7	9,3±2,7*	1,3±1,0	0,7±1,2

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению со значениями у животных контрольной группы.

Результаты воздействия изучаемых соединений на уровень тревожности животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» представлены в Таблице 3.

В ходе проведения теста «Приподнятый крестообразный лабиринт», отмечено уменьшение времени нахождения животных в закрытом рукаве в опытных группах дельфинифолин (11), зонгорамин (12), по сравнению с показателями контрольной группы. Время нахождения животных в открытых рукавах в группах, получавших гармин (1), дельфинифолин (11), зонгорамин (12) и эхинопсин (13) составило (18,8±8,5) с., (41,8±17,3) с., (12,0±20,2) с., (16,8±8,5) с., со-

ответственно и превысило показатели группы сравнения – амитриптилин (5,5±6,0) с. При этом, наиболее высокие и достоверно значимые показатели отмечены в группе с применением дельфинифолин (11) (рисунок 2).

Количество заходов в открытые рукава в группе, с дельфинифолином (11) было выше контроля и превышало данные группы с препаратом сравнения амитриптилин. Показатели в группах гармин (1), зонгорамин (12) и эхинопсин (13) сопоставимы с группой сравнения. Количество заходов в закрытые рукава у животных опытных групп были ниже по сравнению с контрольной группой.

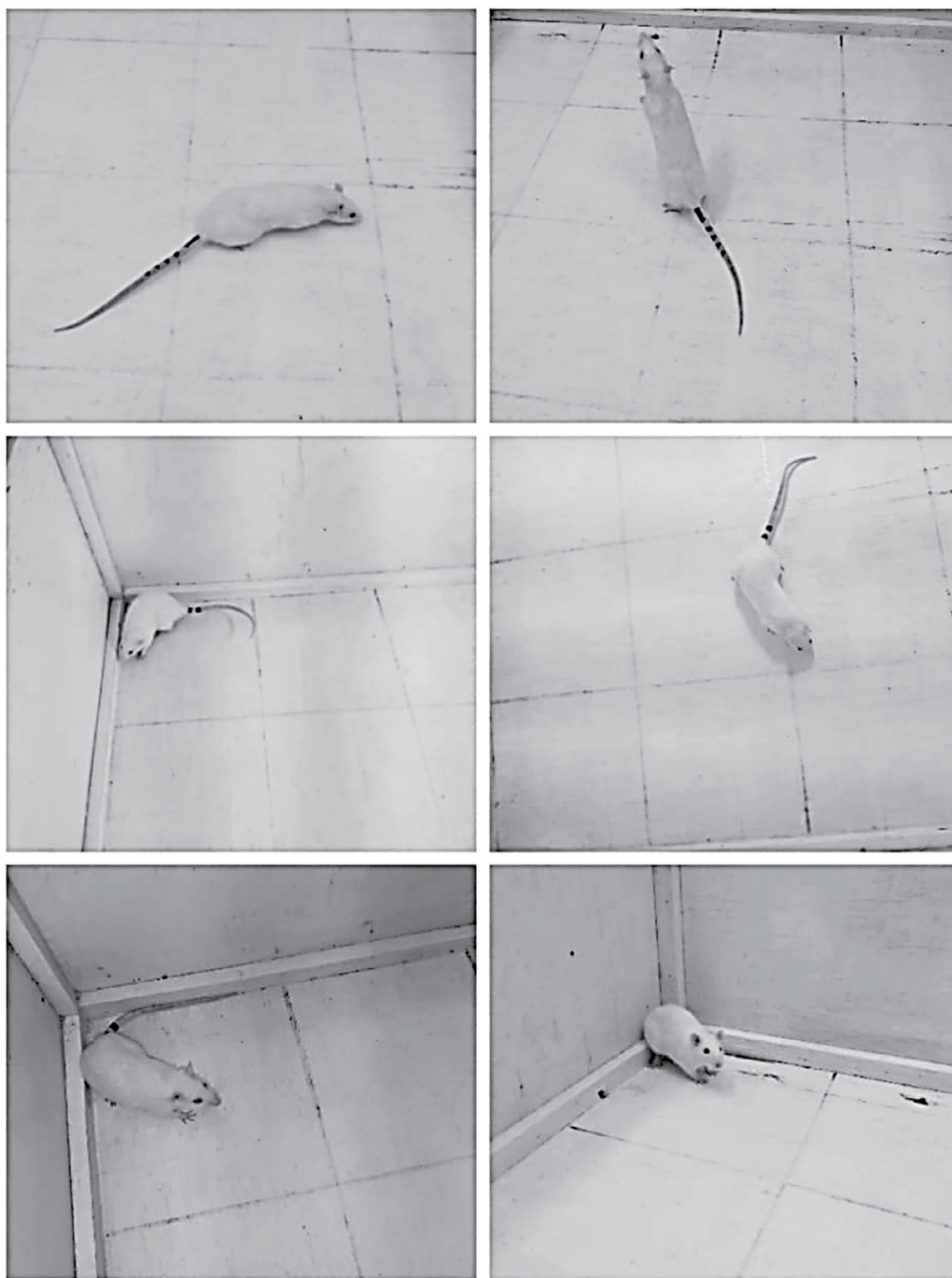


Рисунок 1 – Оценка поведенческой активности животных в тесте «Открытое поле»

Показатели количества свешиваний в опытных группах гармин (1), зонгорамин (12) и эхинопсин (13) выше контрольной группы и сопоставимы с данными группы сравнения. Наибольшее количество свешиваний показала группа животных с применением соединения дельфинифолин (11). Количество стоек в опытных группах с гармином (1), зонгорамином (12) и эхинопсином (13) – 0, а в группе с дельфинифолином (11) показало

такое же количество как в группе сравнения. Время нахождения на центральной площадке животных в опытных группах были ниже, чем в контрольной и сравнительной группах. В опытных группах количество дефекаций – 0, количество уринаций в группах с гармином (1), зонгорамином (12) и эхинопсином (13) ниже контрольной группы и не отличаются от группы сравнения, а в группе с дельфинифолином (11) – 0.

**Таблица 3** – Влияние изучаемых соединений на уровень тревожности крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Показатели поведенческих реакций	Группы						
	Интактные крысы	Контроль (без лечения)	Группа сравнения амитриптилин	Гармин (1)	Дельфинифолин (11)	Зонгорамин (12)	Эхинопсин (13)
Время нахождения в открытом рукаве, (с.)	9,7±16,0	8,0±9,8	16,0±4,5	18,8±8,5	41,8±17,3*	12,0±20,2	16,8±8,5
Количество заходов в открытые рукава, (раз)	0,8±0,4	0,5±0,5	0,8±1,0	1,3±0,5	2,8±1,7*	0,5±0,5	0,8±0,4
Время нахождения в закрытом рукаве, (с.)	113,8±23,9	131,2±35,3	133,8±16,9	120,0±18,5	103,8±16,0	152,0±24,1	122,7±19,1
Количество заходов в закрытые рукава, (раз)	4,0±2,4	4,2±1,7	3,8±1,5	2,2±0,4*	5,5±0,5	2,0±0,6*	3,0±0,6
Количество свешиваний (раз)	3,8±4,7	5,0±1,6	2,8±1,2*	10,0±2,3*	11,2±3,0*	1,7±3,1*	3,3±2,3
Количество стоек, (раз)	0,3±0,5	0	0,3±0,5	0	0,3±0,8	0	0
Время нахождения на центральной площадке, (с.)	56,5±34,7	40,8±29,5	46,8±17,6	28,7±8,5	34,2±6,3	24,3±5,7	40,5±12,6
Количество дефекаций	0,3±0,5	0	0	0	0	0	0
Количество уриаций	1,3±2,1	0,8±1,0	0,2±0,4	0,3±0,5	0	0,3±0,5	0,2±0,4

Примечание: \* –  $p < 0.05$  по сравнению со значениями у животных контрольной группы, n – количество животных в группе.

Результаты исследования свидетельствуют, что экспериментальный эмоциональный стресс увеличивает у животных чувство страха и тревоги.

Так, при оценке поведенческих реакций в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» выявлено, что количество заходов в открытые рукава и время, проведенное в них у крыс контрольной группы были ниже аналогичных показателей животных интактной группы. Время нахождения на центральной площадке в контрольной группе ниже по сравнению с интактной. Отмечено снижение количества выглядывания, количества свешиваний и стоек у крыс контрольной группы по сравнению с показателями животных интактной группы. Количество дефекаций в контрольной группе больше по сравнению с интактной.

Анализ показателей тестов «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» под влиянием гармина (1), дельфинифолина (11), зонгорамин (12) и эхинопсина (13) выявил наличие анксиолитического эффекта у данных групп животных по сравнению с контролем.

Известно, что определенный спектр биологической активности обусловлен наличием тех или иных фармакофоров в структуре молекул алкалоидов.

Наличие арильной группы в молекулах гармина (1), дельфинифолина (11), зонгорамин (12) и эхинопсина (13) имеет важное значение для их нейротропной активности. Арильная группа входит в структуру молекул многих лекарственных веществ, в частности, является одним из фармакофоров противопаркинсонического препарата леводопы. Гармин (1) усиливает пролиферацию нейронов (hNPC), что объясняет его влияние на пролиферацию *in vitro* и антидепрессантные эффекты *in vivo*. Таким образом, выявленная в эксперименте нейротропная активность гармина подтверждается литературными сведениями.

Анализ «структура-активность» показывает что, выявленная в эксперименте нейротропная активность дельфинифолина (11) и зонгорамин (12) связана с наличием в строении их молекул N-этильной группы у эхинопсина (13) – N-метильной группы пиридиновой части, у гармина (1) – содержанием NH-группы в индольном кольце, взаимодействующих с соответствующими рецепторами. Изучаемые растительные алкалоиды перспективны для создания новых лекарственных субстанций для лечения заболеваний центральной нервной системы.

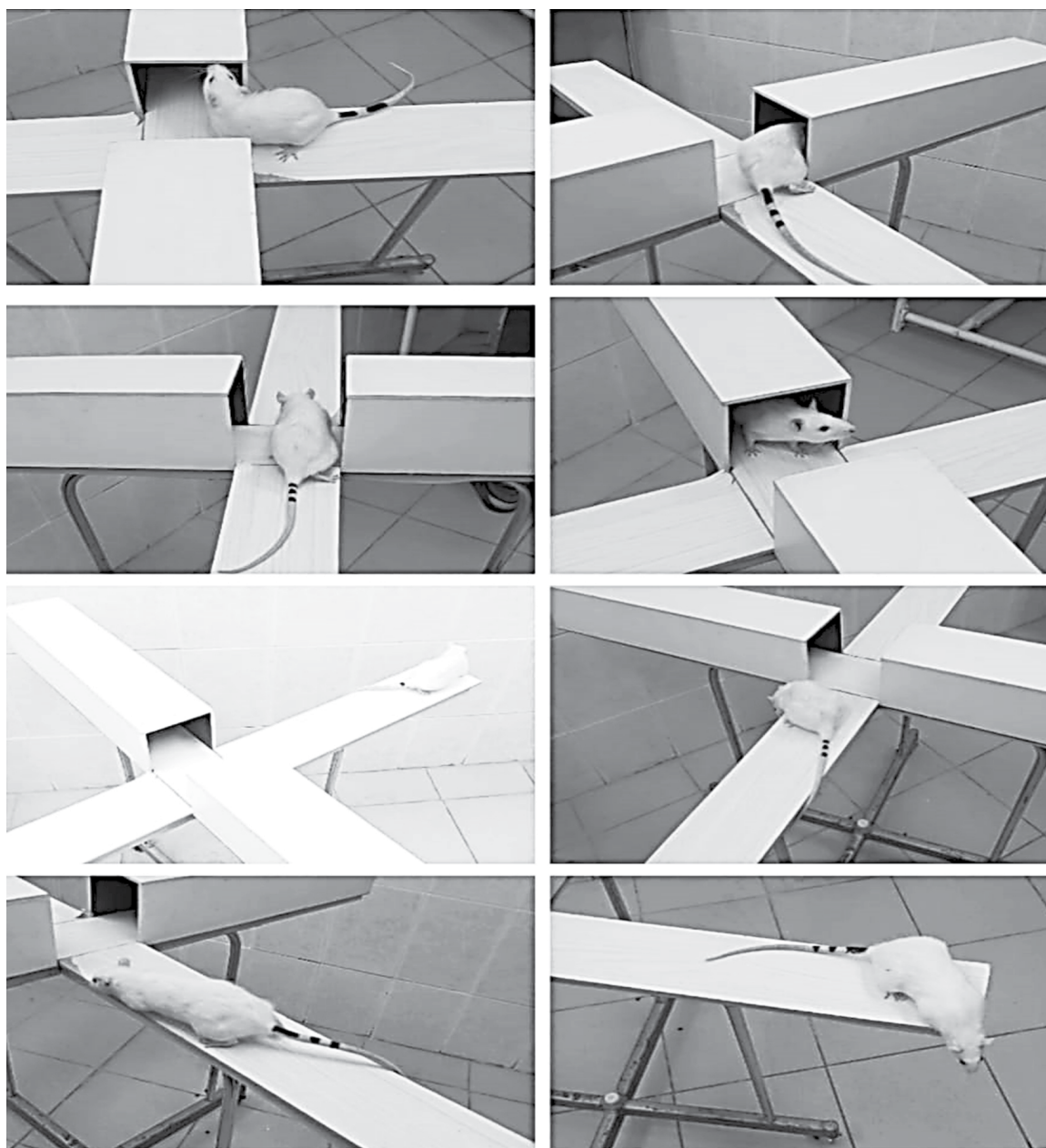


Рисунок 2 – Оценка уровня тревожности животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

### Заключение

Таким образом, в результате экспериментального исследования выраженную нейротропную активность на фоне эмоционального стресса проявляет дельфинифолин (11) в дозе 10 мг/кг, нормализуя эмоциональное состояние животных, уменьшая чувство страха и тревоги. При этом, дельфинифолин (11) по эффективности не уступает, а по отдельным показателям

превосходит нейротропное действие препарата сравнения- амитриптилина.

Алкалоиды гармин (1), зонгорамин (12), эхинопсин (13) в дозе 10 мг/кг проявили умеренную нейротропную активность по сравнению с контролем.

При анализе «структура-активность» определены фармакофорные центры в строении молекул изучаемых растительных алкалоидов [25].

Выявлена перспективность разработки оригинальных нейротропных средств на основе гармина, дельфинифолина, зонгорамина и эхинопсина.

### Конфликт интересов

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

### Источник финансирования исследований

Работа выполнена по грантовому проекту АР09259740 «Изучение взаимосвязи «структура-активность» и фармакологическое исследование новых растительных метаболитов и их производных», финансируемого Комитетом науки МОН Республики Казахстан.

### Литература

- 1 Aarons D.H., Rossi G.V., Orzechowski R.F. Cardiovascular actions of three harmala alkaloids: harmine, harmaline and harmalol // *J. Pharm. Sci.* – 1977. – Vol. 66. – P. 1244–1248. doi: 10.1002/jps. 2600660910
- 2 Abdel Fattah A.F.M., Matsumoto K., Murakami Y., El-Hady K.A.W., Mohamed M.F., Watanabe H. Inhibitory effect of harmaline on the tryptophan induced 5-hydroxy syndrome and body temperature changes in pargylinepretreated rats // *J. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 72. – P. 39–47
- 3 Cao R., Peng W., Wang Z., Xu A. b-Carboline alkaloids: biochemical and pharmacological functions // *Curr. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 14. – P. 479–500. doi: 10.2174/092986707779940998
- 4 Patel K., Gadewar M., Tripathi R., Prasad S.K., Patel D.K. A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of b-carboline alkaloid “Harmine” // *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* – 2012. – P. 660–664. doi: 10.1016/S2221-1691(12)60116-6
- 5 Arpita Roy. A Review on the Alkaloids an Important Therapeutic Compound from Plants // *International Journal of Plant Biotechnology.* – 2017. – Vol. 3, No. 2. – P. 1-9. ISSN: 2456-0162
- 6 Pelletier S.W. The nature and definition of an alkaloids // *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives.* – 1983. – Vol. 11. – P. 398.
- 7 Mahmoudian M., Jalilpour H., Salehian P. Toxicity of Peganum harmala: review and a case report // *Iran J. Pharmacol. Therap.* – 2002. – Vol. 1. – P. 1–4.
- 8 Javeed M., Rasul A., Hussain G., Jabeen F., Rasool B., Shafiq N., Riaz A., Kaukab G., Ali M. Harmine and its derivatives: Biological activities and therapeutic potential in human diseases // *Bangladesh J. Pharmacol.* – 2018. – Vol. 13. – P. 203-213.
- 9 Herrize T., Gonzalez D., Antsin-Aspilicueta S., Aran V.J., Guillen H. Beta-carboline alkaloids in Peganum harmala and inhibition of human monoamine oxidase (MAO) // *Food Chem Toxicol.* – 2010. – Vol. 48. –P. 839-845. doi: 10.1016/j.fct.2009.12.019.
- 10 Herraiz T. Identification and occurrence of beta-carboline alkaloids in raisins and inhibition of monoamine oxidase (MAO) // *J. Agric. Food Chem.* – 2007. – Vol. 55. – P. 8534–8540. doi: 10.1021/ jf0719151
- 11 Antkiewicz-Michaluk Lucyna, Rommelspacher Hans. Current topics in neurotoxicity: isoquinolines and b-carbolines as neurotoxins and neuroprotectants // Springer. – 2012.
- 12 Hadley S.G., Muraki A.S., Spitzer K. The fluorescence and phosphorescence spectra and phosphorescence decay time of harmine, harmaline, harmalol, harmine and norharman in aqueous solutions and EPA at 77 K // *J. Forensic Sci.* – 1974. – Vol. 19. – P. 657–669.
- 13 Katchborian-Neto A., Santos W.T., Nicácio K.J., Corrêa J.O.A., Murgu M., etc. Neuroprotective potential of Ayahuasca and untargeted metabolomics analyses: applicability to Parkinson’s disease // *J. Ethnopharmacol.* – 2020. – Vol. 255. – P. 1-16. doi: 10.1016/j.jep.2020.112743
- 14 Ganapathy K., Datta I., Sowmithra S., Joshi P., Bhone R. Influence of 6-hydroxydopamine toxicity on  $\alpha$ -synuclein phosphorylation, resting vesicle expression, and vesicular dopamine release // *J. Cell. Biochem.* – 2016. – Vol. 117. – P. 2719-2736. <https://doi.org/10.1002/jcb.25570>
- 15 Park H., Lee C., Kim K. Humulus japonicus prevents dopaminergic neuron death in 6-hydroxydopamine-induced models of Parkinson’s Dis // *J. Med Food.* – 2017. – Vol. 20, No. 2. – P. 116–123.
- 16 Dakic V., Maciel R. de M., Drummond H., Nascimento J.M., Trindade P., Rehen S.K. Harmine stimulates proliferation of human neural progenitors // *Peer J.* – 2016. – Vol. 4. – P. 1-13. doi: 10.7717/peerj.2727
- 17 Ferraz C.A.A., de Oliveira Júnior R.G., Picot L., da Silva Almeida J.R.G., Nunes X.P. Pre-clinical investigations of  $\beta$ -carboline alkaloids as antidepressant agents: A systematic review // *Fitoterapia.* – 2019. – Vol. 137. doi: 10.1016/j.fitote.2019.104196
- 18 Nesterova Y.V., Povetieva T.N., Suslov N.I. et al. Antidepressant Activity of Diterpene Alkaloids of Aconitum baicalense Turcz // *Bull Exp Biol Med.* – 2011. – Vol. 151. –P. 425. <https://doi.org/10.1007/ s10517-011-1347-3>
- 19 Fortunato J.J., Réus G.Z., Kirsch T.R., Stringari R.B., Fries G.R., Kapczynski F., Hallak J.E., Zuardi A.W., Crippa J.A., De J.L. Quevedo Effects of  $\beta$ -carboline harmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: Further evidence of antidepressant properties // *Brain Research Bulletin.* – 2010. – Vol. 81, No. 4-5. – P. 491-496.
- 20 Kulkarni S.K., Dhir A. On the mechanism of antidepressant-like action of berberine chloride // *Eur J. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 589. – P. 163-172.

21 Liu S.F., Zhang Y.Y., Zhou L., Lin B., Huang X.X., Wang X.B., Song S.J. Alkaloids with neuroprotective effects from the leaves of *Isatis indigotica* collected in the Anhui Province, China // *Phytochemistry*. – 2018. – Vol. 149. – P. 132-139. doi: 10.1016/j.phytochem.2018.02.016

22 Liu Y.P., Guo J.M., Liu Y.Y., Hu S., Yan G., Qiang L., Fu Y.H. Carbazole Alkaloids with Potential Neuroprotective Activities from the Fruits of *Clausena lansium* // *J. Agricultural and Food Chem.* – 2019. – Vol. 67. – P. 5764-5771. doi: 10.1021/acs.jafc.9b00961.

23 Разуева Я.Г., Кухаренко Н.С., Иванова Ю.Л. и др. Нейропротекторное действие сухого экстракта *Humulus Lupulus* при хроническом эмоциональном стрессе // *Сибирский медицинский журнал*. – 2014. – № 6. – С. 125-127.

24 Романенко Е. Б., Левицкая Н. Г., Каменский А. А. Исследование ноотропной активности Бетамецина // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2007. – Том 70. – № 4. – С. 7 – 10.

25 M.A.Romanova, R.B.Seidakhmetova, N.A.Toktarkhan, Zh. Zhanymkhanova, S.M. Adekenov. The study of neurotropic action of alkaloids and their derivatives // *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan*. – Series of biological and medical. – 2019. – No. 3. – P. 56-63.

## References

1 Aarons D.H., Rossi G.V., Orzechowski R.F. (1977) Cardiovascular actions of three harmala alkaloids: harmine, harmaline and harmalol. *J. Pharm. Sci.* vol. 66. pp. 1244–1248

2 Abdel Fattah A.F.M., Matsumoto K., Murakami Y., El-Hady K.A.W., Mohamed M.F., Watanabe H. (1996) Inhibitory effect of harmaline on the tryptophan induced 5-hydroxy syndrome and body temperature changes in pargylinepretreated rats. *J. Pharmacol.* vol.72. pp. 39–47

3 Arpita Roy. (2017) A Review on the Alkaloids an Important Therapeutic Compound from Plants. *International Journal of Plant Biotechnology*. vol. 3, no.2. pp. 1-9.

4 Antkiewicz-Michaluk Lucyna, Rommelspacher Hans. (2012) Current topics in neurotoxicity: isoquinolines and b-carbolines as neurotoxins and neuroprotectants. Springer.

5 Cao R., Peng W., Wang Z., Xu A. (2007) b-Carboline alkaloids: biochemical and pharmacological functions. *Curr. Med. Chem.* vol. 14. pp. 479–500.

6 Ferraz C.A.A., de Oliveira Júnior R.G., Picot L., da Silva Almeida J.R.G., Nunes X.P. (2019) Pre-clinical investigations of  $\beta$ -carboline alkaloids as antidepressant agents: A systematic review. *Fitoterapia*. –vol. 137.

7 Fortunato J.J., Réus G.Z., Kirsch T.R., Stringari R.B., Fries G.R., Kapczynski F., Hallak J.E., Zuardi A.W., Crippa J.A., De J.L. (2010) Quevedo Effects of  $\beta$ -carboline harmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: Further evidence of antidepressant properties // *Brain Research Bulletin*. vol. 81, no. 4-5. pp. 491-496.

8 Ganapathy K., Datta I., Sowmithra S., Joshi P., Bhonde R. (2016) Influence of 6-hydroxydopamine toxicity on  $\alpha$ -synuclein phosphorylation, resting vesicle expression, and vesicular dopamine release. *J. Cell. Biochem.*, vol. 117. pp. 2719-2736. <https://doi.org/10.1002/jcb.25570>

9 Herrize T., Gonzalez D., Antsin-Aspilicueta S., Aran V.J., Guillen H. (2010) Beta-carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food Chem Toxicol.* vol. 48. pp. 839-845.

10 Herraiz T. (2007) Identification and occurrence of beta-carboline alkaloids in raisins and inhibition of monoamine oxidase (MAO). *J. Agric. Food Chem.* vol. 55. pp. 8534–8540.

11 Hadley S.G., Muraki A.S., Spitzer K. (1974) The fluorescence and phosphorescence spectra and phosphorescence decay time of harmine, harmaline, harmalol, harmine and norharman in aqueous solutions and EPA at 77 K. *J. Forensic Sci.* vol. 19. pp. 657–669.

12 Javeed M., Rasul A., Hussain G., Jabeen F., Rasool B., Shafiq N., Riaz A., Kaukab G., Ali M. (2018) Harmine and its derivatives: Biological activities and therapeutic potential in human diseases. *Bangladesh J. Pharmacol.* vol. 13. pp. 203-213.

13 Javeed M., Rasul A., Hussain G., Jabeen F., Rasool B., Shafiq N., Riaz A., Kaukab G., Ali M. (2018) Harmine and its derivatives: Biological activities and therapeutic potential in human diseases. *Bangladesh J. Pharmacol.*, vol. 13, pp. 203-213.

14 Katchborian-Neto A., Santos W.T., Nicácio K.J., Corrêa J.O.A., Murgu M., etc. (2020) Neuroprotective potential of Aya-huasca and untargeted metabolomics analyses: applicability to Parkinson's disease. *J. Ethnopharmacol.*, vol. 255, pp. 1-16. doi: 10.1016/j.jep.2020.112743

15 Kulkarni SK, Dhir A. (2008) On the mechanism of antidepressant-like action of berberine chloride. *Eur J. Pharmacol.*, vol. 589, pp. 163-172.

16 Liu S.F., Zhang Y.Y., Zhou L., Lin B., Huang X.X., Wang X.B., Song S.J. (2018) Alkaloids with neuroprotective effects from the leaves of *Isatis indigotica* collected in the Anhui Province, China. *Phytochemistry*, vol. 149, pp. 132-139. doi: 10.1016/j.phytochem.2018.02.016.

17 Liu Y.P., Guo J.M., Liu Y.Y., Hu S., Yan G., Qiang L., Fu Y.H. (2019) Carbazole Alkaloids with Potential Neuroprotective Activities from the Fruits of *Clausena lansium*. *J. Agricultural and Food Chem.*, vol. 67, pp. 5764-5771. doi: 10.1021/acs.jafc.9b00961.

18 Mahmoudian M., Jalilpour H., Salehian P. (2002) Toxicity of *Peganum harmala*: review and a case report. *Iran J. Pharmacol. Therap.* vol. 1. pp. 1–4.

19 Nesterova Y.V., Povetieva T.N., Suslov N.I. et al. (2011) Antidepressant Activity of Diterpene Alkaloids of *Aconitum baicalense* Turcz. *Bull Exp Biol Med.* vol. 151. pp. 425.



- 20 Patel K., Gadewar M., Tripathi R., Prasad S.K., Patel D.K. (2012) A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of b-carboline alkaloid "Harmine". *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* p. 660–664.
- 21 Pelletier S.W. (1983) The nature and definition of an alkaloids. *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*. vol. 11. pp. 398.
- 22 Park H., Lee C., Kim K. (2017) *Humulus japonicus* prevents dopaminergic neuron death in 6-hydroxydopamine-induced models of Parkinson's Dis. *J. Med Food.*, vol. 20, no. 2, pp. 116–123.
- 23 Razuyeva YA.G., Kukhareno N.S., Ivanova YU.L. i dr. (2014) Neyroprotektornoye deystviye sukhogo ekstrakta *Humulus Lupulus* pri khronicheskom emotsional'nom stresse. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal.*, no 6, pp.125-127.
- 24 Romanenko Ye. B., Levitskaya N. G., Kamenskiy A. A.. (2007) Issledovaniye nootropnoy aktivnosti Betametsina. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya.*, vol. 70, no 4. pp. 7 – 10.
- 25 Romanova M.A., Seidakhmetova R.B., Toktarkhan N.A., Zhanymkhanova Zh., Adekenov S.M. (2019) The study of neurotropic action of alkaloids and their derivatives. *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biological and medical.*, no 3, pp.56-63.

## МАЗМҰНЫ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

1-бөлім Ботаника	Section 1 Botany	Раздел 1 Ботаника
<i>Мұқатай Ү., Кемелбек М., Жеңіс Ж., Росс С.А., Жұбанова А.А.</i>		
<i>Artemisia heptapotamica</i> Poljak. эндем түрінің жастық құрамы, саны, тығыздығы ..... 4		
<i>Сакбаева З.И., Карабаев Н.А., Калаева Г.С.</i>		
Современное состояние почвенного покрова и генофонда реликтовых орехоплодовых лесов и перспективы их использования для биосферной программы «Орех Кыргызстана» ..... 13		
<i>Сарсенова А.Н., Абиев С.А., Дарбаева Т.Е.</i>		
Жайық өзенінің төменгі ағысындағы орманды алқапта алғаш рет тіркелген бор кезеңінің реликті <i>Battarrea phalloides</i> (Dicks.) Pers..... 23		
2-бөлім Биотехнология	Section 2 Biotechnology	Раздел 2 Биотехнология
<i>Алексюк М.С., Боговяленский А.П., Алексюк П.Г., Зайцева И.А., Молдаханов Е.С., Аканова К.С., Соколова Н.С., Омиртаева Э.С., Березин В.Э.</i>		
Активность бактериофага СЕС_KAZ_2018 против штаммов <i>E.coli</i> , вызывающих колибактериоз цыплят ..... 34		
<i>Zhapar K., Daurov D., Volkov D., Daurova A., Tolegenova D., Abay Z., Argynbaeva A., Kim H.S., Kwak S.S., Shamekova M., Zhambakin K.</i>		
Selection of sweetpotato cultivars with high yields in Almaty region, Kazakhstan..... 45		
<i>Жұматаева Ү.Т., Дүйсембеков Б.А.</i>		
<i>Beauveria bassiana</i> саңырауқұлақ штаммдарын уыттылық белгілері бойынша <i>Locusta migratoria</i> L. дернәсілдеріне қатысты скринингтеу ..... 53		
3-бөлім Молекулалық биология және генетика	Section 3 Molecular biology and genetics	Раздел 3 Молекулярная биология и генетика
<i>Амангелдиева А.А., Абекова А.М., Ержебаева Р.С.</i>		
Оценка генетической однородности линий сахарной свеклы, используемых в качестве компонентов гибридов..... 68		
<i>Байқара Б.Т., Садуақасова М.А., Карабасова А.С., Жусупбеков Ж.С., Султанов А.А.</i>		
Эпизоотологический мониторинг гриппа домашней птицы ..... 79		
<i>Бекенова А.В., Смагулова А.М., Киян В.С.</i>		
Veterinary-sanitary expertise of the fish from the Shagalaly river ..... 87		
<i>Смекенов И.Т., Райке Т.М., Тилвалдиева С.В.</i>		
Поликлональные антитела к рекомбинантному гомологу LST8/GBL <i>Triticum aestivum</i> , компоненту TORC1 сигнальной системы..... 96		
4-бөлім Зоология	Section 4 Zoology	Раздел 4 Зоология
<i>Асылбекова А.С., Баринаова Г.К., Маханбетова А.Б., Сейсенов Б.С., Мусина А.Д.</i>		
Криоконсервация репродуктивных клеток самцов карпа ..... 110		
<i>Berdiakhmetkyzy S., Assylbekova S.Zh., Abdybekova A.M., Barakbaev T.T.</i>		
Current state of populations of the main commercial fish species of the small Aral sea..... 119		
<i>Сыздыков К.Н., Қуанчалеев Ж.Б., Аубакирова Г.А., Мусин С.Е.</i>		
Опыт выращивания судака в условиях НИЦ "Рыбное хозяйство" ..... 130		
5-бөлім Адам және жануарлар физиологиясы	Section 5 Human and animal physiology	Раздел 5 Физиология человека и животных
<i>Сейдахметова Р.Б., Рахимов К.Д., Тутай Д.С., Муханова Т.Т., Жолбарыс А.А., Аманжан А., Адекенов С.М.</i>		
Нейротропная активность растительных алкалоидов ..... 142		