

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

№2 (91)

Алматы
“Қазақ университеті”
2022



ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ №2 (91) маусым



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. (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)
Нургазин 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.



Комитет по обеспечению качества
в сфере образования и науки
МОН РК



РОССИЙСКИЙ ИНДЕКС
НАУЧНОГО ЦИТИРОВАНИЯ
Science Index



Жоба менеджері

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

Компьютерде беттеген

Айгүл Алдашева

Пішімі 60x84/16. Көлемі 14,5 б.т.
Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің
“Қазақ университеті” баспа үйі.
050040, Алматы қаласы, әл-Фараби даңғылы, 71.
“Қазақ университеті” баспа үйінің баспаханасында
басылды.

1-бөлім
БОТАНИКА

Section 1
BOTANY

Раздел 1
БОТАНИКА

Р.Ж. Абдукерім¹ , Ш.К. Масалимова² 

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

²Институт ботаники и фитоинтродукции, Казахстан, г. Алматы

*e-mail: rauza91@mail.ru

ФИТОСАНИТАРНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ТРОПИЧЕСКИХ И СУБТРОПИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЗАКРЫТОГО ГРУНТА

Основу исследований составляют уникальные коллекции тропических и субтропических растений ГБС. Фитосанитарный мониторинг проводился в лаборатории «Тропических и Субтропических растений»: Оранжерее, стеклянной производственной теплице и корейской теплице. Для выявления очагов болезней и вредителей использовали общепринятые методические указания. По выявлению и описанию видового состава вредных организмов были использованы справочники и определители. Наличие вредителя определяли визуально. Для оценки состояния растений на участке проводили маршрутные обследования и тщательно осматривали стволы, поросль, ветки кроны, нижнюю и верхнюю стороны листьев, при необходимости отбирали пробные образцы. В зависимости от типа поражения и повреждения (насаждения) проба представляет собой учетную площадку или группу растений. В результате фитосанитарного мониторинга оранжерейно-тепличного комплекса ГБС были установлены следующие вредители: *Trialeurodes vaporariorum* Westw. – оранжерейная белокрылка; *Pseudococcus affinis* Mask. – приморский мучнистый червец; *Diaspis boisduvalii* Sign. – пальмовая щитовка; *Tetranychus urticae* L. – обыкновенный паутинный клещ; *Myzodes persicae* – зеленая, персиковая, или оранжерейная тля. Некоторые растения были заселены несколькими вредителями одновременно. Распространение сажистого гриба связано с жизнедеятельностью этих вредителей. Была проведена оценка зараженности вредными организмами тропических и субтропических растений и определены наиболее восприимчивые к вредителям растения. К массовому заселению вредителей подвержены растения семейства: рутовые, тутовые, мальвовые, виноградовые и пальмовые.

Ключевые слова: вредители, тропические и субтропические растения, оранжерейно-тепличный комплекс, защита растений.

R.Zh. Abdukerim¹*, Sh.K. Masalimova²

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Institute of Botany and Phytointroduction, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: rauza91@mail.ru

Phytosanitary assessment of the state of tropical and subtropical plants in protected ground conditions

The research is based on the unique collections of tropical and subtropical plants of the MBG. Phytosanitary monitoring was carried out in the laboratory of «Tropical and Subtropical plants»: Orangerie, glass greenhouse and Korean greenhouse. For identification of centers of diseases and pests, we used generally accepted methodological guidelines. To identify and describe the species composition of harmful organisms were used reference books and determinants. The location of the pests was determined visually. We organized route surveys to assess the condition of the plants on the land and carefully checked trunks, shoots, branches of the crown, the lower and upper sides of the leaves, if necessary, collected test samples. Depending on the type of lesion and damage (plantings), the sample is an accounting landing or a group of plants. As a result of the phytosanitary monitoring of the greenhouse complex of the MBG, the next pests were identified: *Trialeurodes vaporariorum* Westw.; *Pseudococcus affinis* Mask.; *Diaspis boisduvalii* Sign.; *Tetranychus urticae* L.; *Myzodes persicae*. Some plants were colonization by several pests at the same time. The spread of the sooty fungus is associated with the life activity of these pests. The pest infection of tropical and subtropical plants was evaluated and the most susceptible plants were identified. Plants of the family: Rutaceae, Moraceae, Malvaceae, Vitaceae and Palmae are susceptible to mass colonization of pests.

Key words: pests, tropical and subtropical plants, orangerie and greenhouse complex, plant protection.

Р.Ж. Әбдүкерім^{1*}, Ш.К. Масалимова²

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

²Ботаника және фитоинтродукция институты, Қазақстан, Алматы қ.

*e-mail: rauza91@mail.ru

Жабық алаңдағы тропикалық және субтропикалық өсімдіктердің жағдайын фитосанитарлық бағалау

Зерттеудің негізін БББ тропикалық және субтропикалық өсімдіктерінің ерекше коллекциясы құрайды. Фитосанитарлық мониторинг «Тропикалық және субтропикалық өсімдіктер» зертханасында жүргізілді: оранжерея, өндірістік шыны жылыжайы және корей жылыжайы. Аурулар мен зиянкестердің ошақтарын анықтау үшін жалпы қабылданған әдістемелік нұсқаулар қолданылды. Зиянды организмдердің түрлік құрамын анықтау және сипаттау бойынша анықтамалықтар мен анықтауыштар пайдаланылды. Зиянкестердің саны көзбен анықталды. Учаскедегі өсімдіктердің жай-күйін бағалау үшін маршруттық тексерулер жүргізілді және діңгектер, бұталар, тәждің бұтақтары, жапырақтардың төменгі және жоғарғы жақтары мұқият тексерілді, қажет болған жағдайда сынама үлгілері алынды. Залалдану және зақымдану (екпелер) түріне байланысты сынама есепке алу алаңын немесе өсімдіктер тобын құрады. БББ оранжерея-жылыжай кешенінің фитосанитарлық мониторингі нәтижесінде келесі зиянкестер анықталды: *Trialeurodes vaporariorum* Westw. – жылыжай ақ көбелегі; *Pseudococcus affinis* Mask. – примор ұнды сымыры; *Diaspis boisduvalii* Sign. – пальма қалқанша сымыры; *Tetranychus urticae* L. – кәдімгі өрмекші кене; *Myzodes persicae* – жасыл, шабдалы немесе жылыжай бітесі. Кейбір өсімдіктер бір уақытта бірнеше зиянкестермен қоныстанған. Қарақуіе саңырауқұлағының таралуы осы зиянкестердің өмірлік белсенділігімен байланысты. Тропикалық және субтропикалық өсімдіктердің зиянды ағзалармен залалдануын бағалау жүргізілді және зиянкестерге ең сезімтал өсімдіктер анықталды. Зиянкестердің жаппай қоныстануына бейім келетін келесі тұқымдасқа жататын өсімдіктер: руталар, тұт, мальва, жүзім және пальма.

Түйін сөздер: зиянкестер, тропикалық және субтропикалық өсімдіктер, оранжерея-жылыжай кешені, өсімдік қорғау.

Сокращения и обозначения

ГБС – Главный ботанический сад

Введение

Оранжерейно-тепличный комплекс ботанических садов – уникальная разновидность защищенного грунта, основной задачей которых является пополнение и сохранение биоразнообразия тропических и субтропических растений в условиях защищенного грунта [1-2].

Первые работы по интродукции комнатных цветочных культур в Главном ботаническом саду начались сразу после организации отдела цветоводства в 1934 г. Чуть позже, в 1935 г., была построена небольшая тепличка на 50 кв.м., где были сосредоточены различные тропические и субтропические растения, принятые в комнатном садоводстве: ценные виды пальм, суккулентов, декоративных комнатных растений. Большой толчок развитию оранжерейно-тепличных культур дало завершение строительства экспозиционной оранжереи в 1969 г., полезная площадь которой составила 1025 м² [3]. В дальнейшем для интродукции тропических и субтропических растений были построены еще две теплицы.

Коллекция тропических и субтропических растений экспозиционной оранжереи насчитывает около 620 видов и сортов из 213 родов и 92 семейств. Растения коллекции оранжереи происходят из разных районов Земного шара, Африки, юго-восточной Азии, Австралии, Северной и Южной Америки [4]. Коллекционный фонд тропических и субтропических растений имеет большую ценность для науки и служит базой для осуществления музейно-просветительной работы, демонстрирующей богатство и разнообразие флоры тропиков и субтропиков мира [5].

В последние годы ассортимент коллекции оранжерейно-тепличных растений расширяется за счет привоза из западных стран. Попадая в различные условия, тропические и субтропические растения переносят сильный стресс от процесса адаптации, что вызывает снижение иммунитета и, как следствие, низкую сопротивляемость к неблагоприятным факторам среды, в том числе воздействию болезней и вредителей [6].

По литературным данным интродукция растений всегда сопровождалась расширением видового состава вредных организмов, которые появлялись вместе с посадочным материалом, поэтому фитосанитарная ситуация в оранжереях сада сложнее, чем в открытом грунте. Она менее

стабильна, что обусловлено высокими темпами размножения вредителей в условиях микроклимата оранжерей (повышенная влажность, высокие температуры), а также отсутствием давления со стороны естественных хищников и паразитов. Растения в этих условиях менее устойчивы к вредителям по сравнению с растениями, произрастающими на экспозициях открытого грунта, так как в оранжереях поддерживаются условия, которые позволяют фитофагам развиваться круглогодично [7-10].

Зараженные вредителями растения теряют декоративные качества, эстетический вид, происходит изменение морфобиологических и количественных признаков, поэтому нужно проводить регулярный фитосанитарный мониторинг для своевременного выявления очагов заражения и применять научно обоснованные защитные мероприятия по уничтожению болезней и вредителей [11].

Целью данной работы является исследование состояния и оценка зараженности болезнями и вредителями коллекции тропических и субтропических растений, а также определение видового состава вредных организмов.

Материалы и методы исследования

Основу исследований составляют уникальные коллекции тропических и субтропических растений ГБС. Фитосанитарный мониторинг проводился в лаборатории «Тропических и Субтропических растений»: Оранжерее, стеклянной производственной теплице и корейской теплице.

Для выявления очагов болезней и вредителей использовали общепринятые методические указания [12-13]. По выявлению и описанию видового состава вредных организмов были использованы справочники и определители [12-14].

Наличие вредителя определяли визуально. Для оценки состояния растений на участке проводили маршрутные обследования и тщательно осматривали стволы, поросль, ветки кроны, нижнюю и верхнюю стороны листьев, при необходимости отбирали пробные образцы. В зависимости от типа поражения и повреждения (насаждения) проба представляет собой учетную площадку или группу растений.

Повреждения белокрылками, паутинными клещами, тлей оценивали по 5 балльной шкале: 0 – заселение отсутствует; 1 балл – колония заселяет до 5% поверхности листа; 2 балла – колония заселяет от 5 до 25% поверхности листа; 3 бал-

ла – колония заселяет от 25 до 50% поверхности листа; 4 балла – колония заселяет от 50 до 75% поверхности листа; 5 баллов – колония заселяет свыше 75% поверхности листа.

Степень заражения червецом определяют последующей шкале: 1 балл – встречается в единичных экземплярах; 2 балла – встречается на листьях и на стволах небольшими колониями; 3 балла – численность высокая, колонии встречаются по всему дереву, на стволе и листьях, к осени заметно усыхание побегов и листвы внутри кроны. Для оценки степени поврежденности генеративных органов применяют следующую шкалу: 1 балл – слабая поврежденность, заметно травмирование плода, частично снижено его товарное качество; 2 балла – средняя поврежденность, повреждено до 25 % массы плода, резко снижено его товарное качество; 3 балла – сильная поврежденность, повреждено более 25% массы плода, что вызывает его потерю.

При оценке заселения колонии щитовок использовали следующую шкалу: 1 – единичные особи щитовок от 2 до 5 шт.; 2 – колонии редкие, до 20 шт. в каждой; 3 – колонии более сильные на штамбе и скелетных ветвях, кора растрескивается; 4 – ствол и скелетные ветви покрыты сплошными колониями щитовки, дерево усыхает.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследования проводились в оранжерейно-тепличном комплексе ГБС с ноября 2020 года по апрель 2021 года. В результате наблюдений выявлены следующие вредители: тепличная или оранжерейная белокрылка, пальмовая щитовка, приморский мучнистый червец, паутинный клещ и тля (таблица 1). Некоторые растения были заселены двумя и даже четырьмя вредителями одновременно. По литературным данным эти вредители соответствующие для оранжерей вредные организмы [15-17]. Вредная энтомофауна распространяется с посадочными материалами растений-интродуцентов во всех оранжереях мира. Фитофаг, пройдя период адаптации, получил исключительную возможность бесконтрольного размножения в оранжереях, потому что там отсутствовали природные враги, которые могли бы регулировать численность вредителей [7-9].

Из болезней в оранжерейно-тепличном комплексе ГБС встречается сажистый грибок. Массовое распространение сажистого грибка связано с жизнедеятельностью вредителей.

Таблица 1 – Результаты учета вредителей в оранжерейно-тепличном комплексе (в списке растения поврежденные вредителями)

Название учетного дерева, куста			Степень восприимчивости	Степень повреждения, балл				
				Тепличная белокрылка	Пальмовая щитовка	Приморский мучнистый червец	Паутинный клещ	Тля
Название на латыни	Наименование на русском языке	Семейство						
<i>Acca sellowiana</i> Berg.	Фейхоэ Селлова	Myrtaceae	Слабая			1		
<i>Adenium obesum</i> (Forssk.) Roem. & Schult.	Адениум тучный	Aprocynaceae	Слабая			1		
<i>Asystasia gangetica</i> (L.) Anderson	Азистазия гангская	Acanthaceae	Слабая					1
<i>Asystasia gangetica variegata</i> (L.) Anhderson	Азистазия пестрая	Acanthaceae	Слабая					1
<i>Boehmeria ramiflora</i> Jacq.	Бемерия белая	Urticaceae	Сильная	4				
<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	Хлопковое дерево	Malvaceae	Слабая			1		
<i>Chamaerops takil</i>	Хамеропс Такил	Araceae	Сильная		3			
<i>Chamaerops humilis</i> L.	Хамеропс приземистый	Aracaceae	Сильная		3			
<i>Chamaerops humilis</i> 'Multi trunk'	Хамеропс приземистый	Aracaceae	Сильная		3			
<i>Cissus antarctica</i> Vent.,	Циссус антрактический	Vitaceae	Слабая				1	
<i>Cissus rhombifolia</i> Vahl.	Циссус ромболистный	Vitaceae	Слабая				1	
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. 'Meyer'	Лимон Мейера	Rutaceae	Сильная			3		
– 'Novogrusinski'	Лимон Новогрузинский	Rutaceae	Сильная			3		
– 'Pavlova'	Лимон Павлова	Rutaceae	Сильная			3		
<i>Citrus medica</i> L.	Цитрон пальчатый	Rutaceae	Сильная			3		
<i>Citrus reticulata</i> Blanco 'Clementin'	Клементин	Rutaceae	Сильная			3		
<i>Citrus reticulata</i> Blanco subsp. unshiu D.Rivera, Obón, S.Ríos, Selma, F.Méndez, Verde & F.Cano	Цитрус редиколата	Rutaceae	Сильная			3		
<i>Citrus sinensis</i> Osbeck 'Gamlin'	Цитрус Гамлин	Rutaceae	Сильная			3		
<i>Citrus Limon</i> L. Pavlov	Лимон Павлова	Rutaceae	Сильная			3		
<i>Citrus limonia</i> Osb. x <i>C. sinensis</i> Osb. Сорт мейра	Лимон Мейра	Rutaceae	Сильная			3		
<i>Citrus reticulata</i> Blancovar Cinshiu	Мандарин Уншу	Rutaceae	Сильная			3		
<i>Citrus sinensis</i> L.Osbeck	Апельсиновое дерево	Rutaceae	Сильная			3		
<i>Citrus unshiu</i> Marc.	Мандарин Уншу	Rutaceae	Сильная			3		
<i>Codiaeum variegatum</i> (L.) Rumph. ex A. Juss.	Кодиеум пестрый	Euphorbiaceae	Сильная			3		
<i>Codiaeum variegatum</i> (L.) Rumph. ex A.Juss.	Кодиеум пестрый	Euphorbiaceae	Сильная			3		
<i>Coffea arabica</i> L.	Кофе арабийский	Rubiaceae	Сильная			3		
<i>Coleus</i> Lour.	Колеус	Lamiaceae	Слабая			1		

Продолжение таблицы

Название учетного дерева, куста			Степень восприимчивости	Степень повреждения, балл				
				Тепличная белок-рылка	Пальмовая щитовка	Приморский мучнистый червец	Паутинный клещ	Тля
Curculigo recurvata Dry.	Куркулиго отогнутое	Huroxydaceae	Слабая		1			
Cycas revoluta Thunb.	Саговник паникующий	Cucadaceae	Средняя		2			
Eriobotrja japonica L.	Мушмула японская	Rosaceae	Слабая			1		
Eugenia brasiliensis Lam.	Грумичама	Myrtaceae	Средняя			2		
Ficus benghalensis L.	Фигус бенжамина	Moraceae	Средняя			2		
Ficus' binnendijkii' Amstel King'	Фигус биннедика Амстел Кинг	Moraceae	Средняя			2		
Ficus benjamina	Фигус Бенджамина	Moraceae	Средняя			2		
Ficus carica L.	Инжир	Moraceae	Средняя			2		
Ficus cyathistipula Roxb.	Фигус Бокальчато-прилистниковый	Moraceae	Средняя			2		
Ficus lyrata Warb.	Фигус лирата	Moraceae	Средняя			2		
Ficus microcarpa L.f	фигус микрокарпа	Moraceae	Средняя			2		
Ficus pumila var. minima White Sunny L.	Фигус крохотный «Вайт Санни»	Moraceae	Средняя			2		
Hibiscus schizopetalus (Dyer) Hook.f	Гибискус рассечённолепестный	Malvaceae	Сильная	3				3
Hoya carnosa R.Br.	Хойя мясистая	Aprocynaceae	Сильная			3		
Hoya Lanceolata ssp. Bella (Hook.) D.H.Kent	Хойя беллая	Aprocynaceae	Слабая			1		
Iresine herbstii Hook. ex Lindl.	Ирезине Хербста	Amaranthaceae	Слабая			1		
Jacobinia pohliana (Nees) Lindau	Якобиния Поля	Acanthaceae	Слабая				1	
Lauris nobilis L.	Лавр благородный	Lauraceae	Средняя			2		
Phoenix canariensis hort. Tx.Chabaud	Финик Канарский	Arecaceae	Сильная		3			
Phoenix dactylifera L.	Финик пальчатый	Arecaceae	Сильная		3			
Phoenix reclinata Jasq.	Финик отклонённый	Arecaceae	Сильная		3			
Poncirus trifoliata (L.) Raf.x citrus paradise Macf.)	Понцирус	Rutaceae	Сильная			3		
Psidium cattleyanum Afzel. Ex Sabine	Земляничная гуава	Myrtaceae	Сильная			3		
Punica granatum L.	Гранат обыкновенный	Punicaceae	Сильная			3		
Rhoicissus thunbergii (Eckl. & Zeyh.) Planch	Роициссус тунбергия	Vitaceae	Средняя					2
Ruscus hypophyllum L.	иглица подлистная	Asparagaceae	Средняя			2		
Ruscus aculeatus L.	Иглица колючая	Asparagaceae	Средняя			2		
Tetrastigma voinerianum (Baltet) Pierre ex Gagnep.	Тетрастигма Вуанье	Vitaceae	Сильная	3				
Eucalyptus stricta Sieber.ex Spreng.	Эвкалипт прямой	Myrtaceae	Слабая	1				

Как видно из таблицы тепличной белокрылкой повреждаются: бегония, гибискус, тетрастигма и эвкалипт (рисунок 1). Тепличная белокрылка является многоядным вредителем. Развивается на более чем 300 видах растений из 82 семейств. Опасный вредитель различных оранжерейных и комнатных растений: хризантемы, герберы, розы, азалии, эвкалипта, лантаны, фуксии, герани, глосинии, дуранты, жа-

каранды, никодемии, алоказии, санхезии и др. Вредоносность усугубляется тем, что личинки выделяют медвяную росу, на которой поселяется сажистые грибы, покрывая поверхность листьев, что снижает фотосинтез растений. Является переносчиком вирусов (самцы и самки, в ряде случаев – нимфы). В оранжерейно-тепличном комплексе развиваются круглогодично [18,19].



Рисунок 1 – Распространение тепличной белокрылки в оранжерейно-тепличном комплексе на разных растениях (имаго, личинки, яйца)

Следующий вредитель из таблицы пальмовая щитовка. Пальмовая щитовка повреждала все виды хамеропса, а также куркулиги отогнутое, саговника паникающего и все виды финика (рисунок 2). Степень повреждения составляла от слабой до сильной. Развитие этого тропического вида идет без диапаузы. Большинство особей

находятся на листьях, хотя черешки, веточки и стволы (особенно у пальм) также могут покрываться колониями вредителя. В течение года в условиях оранжерей обычно развиваются 3 поколения. Высасывая соки из различных органов, щитовка вызывает нарушение их нормального роста и развития. В местах питания появляются

желтоватые пятна, которые, как и колонии самого вредителя портят внешний вид растений. Сильное повреждение может приводить к полному усыханию растений [20,21].

Самый распространенный вредитель в оранжерейно-тепличном комплексе приморский мучнистый червец. Повреждает многие плодовые, лесные и декоративные растения. В оранжереях сильнее всего страдают пальмы, фикусы, цитрусовые, бегонии, герани, кактусы (рисунок 3, 4). Появившиеся личинки расползаются и прикрепляются к поверхности любых органов рас-

тений, высасывая из них соки, на их выделениях развиваются сажистые грибы (рисунок 5). При массовом размножении червец вызывает деформацию и опадение листьев, завязей, плодов, усыхание ветвей. Образуют большие скопления покрытые белым рыхлым воском, особенно крупные под отставшими волокнами коры, в изломах сухих листьев, у основания черешков. Листья растений буреют, сохнут и опадают. Иногда происходит гибель молодых растений [22,23]. Размножению вредителя способствует повышенная влажность воздуха (70–100%).



Рисунок 2 – Распространение пальмовой щитовки в оранжерейно-тепличном комплексе



Рисунок 3 – Распространение мучнистого червеца на цитрусовых растениях в оранжерейно-тепличном комплексе (имаго, личинки)



Рисунок 4 – Распространение мучнистого червеца на разных растениях в оранжерейно-тепличном комплексе (имаго, личинки)

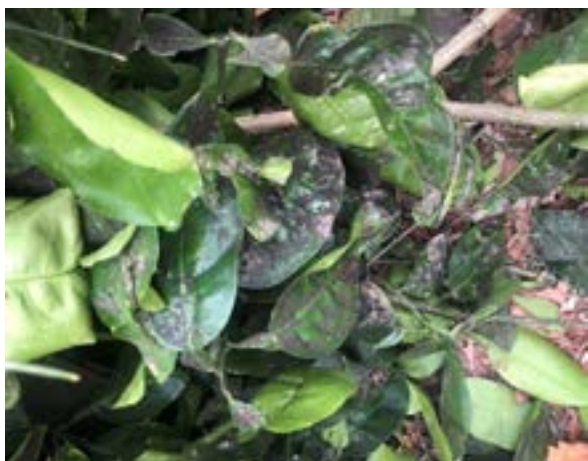


Рисунок 5 – Распространение сажистого гриба

В оранжерейно-тепличном комплексе меньшем количестве встречаются паутинные клещи и тли, но от этого их вредоносность не уменьшается. Согласно литературе паутинные клещи крайне многоядны, повреждают около 500 видов растений. Поражённые листья желтеют, покрываются мелкими светлыми пятнами в местах укусов и преждевременно опадают. Паутинки и экскременты, загрязняют листья, на последних задерживается много пыли [24].

Тля заселяет самые разные оранжерейные и комнатные растения: розы, гибискусы, хризантемы, цитрусовые, каллы, колеусы, гортензии,

гинуру, дуранту, джакаранду, питтоспорум и др. В теплицах вредит форма, которая отличается крайним полиморфизмом, что связано с приспособлением к определенному виду растения, т.е. с качеством питания. Тля предпочитает питаться на молодых листьях. Растения редко деформируются, но листья желтеют, цветки опадают, бутоны не распускаются. Поверхность листьев загрязняется жидкими сахаристыми выделениями, что создает благоприятные условия для развития сажистых грибов. Переносит более 100 вирусов; особенно опасны вирусы мозаики, вызывающие хлороз и задержку роста [25].



Рисунок 6 – Распространение тли на разных растениях в оранжерейно-тепличном комплексе

Все выявленные в результате мониторинга вредители относятся к опасным видам, причиняющие огромный вред растениям, поэтому нужно регулярно проводить фитосанитарный мониторинг и

правильно организовать защитные мероприятия. Для планирования защитных мероприятий мы составили диаграмму плотности распределения вредителей по каждой теплице (рисунок 7).

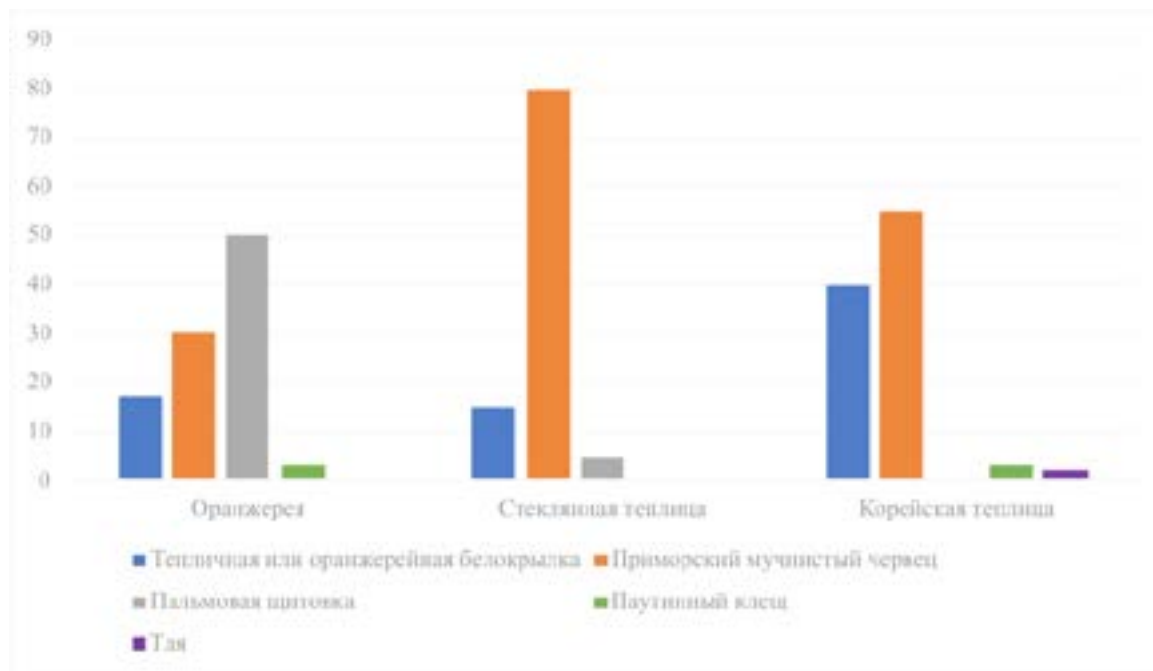


Рисунок 7 – Плотность распределения вредителей в оранжерейно-тепличном комплексе

Как видно из диаграммы во всех теплицах доминирующим видом вредителя является приморский мучнистый червец. Распространение составляет 30-80%. Вторым массово распространенным вредителем является тепличная белокрылка. Процент заселения от 15% до 40%. Пальмовая щитовка в основном встречается в оранжерее, так как там находится пальмарий. Распространение составляет 50%. В меньших количествах встречаются паутинные клещи и тли.

Анализ литературных данных показывает, что вредители интродуцированных растений активно изучаются во всем мире и полученные данные во многом схожи. Аналогичные исследования представлены в работах Рак Н.С., Литвинова С.В. (2020), Сулейманова З.Н., Якупова В.В. (2011), Сулейманова З.Н. (2013), Варфоломеева Е.А. (2021), Бушковская Л.М., Цицилин А.Н. (2012) и др. [6, 12, 27-30]. Так например, по данным Рак Н.С. и Литвиновой С.В. комплекс сосущих вредителей в оранжереях ПАБСИ состоит из пяти групп: клещи, тли, трипсы, белокрылка, кокциды. Из представленных вредителей доминирующими являются тли. В наших же

исследованиях выявлен аналогичный видовой состав вредителей. Но, самым распространенным вредителем в оранжерейно-тепличном комплексе ГБС является приморский мучнистый червец. Это связано с тем, что важную роль в формировании биоценоза оранжереи играют пищевые предпочтения фитофагов. Вредитель активно заселяет древесно-кустарниковые растения. Полученные нами данные были схожи с исследованиями Бушковской Л.М. и Цицилина А.Н. Они проводили исследования в ботаническом саду ВИЛАР для определения видового состава вредителей. По результатам этих исследований на оранжерейных растениях преобладали кокциды (разные виды щитовок и мучнистых червцов). Поврежденные растения по видовому составу схожи с нашими. Эти результаты показывают что кокциды отдают предпочтения цитрусовым растениям, кофе, лавровым и некоторым видам фикуса.

Все выше сказанное показывает, что тли, паутинные клещи, белокрылка и кокциды являются типичными представителями вредной энтомофауны оранжереи и встречаются во всех

оранжерейных садах мира [30]. Благодаря массовому распространению они резко ухудшают фитосанитарное состояние оранжерей. Фитосанитарная ситуация в оранжереях сложнее, чем в открытом грунте. Это связано с высокими темпами размножения вредителей в условиях микроклимата оранжерей (повышенная влажность, высокие температуры), а также отсутствием давления со стороны естественных хищников и паразитов. Из-за этих факторов снижается устойчивость растений к вредителям и болезням. Для предотвращения гибели растений нужно проводить научно-обоснованную эффективную систему защиты от фитофагов и определение видового состава вредителей первый этап к подготовке системы защиты растений.

Заключение

В результате фитосанитарного мониторинга оранжерейно-тепличного комплекса ГЭС были установлены следующие вредители: *Trialeurodes vaporariorum* Westw. – оранжерейная белокрылка; *Pseudococcus affinis* Mask. – приморский мучнистый червец; *Diaspis boisduvalii* Sign. – пальмовая щитовка; *Tetranychus urticae* L. – обыкновенный паутинный клещ; *Myzodes persicae* – зеленая, персиковая, или оранжерейная тля. Некоторые растения были заселены

двумя и даже четырьмя вредителями одновременно. Распространение сажистого гриба связано с жизнедеятельностью этих вредителей. Была проведена оценка зараженности вредными организмами тропических и субтропических растений и определены наиболее восприимчивые к вредителям растения. К массовому заселению вредителей подвержены растения семейства: рутовые, тутовые, мальвовые, виноградовые и пальмовые.

В оранжерейно-тепличном комплексе ГЭС среди вредителей доминирующим видом является приморский мучнистый червец. Распространение составляет 30-80%. Вторым массово распространенным вредителям является тепличная белокрылка. Процент заселения от 15% до 40%. Пальмовая щитовка в основном встречается в оранжерее, так как там находится пальмарий. Распространение составляет 50%. В меньших количествах встречаются паутинные клещи и тли.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в закрытом грунте при выращивании декоративных растений создаются благоприятные условия (повышенная влажность и температура) для развития и размножения вредителей в связи с чем нужно правильно применять научно обоснованные защитные мероприятия по уничтожению вредителей.

Литература

1. Синадский Ю.В. Проблемы и перспективы защиты растений в ботанических садах // Защита растений от вредителей и болезней. М., 1973. – Т. 2. – С. 6-15.
2. Шакина Т.Н. Коллекция оранжерейных растений Саратовского ботанического сада и ее значение для сохранения биоразнообразия флор тропиков и субтропиков // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – Барнаул: изд-во АлГУ, 2013. – С. 109-113. (сб. науч. стат. по мат. XII междуна. научно-прак. конф.).
3. Очерки истории развития ботаники в Казахстане (1932-2017 гг.) // Составители: коллектив авторов – Алматы, 2017. – 160 с.
4. Мурзова Т.В., Даулбаева Г.С., Садыкова Д.Д. Путеводитель по экспозиционной оранжерее Главного ботанического сада – Алматы, 2012 – 51 с.
5. Институт ботаники и фитоинтродукции / Составители: коллектив авторов – Алматы, 2007. – 132 с.
6. Сулейманова З.Н., Якупова В.В. Оценка состояния и зараженности болезнями, вредителями тропических и субтропических растений в оранжерее // 41 научные ведомости | /y | Серия Естественные науки. 2011. No 3 (98). Выпуск 14/1
7. Speyer, E. (1927). An Important Parasite of the Greenhouse White-fly (*Trialeurodes vaporariorum*, Westwood). Bulletin of Entomological Research, 17(3), 301-308. doi:10.1017/S0007485300019374
8. PANIS, A. Biological features of *Pseudococcus affinis* (Mask.) (Homoptera, Pseudococcidae) as guidelines of its control in water-sprinkled citrus orchards. Integrated pest control in citrus-groves. Experts' meeting. 1986, pp 59-65. Conference Paper
9. Tingle, C., & Copland, M. (1988). Effects of temperature and host-plant on regulation of glasshouse mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) populations by introduced parasitoids (Hymenoptera: Encyrtidae). Bulletin of Entomological Research, 78(1), 135-142. doi:10.1017/S000748530001614X
10. Howard FW, Moore D, Giblin-Davis RM, Abad R. 2001. Insects on Palms. CABI Publishing, Wallingford, UK. 400 pp.
11. Chain-ing T. Shih, Sidney L. Poe, Harvey L. Cromroy, Biology, Life Table, and Intrinsic Rate of Increase of *Tetranychus urticae*, Annals of the Entomological Society of America, Volume 69, Issue 2, 15 March 1976, Pages 362–364, <https://doi.org/10.1093/aesa/69.2.362>

12. Сулейманова З.Н. Методика защиты от болезней и вредителей тропических и субтропических растений в оранжерее // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т. 15, No 3 (4)
13. «Методические указания по учету и выявлению опасных вредных организмов сельскохозяйственных угодий». Астана, 2009.
14. Яцюк С.В. Диагностика карантинных организмов и меры борьбы с ними: учебное пособие/ С.В.Яцюк. – Астана: Издательство КазАТУ им.С.Сейфуллина, 2018. – 164 с.
15. Кузнецова Н.П., Нужных С.А. Вредители растений закрытого грунта : учеб. пособие. –Томск : Издательский дом Томского государственного университета, 2015. – 40 с.
16. Григорьева Н. Б. Насекомые-вредители оранжерейных растений тропического и субтропического климата в условиях Сибирского ботанического сада ТГУ / Н. Б. Григорьева // Старт в науку : материалы LXVI научной студенческой конференции Биологического института, Томск, 24-28 апреля 2017 г. Томск, 2017. С. 22. URL: <http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Repository/vtls:000616511>
17. Попов Г.В. О консортивных связях между растениями и их вредителями в защищённом грунте // Промышленная ботаника. 2010. вып. 10. С. 204–212.
18. Валиева Б.Г. Инвазивные виды вредителей и болезней на юго-востоке Казахстана// *Experimental Biology*. No3 (80). 2019 <https://bb.kaznu.kz>
19. Ахатов А.К. Вредители тепличных и оранжерейных растений (морфология, образ жизни, вредоносность, борьба) / под ред. А.К. Ахатова, С.С. Ижевского. – М., 2004. – 307 с. – ISBN 5-87317-161-0.
20. Мухина Л.Н., Александрова М.С., Каштанова О.А., Серая Л.Г., Дымович А.В. Диагностические признаки основных вредителей и болезней древесных и кустарниковых видов растений, контроль за их развитием с использованием материалов мониторинга состояния зеленых насаждений города Москвы. – М.: НИА-Природа, 2006. – 356 с. – ISBN 5-7844-0147-5.
21. Miller D., Davidson J. (2005) Armored Scale Insect Pests of Trees and Shrubs (Hemiptera: Diaspididae). Ithaca, United States. P. 456.
22. Andersen J.C., Wu J., Gruwell M.E., Gwiazdowski R., Santana S.E., Feliciano N.M., Morse G.E., Normark B.B. (2010) A phylogenetic analysis of armored scale insects (Hemiptera: Diaspididae), based upon nuclear, mitochondrial, and endosymbiont gene sequences // *Mol. Phylogenet. Evol.* No 57 (3). P. 992–1003.
23. Betrem J.b. (1936) Gegevens omtrent de biologie van de dompolanlins en de lamtorobius. arch. Ko cult. Ned. Indie. 10: 43-84. Soerabaja.
24. Daanee K.m. (2011) Development of a multiplex pCr for identification of Vineyard mealybugs / Daanee K.m., Middleton M.C., Sforza r., Cooper m.L., Walton V.m., Walsh D.b., Zawiezo t. // *molecular ecology & evolution* V. 40. No 6. P. 1595-1603.
25. Свиданский Ю.В., Корнеева И.Б., Добровичская И.Б. и др. Вредители и болезни цветочно-декоративных растений. М., 1987. 592 с.
26. Валиева Б.Г., Нашенова Г.З., Танабаева С.А., Жумагалиева А.Ж. Практические рекомендации по борьбе с вредителями и болезнями в ботанических садах Казахстана. – Алматы РГП на ПХВ «Институт ботаники и фитонтиродукции» КН МОН РК, 2017. – С. 32
27. Рак Н.С., Литвинова С.В. Вредители цветочно-декоративных растений в коллекциях полярно-альпийского ботанического сада // *Биология растений и садоводство: теория, инновации.* – 2020. №1 (154).
28. Варфоломеева Е.А. Мониторинг вредителей и заболеланий растений Юго-восточной Азии в оранжерейном комплексе Ботанического сада Петра Великого // *Ботаника, семантика и ландшафт Японских садов.* – 2021. №1.
29. Бушковская Л. М., Цицилин А. Н. Вредители оранжерейных растений, используемых для интерьеров // *Защита и карантин растений.* 2012. №3.
30. Агапов А.И., Шакина Т.Н. Система мероприятий по защите оранжерейных растений от вредителей// *Научные труды Чебоксарского филиала ГBS РАН.* 2020. Вып.15. Раздел 10. Защита растений от болезней и вредителей

References

1. Agapov A.I., Shakina T.N. System of measures to protect greenhouse plants from pests// *Scientific papers of the Cheboksary branch of the GBS RAS.* 2020. Issue 15. Section 10. Protection of plants from diseases and pests
2. Akhatov A. K. Pests of greenhouse and greenhouse plants (morphology, lifestyle, harmfulness, struggle) / ed. by A. K. Akhatov, S. S. Izhevsky. – М., 2004. – 307 p. – ISBN 5-87317-161-0.
3. Andersen J.C., Wu J., Gruwell M.E., Gwiazdowski R., Santana S.E., Feliciano N.M., Morse G.E., Normark B.B. (2010) A phylogenetic analysis of armored scale insects (Hemiptera: Diaspididae), based upon nuclear, mitochondrial, and endosymbiont gene sequences // *Mol. Phylogenet. Evol.* No 57 (3). P. 992–1003.
4. Betrem J.b. (1936) Gegevens omtrent de biologie van de dompolanlins en de lamtorobius. arch. Ko cult. Ned. Indie. 10: 43-84. Soerabaja.
5. Bushkovskaya L. M., Tsitsilin A. N. Pests of greenhouse plants used for interiors // *Protection and quarantine of plants.* 2012. №3.
6. Chain-ing T. Shih, Sidney L. Poe, Harvey L. Cromroy, Biology, Life Table, and Intrinsic Rate of Increase of *Tetranychus urticae*, , *Annals of the Entomological Society of America*, Volume 69, Issue 2, 15 March 1976, Pages 362–364, <https://doi.org/10.1093/aesa/69.2.362>
7. Daanee K.m. (2011) Development of a multiplex pCr for identification of Vineyard mealybugs / Daanee K.m., Middleton M.C., Sforza r., Cooper m.L., Walton V.m., Walsh D.b., Zawiezo t. // *molecular ecology & evolution* V. 40. No 6. P. 1595-1603.

8. Essays on the history of botany development in Kazakhstan (1932-2017): collective of authors-Almaty, 2017. – 160 p.
9. Grigorieva N. B. Insect pests of greenhouse plants of tropical and subtropical climate in the conditions of the Siberian Botanical Garden of TSU / N. B. Grigorieva // Start in Science: proceedings of the LXVI Scientific Student Conference of the Biological Institute, Tomsk, April 24-28, 2017. Tomsk, 2017. p. 22. URL: <http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Repository/vtls:000616511>
10. Howard FW, Moore D, Giblin-Davis RM, Abad R. 2001. Insects on Palms. CABI Publishing, Wallingford, UK. 400 pp.
11. Institute of Botany and Phyto-introduction//Compilers: collective of authors-Almaty, 2007 – – 132 p.
12. Kuznetsova N. P., Nuzhnykh S. A. Pests of plants of closed ground: textbook. stipend. Tomsk: Publishing House of Tomsk State University, 2015. – 40 p.
13. Miller D., Davidson J. (2005) Armored Scale Insect Pests of Trees and Shrubs (Hemiptera: Diaspididae). Ithaca, United States. P. 456.
14. "Methodological guidelines for the accounting and identification of dangerous harmful organisms of agricultural land". Astana, 2009.
15. Mukhina L. N., Alexandrova M. S., Kashtanova O. A., Seraya L. G., Dymovich A.V. Diagnostic signs of the main pests and diseases of woody and shrubby plant species, control over their development using materials for monitoring the state of green spaces in Moscow. – Moscow: NIA-Nature, 2006. – 356 p. – ISBN 5-7844-0147-5.
16. Murzova T. V., Daulbaeva G. S., Sadykova D. D. Guide to the exposition greenhouse of the Main Botanical Garden of Almaty, 2012-51p.
17. PANIS, A. Biological features of *Pseudococcus affinis* (Mask.)(Homoptera, Pseudococcidae) as guidelines of its control in water-sprinkled citrus orchards. Integrated pest control in citrus-groves. Experts' meeting. 1986, pp 59-65. Conference Paper
18. Popov G. V. On consort relationships between plants and their pests in protected soil // Industrial Botany. 2010.issue. 10. PP. 204-212.
19. Rak N.S., Litvinova S.V. Pests of flower and ornamental plants in the collections of the polar-alpine botanical garden // Plant biology and horticulture: theory, innovations. 2020. №1 (154).
20. Sinadsky Yu. V. Problems and prospects of plant protection in botanical gardens. from pests and diseases. M., 1973. – Vol. 2. – p. 6-15.
21. Shakina T. N. Collection of greenhouse plants Saratov Botanical Garden and its significance for the conservation of biodiversity of tropical and subtropical flora // Problems of Southern Botany Siberia and Mongolia. – Barnaul: AISU Publishing House, 2013-p. 109-113. (sat.nauch. stat. by mat. XII international scientific and practical Conference. conf.).
22. Speyer, E. (1927). An Important Parasite of the Greenhouse White-fly (*Trialeurodes vaporariorum*, Westwood). Bulletin of Entomological Research, 17(3), 301-308. doi:10.1017/S0007485300019374
23. Suleymanova Z. N., Yakupova V. V. Assessment of the state and infection with diseases, pests of tropical and subtropical plants in the greenhouse // 41 Nauchnye vedomosti | / u / Series Natural Sciences. 2011. No 3 (98). Issue 14/1
24. Suleymanova Z.N. Methods of protection from diseases and pests of tropical and subtropical plants in the greenhouse // Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2013. Vol. 15, No 3 (4)
25. Svidansky Yu. V., Korneeva I. B., Dobrochinskaya I. B., etc. Pests and diseases of flower-ornamental plants. M., 1987. 592 p.
26. Tingle, C., & Copland, M. (1988). Effects of temperature and host-plant on regulation of glasshouse mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) populations by introduced parasitoids (Hymenoptera: Encyrtidae). Bulletin of Entomological Research, 78(1), 135-142. doi:10.1017/S000748530001614X
27. Valieva B. G. Invasive species of pests and diseases in the South-East of Kazakhstan // Experimental Biology. No3 (80). 2019 <https://bb.kaznu.kz>
28. Valieva B. G., Nashenova G. Z., Tanabaeva S. A., Zhumagalieva A. Zh. "Practical recommendations for pest and disease control in the botanical gardens of Kazakhstan": recommendations: – Almaty RSE on PHW "Institute of Botany and Phyto-introduction" KN MES RK, 2017. – p. 32
29. Varfolomeeva E.A. Monitoring of pests and diseases of plants of Southeast Asia in the greenhouse complex of the Botanical Garden of Peter the Great // Botany, semantics and landscape of Japanese gardens. 2021. №1.
30. Yatsyuk S. V. Diagnostics of quarantine organisms and measures to combat them: a textbook/ S. V. Yatsyuk. – Astana: Publishing house of KazATU named after S. Seifullin, 2018. – 164 p.

Z.A. Inelova¹ , E. Boros² , Ye. Zaparina^{1*} 

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Institute of Aquatic Ecology, Center for Ecological Research, Hungary, Budapest

*e-mail: zaparina.elena06@gmail.com

SYSTEMATIC ANALYSIS OF AQUATIC AND SEMI-AQUATIC FLORA OF THE UNIQUE WATER CHEMICAL COMPOSITION OF ZHALANASHKOL LAKE OF THE ALMATY REGION

Over the past century, the study of aquatic plants has expanded greatly due to the increased recognition of their importance in fundamental systemic processes.

Lake Zhalanashkol belongs to the soda lake type, as it is characterized by a unique chemical composition of water. Also, recently the anthropogenic contribution has increased due to the development of recreational activities in the nearby territory of the lake, therefore, the relevance and importance of studying the flora of Zhalanashkol lake in Almaty region is beyond any doubts.

The purpose of this article was to perform a systematic analysis of higher and semi-aquatic plants of Zhalanashkol soda lake in Almaty region.

It should be noted that at present, much more attention is being paid to the study of higher and semi-aquatic plants due to their wide practical significance. Higher aquatic plants perform the following functions in ponds: filtrative, absorptive, storing, oxidizing, detoxifying. Also, this kind of plant is used as a raw material for paper, medicine and perfume industries, building materials and fertilizers.

Field (expeditionary) and route-reconnaissance research methods were used to perform the research.

As a result of the research, 46 species of higher and semi-aquatic plants belonging to 21 families and 43 genera were identified within Zhalanashkol lake flora. The floristic spectrum of the study area showed that the floral core is represented by angiosperms, and the minor part is represented by gymnosperms. 10 leading families of the study area include 34 species, which is 73.91% of the total number of identified species.

Thus, the species identification process of semi-aquatic vegetation makes it possible to characterize the ecological state of the ecosystem in detail. Nowadays, water analysis is commonly performed with the help of biological indicators, and is widely used in the practice of hydrobiological research.

Key words: Zhalanashkol, systematic analysis, flora, aquatic plants, semi-aquatic plants.

З.А. Инелова¹, Э. Борос², Е.Г. Запарина^{1*}

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

²Экологиялық зерттеулер орталығы, Су экологиясы институты, Венгрия, Будапешт қ.

*e-mail: zaparina.elena06@gmail.com

Химиялық құрамы бойынша ерекше Алматы облысы Жалаңашкөл көлінің суы және жағалау-су флорасын систематикалық талдау

Соңғы ғасырда су өсімдіктерін зерттеу олардың іргелі жүйелік процестердегі маңыздылығын мойындаудың артуына байланысты едәуір кеңейді.

Жалаңашкөл көлі сода типіне жатады, сондықтан ол судың ерекше химиялық құрамымен сипатталады. Сондай-ақ, соңғы уақытта көлдің жақын маңдағы аумағында рекреациялық қызметтің дамуына байланысты антропогендік жүктеме өсті, сондықтан Алматы облысының Жалаңашкөл көлінің флорасын зерттеудің өзектілігі күмән тудырмайды.

Осы мақаланың мақсаты Алматы облысының Жалаңашкөл көлінің жоғары сатыдағы су және жағалау – су өсімдіктеріне жүйелі талдау жүргізу болды.

Айта кету керек, қазіргі уақытта олардың кең практикалық маңыздылығына байланысты жоғары сатыдағы су және жағалау – су өсімдіктерін зерттеуге көбірек көңіл бөлінуде. Су қоймаларында жоғары сатыдағы су өсімдіктері келесі функцияларды орындайды: сүзу, сіңіру, жинақтау, тотығу, детоксикация. Сондай-ақ, өсімдіктердің бұл түрі қағаз, медициналық, парфюмерия, құрылыс материалдары мен тыңайтқыштар үшін шикізат ретінде қолданылады.

Зерттеу жүргізу үшін далалық (экспедициялық) және маршруттық-барлау зерттеу әдістері қолданылды.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде Жаланапашкөл көлінің флорасы құрамында 21 тұқымдасқа және 43 туысқа жататын жоғары сатыдағы су және жағалау-су өсімдіктерінің 46 түрі анықталды. Зерттелетін аумақтың флорасының флоралық спектрі флораның негізі гүлді, ал ең аз бөлігі гимноспермалар екенін көрсетті. Зерттелген аумақтың 10 жетекші отбасының 34 түрі бар, бұл анықталған түрлердің жалпы санының 73,91% құрайды.

Осылайша, жағалау-су өсімдіктерінің түрлік құрамы экожүйенің экологиялық жағдайын дәл сипаттауға мүмкіндік береді. Қазіргі уақытта гидробиологиялық зерттеулер тәжірибесінде кеңінен қолданылатын биологиялық көрсеткіштер бойынша суды индикациялау әдістемесі кеңінен қолданылады.

Түйін сөздер: Жаланапашкөл, систематикалық талдау, флора, сатыдағы су өсімдіктері, жағалау – су өсімдіктері.

З.А. Инелова¹, Э. Борос², Е.Г. Запарина^{1*}

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

²Институт водной экологии, Центр экологических исследований, Венгрия, г. Будапешт

*e-mail: zaparina.elena06@gmail.com

Систематический анализ водной и прибрежно-водной флоры уникального по химическому составу воды озера Жаланапашкөл Алматинской области

За последнее столетие изучение водных растений значительно расширилось из-за возросшего признания их важности в фундаментальных системных процессах.

Озеро Жаланапашкөл относится к содовому типу, поэтому оно характеризуется уникальным химическим составом воды. Также, в последнее время возросла антропогенная нагрузка, в связи с развитием рекреационной деятельностью на близлежащей территории озера, поэтому, актуальность исследования флоры озера Жаланапашкөл Алматинской области не вызывает сомнения.

Целью данной статьи было провести систематический анализ высших водных и прибрежно – водных растений содового озера Жаланапашкөл Алматинской области.

Необходимо отметить, что в настоящее время все большее внимание уделяется исследованию высших водных и прибрежно – водных растений, в виду их широкой практической значимости. Высшие водные растения в водоемах выполняют следующие функции: фильтрационную, поглотительную, накопительную, окислительную, детоксикационную. Также данный тип растений используется в качестве сырья для бумажной, медицинской, парфюмерной промышленности, строительных материалов и удобрений.

Для проведения исследований использовался полевой (экспедиционный) и маршрутно-рекогносцировочный методы исследований.

В результате проведенных исследований, было выявлено, что в составе флоры озера Жаланапашкөл выявлено 46 видов высших водных и прибрежно-водных растений, относящихся к 21 семейству и 43 родам. Флористический спектр флоры исследуемой территории показал, что основу флоры составляют цветковые, а минимальную часть голосеменные растения. На долю 10 ведущих семейств изучаемой территории приходится 34 вида, что составляет 73,91 % от общего количества выявленных видов.

Таким образом, видовой состав прибрежно-водной растительности позволяет точно охарактеризовать экологическое состояние экосистемы. В настоящее время широко используется методика индикации воды по биологическим показателям, которая широко применяется в практике гидробиологических исследований.

Ключевые слова: Жаланапашкөл, систематический анализ, флора, водные растения, прибрежно-водные растения.

Introduction

Zhalanashkol is a lake located on the border of the Alakol district of Almaty region and Urdzhar district of East Kazakhstan region. It is located in the north-western part of the Dzungarian Gate at a distance of 50 km south-

east to Koktuma village. Lake Zhalanashkol is a part of the Alakol (Alakol-Sasykkol) lake system. The area of Zhalanashkol is 38 km², the length is 9 km, the width is 5.6 km, and the length of the coastline is 24 km. The lake is relatively shallow: its maximum depth is 5.5, the average depth is about 3 m. [1].

Zhalanashkol lake has no permanent tributaries, the water regime is maintained due to ground water feeding and a small amount of rain and snowmelt water. Water is significantly mineralized and might be characterized by having medicinal properties [2-3].

According to the classification of Boros E. and Kolpakova M. [4] the lake belongs to the soda-saline type of lakes based on the former data from Filonets P. [5] while it had a soda type composition in 2021, based on our latest measurement and Akhmetzhanova A. [6]. Soda type: when Na^+ and sum of $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$ – are the first in the rank of dominant ions ($> 25\%$), while soda-saline: Na^+ is ranked first among the dominant cations ($> 25\%$), but the sum of $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$ is not of the most dominant component of the anions ($> 25\%$).

Since Zhalanashkol recently lake belongs to the soda lake, it is characterized by a unique chemical composition of water [7]. Also, the anthropogenic load has been increased recently, due to the development of recreational activities in the nearby territory [8], therefore, study relevance of Zhalanashkol flora in the Almaty region is beyond any doubts. It should be noted that currently much more attention is being paid to the study of higher and semi-aquatic plants due to their wide practical significance. That is, the prospects of using aquatic and semi-aquatic plants are of the greatest interest among researchers. Higher aquatic plants perform the following main functions in reservoirs: filtrating (it contributes to the sedimentation of suspended substances); absorbing (towards biogenic elements

and some organic substances); accumulative (due to the ability to accumulate some metals and organic substances that are difficult to decompose); oxidative (due to photosynthesis water is enriched by oxygen); detoxifying (plants are able to accumulate toxic substances and convert them into non-toxic) [9-13].

The purpose of this article was to conduct a systematic analysis of the highest aquatic and semi-aquatic plants of Zhalanashkol lake in Almaty region.

Materials and methods

Field (expeditionary) and route-reconnaissance research methods were used to perform the research [14]. The field (expeditionary) research method is intended to familiarize the ground with the objects (point and area) of future research and is associated with the collection of primary source data intended for further processing in stationary (desk) conditions [15]. The route-reconnaissance method is based on the identification of main patterns of species distribution and vegetation in the study area.

Before starting the work, several observational points of Zhalanashkol lake were chosen (Figure 1) on the territory of Almaty region. Geobotanical vegetation description was carried out on separate small-area plots, as well as herbarization of the chosen plants and their entry into geobotanical forms. The route had been planned in such a way that it would trespass various plant communities, capturing a variety of habitats.



Figure 1 – The research area of Lake Zhalanashkol (N 45°34'58.06" E 82°6'59.50", N 45°34'15.42" E82°6'55.45")

The collection of aquatic plants, unlike terrestrial ones, has a number of distinctive features. The collection and drying of herbarium material was carried out according to the method of Lisitsina L.I. [16].

Herbarium samples were determined using literature: “USSR Flora”, “Kazakhstan Flora”, “Illustrated plant guide of Kazakhstani plants”; the determination of families and genera was performed with the help of “Flora of Kazakhstan” written by Baitenov M.C. [18-19].

The disposition of species and supraspecific categories of flora and floristic spectrum was performed according to the system of Takhtajan A. L. [20]. The spelling of Latin names, the nomenclatural taxa variations were verified in accordance with Cherepanov S. K. [21].

Results and discussions

The systematic structure of flora is understood as a complete territorial summary of supraspecific taxa of plants of one rank or another. The characteristic basic feature of any flora is its systematic composition, the main qualitative indicator of which is considered to be floral diversity, determined by the number of species, genera and families [22]. The flora of Zhalanashkol lake includes 43 genera and 46 species of higher aquatic and semi – aquatic

members from 21 families. Figure 2 shows data on the systematic composition of the study area.

The leading position is occupied by the family of *Chenopodiaceae* Vent., which includes 6 genera (*Atriplex*, *Camphorosma*, *Ceratocarpus*, *Chenopodium*, *Salsola*, *Suaeda*) and 8 species. *Asteraceae* Dumort. includes 5 genera (*Achillea*, *Artemisia*, *Scorzonera*, *Tragopogon*, *Xanthium*) and 5 species. *Poaceae* Barnhart includes 4 genera (*Achnatherum*, *Phragmites*, *Poa*, *Setaria*) and 4 species. *Haloragaceae* R.Br. has 4 genera (*Myriophyllum*, *Glycyrrhiza*, *Trifolium*, *Vicia*) and 4 species. *Polygonaceae* Juss. has 3 genera (*Polygonum*, *Rheum*, *Rumex*) and 3 species. There are families, which include 2 species and 2 genera, and they are: *Cyperaceae* Juss. (genera: *Bolboschoenus*, *Carex*), *Euphorbiaceae* Juss. (genera: *Euphorbia*, *Potentilla*), *Brassicaceae* Burnett (genera *Erysimum*, *Lepidium*), *Limoniaceae* Ser. (genera: *Limonium*, *Tamarix*), *Ranunculaceae* Juss. (genera: *Adonis*, *Ceratocephala*). 1 genus and 2 species representatives belong to *Ceratophyllaceae* S.F. Gray (*Ceratophyllum*), 1 genus and 1 species representative belongs to *Typhaceae* Juss. (*Typha angustifolia* L.), *Lamiaceae* Lindl. (*Mentha arvensis* L.), *Plantaginaceae* Juss. (*Plantago lanceolata* L.), *Convolvulaceae* Juss. (*Convolvulus arvensis* L.), *Nitrariaceae* Bercht.et J. Presl (*Nitraria schoberi* L.), *Onagraceae* Juss. (*Epilobium hirsutum* L.).

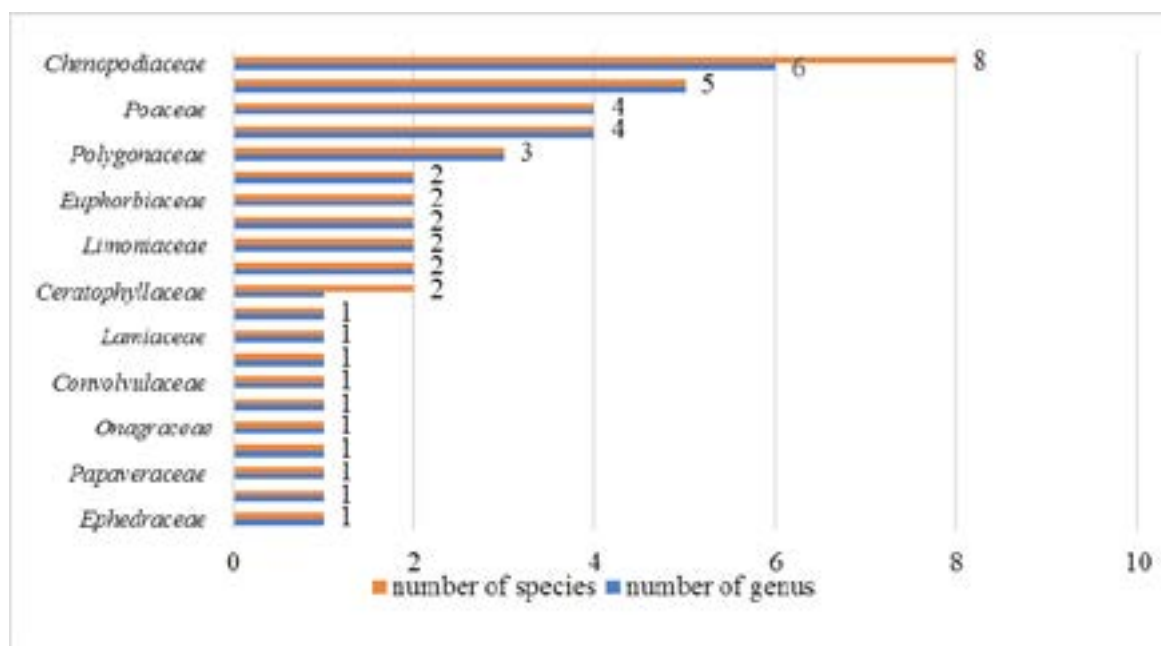


Figure 2 – Family spectrum of Lake Zhalanashkol

The presence of families having one-two species representatives within the flora is of great interest, since the core of their species diversity can also be found in other climatic zones. The floral spectrum

of Zhalanashkol lake and the above-mentioned systematic groups show that the main floral part consists of angiosperm representatives, and the minor part is taken by gymnosperm representatives.

Table 1 – Distribution of plants of Zhalanashkol lake by the systematic groups

Systematic group	Number of families	Number of genus	Number of species	% of the total number of species
Gymnosperms	1	1	1	2.17
Angiosperms:				
- dicotyledons	18	35	38	82.6
- monocotyledons	3	7	7	15.2
Total:	21	43	46	100

Table 1 illustrates that the species composition of Zhalanashkol lake is dominated by the Angiosperms, which accounts for 45 species (97.8%) and only 1 species or 2.17% belong to the Gymnosperms.

The ratio of monocotyledonous and dicotyledonous groups is approximately 1:5, i.e. *Magnoliopsida* class prevails over *Liliopsida* due to species diversity represented 5 times more. The total number of monocotyledons consists of 7 species or 15.2% of the total number of species; while dicotyledonous plants include 38 species or 82.6%.

Thus, in the studied flora, the majority of families, genera and species belong to angiosperms, among which dicotyledons dominate.

Flora analysis in modern floristics is performed by distinguishing 10 leading families that mostly represent main part of the floral spectrum (Figure 4).

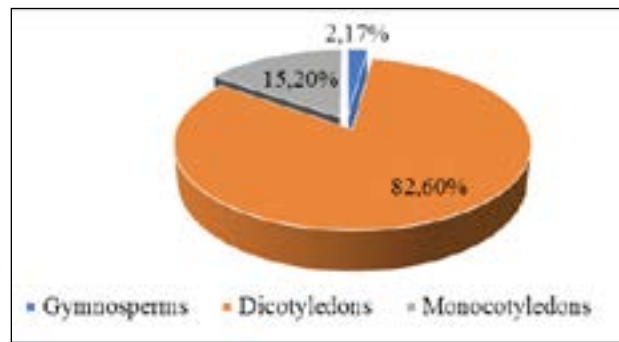


Figure 3 – Ratio of systematic groups

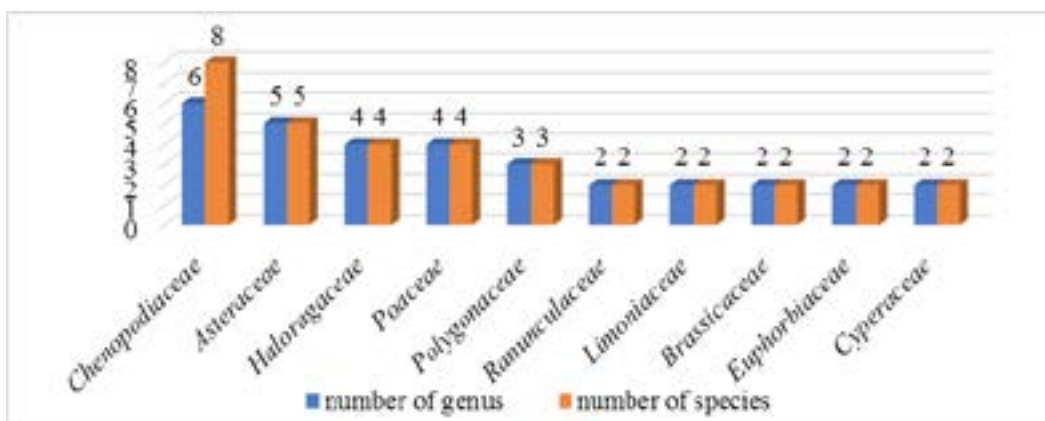


Figure 4 – Number of species and genera in 10 leading families

10 dominant families include 34 species, which accounts for about 73.91 % of the total number of species. According to the data, the first place in the number of species and genera is occupied by the *Chenopodiaceae* family (8 species, or 17.39% of the total number of species, 6 genera): *Camphorosma lessingii* Litv., *Ceratocarpus utriculosus* Bluk., *Atriplex tatarica* L., *Chenopodium album* L., *Ch. rubrum*, *Salsola arbuscula* Pall., *S. collina* Pall., *Suaeda crassifolia* Pall. The second place is taken by the families *Asteraceae* (5 species or 10.87 % of the total number, 5 genera): *Achillea millefolium* L., *Artemisia absinthium* L., *Scorzonera songorica* (Kar.et Kir.) Lipsch. et Vass., *Tragopogon dubius* Scop., *Xanthium strumarium* L. Families *Haloragaceae* (*Myriophyllum spicatum* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Trifolium pratense* L., *Vicia cracca* L.) and *Poaceae* (*Achnatherum splendens* (Trin.) Nevski, *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Poa angustifolia* L., *Setaria viridis* (L.) Beauv.), which include the same number of species and genera (4 species or 8.69 % of the total number species, 4 genera). Family *Polygonaceae* includes 3 genera and 3 species: (*Polygonum aviculare* L., *Rheum nanum* Siev., *Rumex stenophyllum* Ledeb.) Two families are at the bottom of top ten leading families with the same number of genera and species, which is 2: *Limoniaceae* (*Limonium gmelinii* (Willd.) O. Kuntze, *Tamarix ramosissima* Ledeb.), *Brassicaceae* (*Erysimum canescens* Roth, *Lepidium ruderale* L.), *Euphorbiaceae* (*Euphorbia humifusa* Schlecht., *Potentilla recta* L.) and *Cyperaceae* (*Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla., *Carex physodes* Bieb.).

At the same time, it should be mentioned that taxa, including a relatively small number of species,

play the same important role as taxa having a larger number of species, considering the vegetation cover. An example is the family *Limoniaceae* Ser., whose representative is *Limonium gmelinii* (Willd.) O. Kuntze – this is a bioindicator of elevated salt levels of water and coastal territory, the presence of which is caused by excessive water salinity.

The leading genera include *Ceratophyllum demersum* L. and *Ceratophyllum submersum* L. from the family of *Ceratophyllaceae* S.F. Gray, *Chenopodium album* L., *Ch. rubrum* L., *Salsola arbuscula* Pall., *S. collina* Pall. from the *Chenopodiaceae* Vent family. The species of these genera form a floral background in appropriate ecological conditions. However, the roles of individual genera and families within the flora do not always correspond to their role in the vegetation cover when it comes to aquatic and semi-aquatic vegetation. In the studied flora, in this regard, the genera *Typha angustifolia* L., *Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex Steud., *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla can be a good example: they form a core of aquatic and semi – aquatic vegetation of Zhalanashkol lake. The following aquatic plants should also be noted in the same regard: *Ceratophyllum demersum* L., *C. submersum* L., *Myriophyllum spicatum* L.

The content of plant communities and their distribution is determined by environmental conditions. The main factors determining vegetation distribution within the aquatic environment are: salt level, pH, transparency, turbidity, light conditions, etc. However, the growth of terrestrial species depends on humidity and light conditions, soil salinity, mechanical composition, geomorphological conditions, and precipitation.



Figure 5 – Cattails-mixed-grass community of Zhalanashkol lake



Figure 6 – Grass – mixed community of Zhalanashkol lake

The main part of the study area is dominated by the mix of typha and grass communities dominated by typha (*Typha angustifolia* L.) and reed grasses (*Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex Steud.), as well as grasses and forbs. The plant cover is 80% (Figure 5-6).

The 72 useful species are identified on the territory of the study. Ilyins M.M. classification was used as a foundation for group plant group distinguishment [23]. Thus, three major types have been identified, each of them includes several feature groups of useful plants. The quantitative ratio is presented in table 2.

Table 2 – Distribution of groups of useful plants by special types

Type	Groups of useful plants	The number of species
Natural	Medicinal	10
	Fodder	19
	Food	6
	Honey	4
	Venomous	6
	Insecticidal	1
	Decorative	2
Technical	Essential oil	3
	Fat oil	2
	Tanning	5
	Dyeing	4
	Fibrous	3
	Wicker	5
	Fuel and wood	2
Total:		72

The natural type includes plants with the following features: medicinal, fodder, food, honey, poisonous, insecticidal, and decorative. The most numerous in their number are fodder plants, there are 19 species: *Ceratophyllum demersum* L., *Salsola arbuscula* Pall., *Salsola collina* Pall., *Polygonum aviculare* L., *Rheum nanum* Siev., *Glycyrrhiza glabra* L., *Trifolium pratense* L., *Vicia cracca* L., *Achillea millefolium* L., *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla, *Achnatherum splendens* (Trin.) Nevski, *Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex Steud., *Poa angustifolia* L., *Setaria viridis* (L.) Beauv., *Typha angustifolia* L.

The next group is medicinal plants, which includes 10 species. Some of them are: *Hypericum perforatum* L., *Chelidonium majus* L., *Limonium gmelinii* (Willd.) O. Kuntze, *Glycyrrhiza glabra* L., *Artemisia absinthium* L. etc.

Groups of edible and poisonous plants each contain 6 species: *Hypericum perforatum* L., *Chenopodium album* L., *Ch. rubrum* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla, *Typha angustifolia* L. can be used in food industry. *Adonis parviflora* Fisch. ex DC., *Ceratocephala testiculata* (Crantz) Bess., *Chelidonium majus* L., *Gypsophila paniculata* L., *Lepidium ruderale* L., *Xanthium strumarium* L. are poisonous ones, accordingly.

Honey plants include 4 species: *Epilobium hirsutum* L., *Trifolium pratense* L., *Vicia cracca* L., *Mentha arvensis* L.

2 decorative plant species were identified: *Gypsophila paniculata* L., *Tamarix ramosissima* Ledeb. However, there is only 1 type of insecticidal plant species: *Lepidium ruderale* L.

Technical plant types include plants containing essential oils and fat oils, and plants with a potential use in tanning, dying, fiber, wick, fuel and wood industries. 5 plant species belong to tanning plant types and they are *Polygonum aviculare* L., *Rheum nanum* Siev., *Limonium gmelinii* (Willd.) O. Kuntze y Dyeing plants include 4 species, and they are *Hypericum perforatum* L., *Polygonum aviculare* L., *Xanthium strumarium* L., *Chenopodium rubrum* L. Wicker plants (*Achnatherum splendens* (Trin.) Nevski). Plants containing essential oils include 3 species (*Mentha arvensis* L., *Achillea millefolium* L. and etc.). Plants containing fats are *Xanthium strumarium* L. and etc., fibrous plants are *Glycyrrhiza glabra* L. and etc. Plants with a potential use in fuel and wood industry include 5 species, and an example is *Salsola arbuscula* Pall.

Conclusion

As a result of the systematic analysis of higher aquatic and semi – aquatic plants of Zhalanashkol soda lake in Almaty region, 46 species from 43 genera belonging to 21 families were identified. The triad of dominant families is identified too: it's *Chenopodiaceae* (6 genera, 8 species), *Asteraceae* (5 genera, 5 species), *Halagaraceae* and *Poaceae*, the latter ones have the same number of genera and species – 4. 10 dominant families contain 34 species, which is accounted for 73.91 % of the total number of species. The leading genera are *Ceratophyllum demersum* L. and *Ceratophyllum*

submersum L. from the family of *Ceratophyllaceae* S.F. Gray, *Chenopodium album* L., *Ch. rubrum* L., *Salsola arbuscula* Pall., *S. collina* Pall. from *Chenopodiaceae* Vent family.

72 useful species are identified on the territory of the study area. The most numerous groups are based on the number of species, and they are medical and fodder plants.

Thus, due to the peculiarities of the aquatic flora, the higher aquatic and semi – aquatic plants of Zhalanashkol lake of the Almaty region are characterized by a small species diversity, with a predominance of *Typha*, *Phragmites*, *Bolboschoenus*.

Funding

The work was completed within the framework of the project titled: «Assessment of the ecological state of unique soda-saline ecosystems in Kazakhstan» (AP08856160) supported by the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan.

Conflict of interest

All authors are familiar with information provided in the article and declare no conflicts of interest

References

- 1 Berezovikov N.N., Gavrilov E.I., Khrokov V.V. Ornithofauna of Lake Zhalanashkol and the Dzungarian Gate // Russian Journal of Ornithology. – 2007. – Vol. 16, No 348. – P. 295-333.
- 2 Avetisyan R.M., Berezovikov N.N., Rachkovskaya E.I., Sultanova B.M., Danko E.I., Alishev K.S. On the need to give Lake Zhalanashkol the status of a specially protected natural area. State and prospects of the network of protected areas in Central Asia. – Tashkent, 2004. – 248 p.
- 3 Tulebaeva A.R. Description of the vegetation cover of the coastal edge of Lake Zhalanashkol // Young scientist. – 2021. – Vol. 45, No 387. – P.135–138.
- 4 Boros E., Kolpakova M. A review of the defining chemical properties of soda lakes and pans: An assessment on a large geographic scale of Eurasian inland saline surface waters // PLoS ONE. – 2018. – Vol. 13, No 8. – 1–20. doi: 10.1371/journal.pone.0202205.
- 5 Filonets P.P., Omarov T. R. Lakes of Northern, Western and Eastern Kazakhstan. Hydrometeoizdat. – Leningrad, 1974. – 179 p.
- 6 Akhmetzhanova A.A., Sadykova N.T., Isabaev A.T. The study of therapeutic mud of lake Zhalanashkol // All-Russian research competition | www.perviy-vestnik.ru. – 2020. – P. 79 – 87.
- 7 Tokpanov E.A. Hydromineral recreational resources of Zhalanashkol Lake // Bulletin of KazNU. – 2016. – Vol. 2. – P. 304–310.
- 8 Kuskov A.S. Balneology and health tourism. – Rostov: Phoenix, 2004. – 463 p. ISBN 5-222-05232-X
- 9 Gidudu B., Copeland R.S., Wanda F., Ochaya H., Cuda J.P., and Overholt W.A. Distribution, interspecific associations and abundance of aquatic plants in Lake Bisina, Uganda // J. Aquat. Plant Manage. – 2001. – Vol. 49. – P. 19-27.
- 10 O'Hare M.T., Aguiar F.C., Asaeda T., Bakker E.S., Chambers P.A., Clayton J.S., Elger A., Ferreira T.M. etc. Plants in aquatic ecosystems: current trends and future directions // Hydrobiologia. – 20018. – Vol.812. – P.1-11. doi.org/10.1007/s10750-017-3190-7.
- 11 Wood K.A., O'Hare M.T., Donald C.Mc, Searle K.R., Daunt F. and Stillman R.A. Herbivore regulation of plant abundance in aquatic ecosystems // Biological Reviews. – 2017. – Vol.92. – P.1128–1141. doi:10.1111/brv.12272.
- 12 Dudgeon D., Arthington A.H., Gessner M.O., Kawabata Z. I., Knowler D.J., Le'Ve'que C., Naiman R.J., Prieur- Richard A.H., Soto D., Stiassny M.L. and Sullivan C.A. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges // Biological Reviews. – 2006.- Vol. 81. – P.163–182. doi:10.1017/S1464793105006950.
- 13 Vo'ro'smarty C.J., McIntyre P.B., Gessner M.O, Dudgeon D., Prusevich A., Green P., Glidden S., Bunn S.E., Sullivan C.A., Liermann C.R. and Davies P.M. Global threats to human water security and river biodiversity // Nature – 2010. – Vol.467. – P.555–561. doi:10.1038/nature09440.
- 14 Inelova Z., Nesterova S., Yerubayeva G., Yessimsitova Z., Seitkadyr K., Zaparina Ye. Heavy metal accumulation in plants of Atyrau region // Pakistan journal of Botany. – 2018. – Vol.50, No 6. – P. 2259 – 2263
- 15 Inelova Z. Biodiversity of plants in phytocenoses on the territory of the destroyed warehouse, storage of pesticides in the settlement of Beskaynar. Man in the modern world: identity and intercultural communication. International monography. Interkulturelle Weiterbildungsgesellschaft e.V. (Düsseldorf, Germany), Encyclopedist-Maximum, 2019. – 583 p.
- 16 Lisitsyna L.I. Herbarization of aquatic plants, design of collections // Hydrobotany: methodology, methods: Materials of the School of Hydrobotany. – 2003. – P. 49–55.
- 17 Pavlov N.V. Flora of Kazakhstan. – Alma – Ata: Science, 1956–1967. –Vol. 1–9.
- 18 Goloskokov V.P. Illustrated guide to plants of Kazakhstan. – Alma-Ata: Science, 1969–1972. – Vol.1–2.
- 19 Baitenov M.S. Flora of Kazakhstan. – Almaty: Gylym, 2001. –Vol. 1–2.
- 20 Takhtadzhyan A.L. Magnoliophyte system. – L.: Science, 1987. – 439 p.

- 21 Cherepanov S.K. Vascular plants of the USSR. – L.: Nauka, 1981. – 509 p.
- 22 Jiri Soják *Potentilla* L. (Rosaceae) and related genera in the former USSR (identification key, checklist and figures) // Notes on *Potentilla* XV Botanische Jahrbücher. – 2004. Vol. –125, No. 3. – P.253-340. doi:10.1127/0006-8152/2004/0125-0253
- 23 Nesterova S.G., Aidosova S.S., Inelova Z.A., Childibaeva A.Zh., Basygaraev Zh.M., Korotkov B.C. Useful plants of the deserts of the Ile-Balkhash region // Bulletin KazNU. – 2011. – Vol. 6, No 52. – 2011. – P.144–147.

References

- 1 Akhmetzhanova A.A., Sadykova N.T., Isabaev A.T. (2020) Issledovanie lechebnyh grjazej ozera Zhalanashkol' [The study of therapeutic mud of lake Zhalanashkol], Vserossijskij konkurs nauchnyh issledovanij, p.79-87. (In Russian)
- 2 Avetisyan R.M., Berezovikov N. N., Rachkovskaya E. I., Sultanova B.M., Danko E.I., Alishev K. S. (2004) O neobhodimosti pridanija ozeru Zhalanashkol' statusa osobo ohranjaemoj prirodnoj territorii [On the need to give the lake Zhalanashkol the status of a specially protected natural area]. Sostojanie i perspektivy seti ohranjaemyh territorij v Central'noj Azii. Tashkent, 248 p. (In Russian)
- 3 Baitenov M.S. (2001) Flora Kazahstana [Flora of Kazakhstan]. Almaty, Gylym, vol.1-2.
- 4 Berezovikov N.N., Gavrilov E.I., Khrokov V.V. (2007) Ornitofauna ozera Zhalanashkol' i Dzhungarskih vorot [Ornithologic fauna of Lake Zhalanashkol and the Dzungarian Gate]. Russkij ornitologicheskij zhurnal]. vol.348, pp.295-333. (In Russian)
- 5 Boros, E., Kolpakova, M. (2018) A review of the defining chemical properties of soda lakes and pans: An assessment on a large geographic scale of Eurasian inland saline surface waters, PLoS ONE, vol.13, no 8, pp.1-20.
- 6 Cherepanov S.K.(1981) Sosudystrye rastenija SSSR. [Vascular plants of the USSR]. L.: Nauka, 509 p. (In Russian)
- 7 Dudgeon D., Arthington A.H., Gessner M.O., Kawabata Z.I., Knowler D.J., Leveque C., Naiman R.J., Prieur-Richard A.H., Soto D., Stiassny M.L. and Sullivan C.A. (2005) Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges, Biological Reviews, vol.81, pp.163–182.
- 8 Filonets P.P., Omarov T. R. (1974) Ozera Severnogo, Zapadnogo i Vostochnogo Kazahstana [Lakes of Northern, Western and Eastern Kazakhstan]. Gidrometeoizdat:Leningrad, 179 p.
- 9 Gidudu B., Copeland R.S., Wanda F., Ochaya H., Cuda J. P., And.Overholt W. A. (2011) Distribution, interspecific associations and abundance of aquatic plants in Lake Bisina, Uganda. J. Aquat. Plant Manage, vol.49, pp.19-27.
- 10 Goloskokov V.P. (1969-1972) Illjustrirovannyj opredelitel' rastenij Kazahstana [Illustrated guide to plants of Kazakhstan]. Alma-Ata, Science, vol. 1– 2. (In Russian)
- 11 Inelova Z. (2019) Biodiversity of plants in phytocenoses on the territory of the destroyed warehouse, storage of pesticides in the settlement of Beskaynar. Man in the modern world: identity and intercultural communication. International monography. Interkulturelle Weiterbildungsgesellschaft e.V. (Düsseldorf, Germany), Encyclopedist-Maximum, 583 p.
- 12 Inelova Z., Nesterova S., Yerubayeva G., Yessimsitova Z., Seitkadyr K., Zaparina Ye. (2018) Heavy metal accumulation in plants of Atyrau region, Pakistan journal of Botany, vol.50, no 6, pp. 2259 – 2263.
- 13 Jiri Soják (2004) *Potentilla* L. (Rosaceae) and related genera in the former USSR (identification key, checklist and figures). Notes on *Potentilla* XV Botanische Jahrbücher, vol.125, no 3, pp. 253-340.
- 14 Kuskov A.S. (2004) Kurortologija i ozdorovitel'nyj turizm [Balneology and health tourism]. Rostov na Donu. Phoenix, 317 p. (In Russian)
- 15 Lisitsyna L.I. (2003) Gerbarizacija vodnyh rastenij, oformlenie kollekcij [Herbarization of aquatic plants, design of collections]. idrobotanika: metodologija, metody: Materialy shkoly po gidrobotanike Hydrobotany: methodology, methods, p. 49–55. (In Russian)
- 16 Nesterova S.G., Aidosova S.S., Inelova Z.A., Childibaeva A.Zh., Basygaraev Zh.M., Korotkov B.C. (2011) Poleznye rastenija pustyn' Ile-Balhashskogo regiona [Useful plants of the deserts of the Ile-Balkhash region]. Bulletin, biological series, vol.6, no. 52, pp.144-147. (In Russian)
- 17 O'Hare M.T., Aguiar F.C., Asaeda T., Bakker E.S., Chambers P.A., Clayton J.S., Elger A., Ferreira T.M. etc. (2018) Plants in aquatic ecosystems: current trends and future directions, Hydrobiologia, vol. 812, pp. 1–11.
- 18 Pavlov N.V. (1956-1967) Flora Kazahstana [Flora of Kazakhstan]. Alma – Ata, Science, vol.1-9. (In Russian)
- 19 Takhtadzhyan A.L. (1987) Sistema magnoliofitov [Magnoliophyte system]. Leningrad, Nauka, 439 p. (In Russian)
- 20 Tokpanov E.A. (2016) Gidromineral'nye rekreacionnye resursy ozera Zhalanashkol' [Hydromineral recreational resources of Zhalanashkol Lake]. Vestnik KazNU, vol.2, pp.304-310. (In Russian)
- 21 Tulebaeva, A. R. (2021) Opisanie rastitel'nogo pokrova beregovoj kromki ozera Zhalanashkol [Description of the vegetation cover of the coastal edge of Lake Zhalanashkol]. Molodoj uchenyj, vol. 387, pp.135–138. (In Russian)
- 22 Vo"ro'smarty C.J., McIntyre P.B., Gessner M.O., Dudgeon D., Prusevich A., Green P.,S. Glidden S.E., Bunn C.A., Sullivan C.R., Liermann and Davies P.M. (2010) Global threats to human water security and river biodiversity, Nature, vol. 467, pp. 555–561.
- 23 Wood K. A., O'Hare M.T., Donald C. Mc, Searle K. R., Daunt F. and Stillman R.A. (2017) Herbivore regulation of plant abundance in aquatic ecosystems, Biological Reviews, vol. 92, pp. 1128–1141.

А. Ахмет* , **А.У. Исаева** 

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

*e-mail: Aina_756@mail.ru

ФОСФОР ҚАЛДЫҚТАРЫНЫҢ ТЕСТ-ӨСІМДІКТЕРГЕ ФИТОУЫТТЫЛЫҒЫН БАҒАЛАУ

Қоршаған ортаны ластаушы және ондағы биоценоздың тұрақтылығына күрделі зардаптар туғызатын техногенді өндірістік қалдықтарға құрамында фосфоры бар қалдықтарда жатады. Техногендік қалдықтардың уыттылығын биологиялық әдістермен бағалауда әртүрлі гидробионтты ағзалардың топтарын: микробалдырлар, қарапайымдылар, ұлулар, өсімдіктер және т.б. тест ағзалары ретінде қолданылады. Құрамында фосфор бар қалдықтардың шлак және шлам түріндегі сандық және сапалық құрамы жағынан ерекшеленетін 2 типі А және Б пайдаланылды. Фито-тест өсімдіктері ретінде *Phaseolus vulgaris*, *Hordeum vulgare* өсімдіктері пайдаланылды. Зерттеліп отырған тест-өсімдіктердің морфологиялық, биометриялық көрсеткіштері су суспензиясымен араласқан фосфор қалдықтарымен пропорционалды түрде төмендейтіні анықталды. Тәжірибеде қолданылған уыттылық дәрежесіне қарай А тобына жатқызылған құрамында фосфоры бар шлактар мен Б тобына жатқызылған шламдардың 1,0 % көлемді мөлшерлі концентрациясы уыттылығы жоқ болып саналды, ал шлактардың 5,0 % көлемді мөлшерлі концентрациясы әлсіз уытты, 10,0% шлам мен шлақтың судағы мөлшері улы болып табылды, онда өсімдіктердің салмағы $82,1 \pm 8,0$ *Phaseolus vulgaris*, $82,4 \pm 8,1$ *Hordeum vulgare*, ал өсімдіктердің биіктігі $79,8 \pm 7,6\%$ *Phaseolus vulgaris*, сәйкесінше *Hordeum vulgare* $80,2 \pm 7,5\%$ төмендегені анықталды. Құрамында фосфор бар шлам қалдықтары шлак түріндегі қалдықтарға қарағанда уытты екендігі анықталды.

Түйін сөздер: Техногендік қалдықтар, уыттылық, шлам, шлак, фито-тест өсімдіктер.

A.Akhmet*. A.U. Issayeva

M. Auezov South Kazakhstan University, Kazakhstan, Shymkent

*e-mail: Aina_756@mail.ru

Assessment of phytotoxicity of phosphorus-containing waste for test plants

Man-made industrial wastes that pollute the environment and cause serious consequences for the sustainability of the biocenosis in it include phosphorus-containing wastes. When assessing the toxicity of man-made waste by biological methods, various groups of hydrobiontic organisms are used as test organisms: microalgae, protozoa, molluscs, plants, etc. Two types of phosphorus-containing waste are used, slag and sludge. A and B, differing in their quantitative and qualitative characteristics. *Phaseolus vulgaris*, *Hordeum vulgare* were used as a phyto-test of plants. It was found that the morphometric parameters of the analyzed test plants decreased in proportion to the content of phosphorus-containing wastes in aqueous suspensions. Depending on the degree of toxicity used in the experiment, $1.0 \pm 0,1\%$ of phosphorus-containing slags and sludge were considered non-toxic, and $5.0 \pm 0,5\%$ of slag – slightly toxic, the most toxic was the content of $10,0 \pm 0,9\%$ of sludge and slag in water, in which the weight of plants decreases by $82,1 \pm 8,0\%$ *Phaseolus vulgaris*, by $82,4 \pm 8,1\%$ *Hordeum vulgare*, plant height by $79,8 \pm 7,6\%$ *Phaseolus vulgaris*, by $80,2 \pm 7,5\%$ *Hordeum vulgare*, respectively. It was revealed that phosphorus-containing sludge is more toxic than slags.

Key words: technogenic waste, toxicity, sludge, slag, plant phyto-test.

А. Ахмет*, А.У. Исаева

Южно-Казахстанский университет им. М.Ауэзова, Казахстан, г. Шымкент

*e-mail: Aina_756@mail.ru

Оценка фитотоксичности фосфорсодержащих отходов для тест-растений

К техногенным производственным отходам, загрязняющим окружающую среду и вызывающим серьезные последствия для устойчивости биоценоза в ней, относятся фосфорсодержащие отходы. При оценке токсичности техногенных отходов биологическими методами в качестве тест организмов используют различные группы гидробионтных организмов: микроводоросли, простейшие, моллюски, растения и др. Использовано 2 типа фосфорсодержащих отходов шлак и шлам. А и Б, отличающиеся по своим количественно-качественным характеристикам. В качестве фито-тест растений использовались *Phaseolus vulgaris*, *Hordeum vulgare*. Установлено что морфометрические показатели анализируемых фито тест-растений снижается пропорционально содержанию фосфорсодержащих отходов в водной суспензий. В зависимости от степени токсичности, применяемой в эксперименте, $1,0 \pm 0,1$ об. % фосфорсодержащих шлаков и шламов, считались нетоксичными, а $5,0 \pm 0,5$ об. % шлака – слабо токсичными, наиболее токсичными оказалось содержание $10,0 \pm 0,9$ об. % шлама и шлака в воде, при которой вес растений снижается на $82,1 \pm 8,0$ % *Phaseolus vulgaris*, на $82,4 \pm 8,1$ % *Hordeum vulgare*, высота растений на $79,8 \pm 7,6$ % *Phaseolus vulgaris*, на $80,2 \pm 7,5$ % *Hordeum vulgare* соответственно. Выявлено, что фосфорсодержащий шлам является более токсичным, чем шлаки.

Ключевые слова: техногенные отходы, токсичность, шлам, шлак, фито-тест растения.

Кіріспе

Қоршаған ортаны ластаушы және ондағы биоценоздың тұрақтылығына күрделі зардаптар туғызатын ауыр топтағы қауіптілігі жоғары қалдықтардың бірі кен өндіру саласының қалдықтары, солардың ішінде құрамында фосфоры бар техногендік қалдықтарда жатады.

Seregina Yu. et all. Белорец металлургиялық комбинаты мен Сибай кен байыту фабрикасы айналасында топырақтардың Cu, Zn, Fe, Mn, Cd, Pb металдарымен ластануын биотест-нысан ағзалардың көмегімен ластану дәрежесін анықтаған [1]. Техногендік қалдықтардың уыттылығын бағалауда жүргізілген тәжірибелерден фито-тест өсімдіктердің тұқымының өнуі, сабақ, тамыр, жапырақ өзгерістері арқылы анықталған. Экоотоксикологиялық биоанализдер ағынды сулар мен өнеркәсіптік ағынды сулардың фитоуыттылығын бағалау үшін жиі қолданылады, A.Priac et al. техногенді ағынды сулардың уыттылығын диагностикалауда *Lactuca sativa* өсімдігінің 4 түрлі сорттарын *Appia*, *batavia dorée de printemps*, *grosse blonde paresseuse* және *Kinemontepas* сорттарын таңдап қолданды, сонымен бірге ауыр металдардың уыттылығын анықтауда *Triticum aestivum L.* өсімдігін қолдану арқылы, өсімдіктің өміршендік индексін бағалап көрсетеді [2,3]. Биотест-нысан ағзалардың қолданылу аясы кен, өнеркәсіптік өндірістік жұмыстардан қалған темір, цемент, бетондардың биодеструкциясын-

да микробалдырлар, нитрификаторлармен темір тотықтырушы микроғазалармен салыстырмалы түрде жұмыс қарқындылығын зерттеген басылымдар да жарық көрген [4].

Кен қалдықтары мен өндірістік қалдықтардың, өндірістік ағынды сулардың қоршағани ортаға әсерін, өсімдіктерге әсерін бағалауда авторлар *Triticum aestivum L.*, *Secale cereale* және *Zea mays* ауылшаруашылық мәдени өсімдіктерді пайдаланып, оларға әртүрлі ауыр металдардың әсеріне сезімталдығы, өсімдіктің физиологиялық аспектілерін, өсімдік тұқымының салыстырмалы өну индексін, орташа морфометрикалық көрсеткіштері арқылы бағалауын салыстырмалы түрде бағалайды [5,6].

Қазіргі таңда ауыр және басқа улы металдармен қоршаған ортаның ластануын зерттеу әлемде өзекті мәселе болып отыр, осыған байланысты сәйкестендірілмеген зиянды заттардың ықтимал жағымсыз уытты әсерін бағалау мақсатында зиянды ағынды сулардың, техногенді қалдықтардың уытты әсерін сипаттау және бағалау үшін сынақ объектілерінде биотестілеу практикасы қолданылып келеді. Бұл жағдайда аналитикалық бақылаудың ең тиімді құралдары- биотестілеу анализімен, биоиндикация әдістері екенін көптеген зерттеулер дәлелдеп келеді [7-10]. Мысалы кейбір зерттеу жұмыстарында мәдени дәнді-дақылды астық тұқымдасты өсімдіктермен қатар жасыл көк –өністі өсімдік түрлерінің қырыққабыт *Brassica oleracea*, астық қызылшасы *Beta*

vulgaris, сәбіз *Daucus carota*, қызанақ *Solanum lycopersicum*, *Cucumis sativus*, қабақ *Cucurbita pepo*, жуа (*Allium cepa*), сарымсақ (*Allium sativum*), салат (*Lactuca*), аскөк (*Anethum graveolens*), петрушка *Petroselinum*); *Solanum tuberosum*) т.б. көптеген өсімдіктердің ауыр металдарға төзімділік дәрежесін анықтаған [11]. Гидробионтты ағзалар мен мәдени дәнді – дақылды өсімдіктердің тест-нысан ретінде қолданылу саласы үлкен, түрлі саладағы ластанған топырақтарды, суларды тазарту, ластану дәрежесін анықтап [12,13], бағалау жұмыстарында қолданған, мысалы, *Sorghum bicolor* L., *Phaseolus vulgaris* L. өсімдіктерін реактивті отын мен гербицидтердің уыттылығын анықтау үшін қолданылған, ал *Panicum miliaceum* L. фенол, хлорфенолдармен ластану дәрежесін анықтауда өсімдіктің тамыры мен сабағының өсіп, жетілуіне қарай бағалауға болатын көрсеткен [14-16].

- Металдар мен олардың қосылыстары ағзаға түскен кезде ағза метаболизмінде көптеген өзгерістер тудыратын экотоксиканттардың маңызды тобын құрайтыны белгілі. Қазақстанның оңтүстік өңірінде қазіргі таңда 500 000 т астам құрамында фосфоры бар қалдықтары жинақталған, қалдықтың жинақталған орны үлкен көлемді жер аумағын шаруашылық және экономикалық айналымнан тосқауылдап тұр [17-19]. Жалпы Қазақстанда фосфор тыңайтқыштарын өндіретін өндіріс орындары «Казфосфат» ЖШС (Тараз қ.) «Казфосфат» ЖШС 22-ге жуық өнім түрлерін шығарады, Жамбыл облысы аумағында 48 фосфорит кен орны ашылғаны туралы деректер бар, олардың ішінде 13 млрд. т игерілген, фосфорит қорының 72 % баланстық қоры Жамбыл облысына тиесілі, бұл ТМД елдері мен әлем бойынша ең ірі қор көлемі болып саналады [20]. Қазіргі таңда еліміз дүние жүзі бойынша пайдалы кен қазба байлықтарынан әлемдік бәсекелестікке ие елдердің қатарында, кен өндірісінің жұмысы мен статистикалық көрсеткіштерін арнайы сайттардан көре аламыз [21-23]. Қазақстан Республикасының тау-кен саласы шамамен толықтай игерілген және игерілу үстінде және 70 тау-кен өндірісін игеруде 13-ші орынға ие, толық ақпараттар [24, 25] алуға болады. Зерттеу нысаны болып отырған Шымкент фосфор зауытының қалдықтарының микробиологиялық құрамы толық зерттеліп, сипатталды, қалдық құрамының микрофлорасында 51% гетеротрофты бактериялар, 35% микромицеттер, 10 % актиномицеттер, 4 % ашытқылар кездесті [26]. Фосфор қалдықтарының құра-

мынан сирек жер металдары мен бағалы компоненттерді бөліп алуда бөлінген микроағзалар ассоциациясы жұмысы қарқынды екені моделді тәжірибелер арқылы анықталған [27]. Дегенмен игерілген кен қазбаларының экологиялық тұрғыдан ластану дәрежесі мен қалдық көлемінің артуы үлкен экологиялық мәселе туындатады, себебі қалдық құрамындағы ауыр металдар, жиналған шоғырлар мен қалдық сулары әр түрлі климаттық факторлардың салдарынан, жел, су, жауын-шашын арқылы жер асты және жер үсті суларының, судағы тіршілік ететін ағзалардың, атмосфералық ауаның, топырақ пен өсімдіктердің ластану көздері болып табылады. Қалдықтарды биотестілеу, олардың гигиеналық және экологиялық қауіптілігін бағалау, оларды өнеркәсіптің әртүрлі салаларында қайталама шикізат көзі, мелеоранттар, тыңайтқыштар және т. б. ретінде пайдалану мүмкіндігін арттырады. Осыған орай зерттеу жұмысымызға қойған мақсатымыздың міндеттерінің бірі Шымкент қаласының аумағында орналасқан құрамында фосфоры бар қалдықтардың экоуыттылығын тест-ағзалардың реакциясы бойынша анықтау болды.

Зерттеу нысаны мен әдістері

Зерттеу нысаны ретінде құрамында фосфоры бар шлактар мен шламдар, фито-тест нысан өсімдіктері ретінде *Phaseolus vulgaris*, *Hordeum vulgare* мәдени өсімдіктері қолданылды.

Құрамында фосфоры бар қалдықтардан (шлак, шлам) сынамаларынан $1,0 \pm 0,1\%$; $5,0 \pm 0,5\%$; $10,0 \pm 0,9\%$ көлемді мөлшерлі концентрациясын өлшеп алынды, субстрат ретінде вермикулит қолданылды. Алынған тығыздық пен сұйықтың қатынасының өлшемінде болды (Т:С 1:1), рН дәрежесі – 7-8 сілтілі. Бір реттік қолданылатын полиэтиленді стакандарға вермикулит салынып, 5 дана өсімдік тұқымы егілді, әр сынама 3-реттік қайталау арқылы тәжірибе қойылды, бақылау тест ретінде таза сумен араластырылып егілген бақылау өсімдіктері қойылды. Тест-нысандар егілген полиэтиленді стакандардың беті полиэтиленді қалташықтармен көмкерілді, бөлме температурасында, күн сәулесі түсетін зертхана жағдайында тәжірибе қойылды. 5 тәуліктен кейін өніп шыққан өскіндердің саны, өсімдіктің орташа салмағы, орташа бой ұзындығы, өскен өсімдік жапырағының саны, жапырағының ұзындығы, жапырақтарының некрозға ұшырауы, жетілмеуі, тамыр ұзындығы, жалпы салмағы

т.б.) морфометрикалық өзгерістері бойынша сараптама жүргізілді.

Зерттеу нәтижелері

Мәдени өсімдіктерге құрамында фосфоры бар қалдықтардың әртүрлі концентрациясының фитотоксінділігінің әсерін зерттеуде келесі нәтижелер алынды.

А тобындағы құрамында фосфоры бар шлак, борпылдақ, түйіршікті қалдықтар әлсіз уытты қалдықтар болып табылды. Қалдықтардың $1,0 \pm 0,1$ % көлемдегі мөлшерлі концентрациясында өсімдіктердің өсу, даму көрсеткіштерін арттырады, өсу стимуляторы ретінде әсер етеді. Ал $5,0 \pm 0,5$ % көлемді мөлшерлі концентрациясы әлсіз уытты, ал $10,0 \pm 0,9$ % көлемді мөлшерлі концентрациясы орташа уыттылық әсер берді. $5,0 - 10,0$ % концентрациясында тамыр жүйесі белсенді болса да, сабақтар мен жапырақтардың өсуі баяулайды.

$5,0 \pm 0,5$ % көлемді мөлшерлі концентрациясы: 1) *Ph. vulgaris* өсімдіктің ұзындығы – $22,8 \pm 0,1$ % (бақылауда – $28,3 \pm 2,4$ %), сабақ ұзындығы $13,2 \pm 1,2$ % (бақылау – $14,7 \pm 1,2$ %), тамыр ұзындығы $9,6 \pm 1,0$ % (бақылау – $13,6 \pm 1,2$ %), жапырақ тақташасының ені $2,8$ см, ұзындығы $4,2$ см (бақылау – ені $3,6$ см, ұзындығы $4,7$ см), орташа салмағы $2,3$ (бақылау – $2,8$ г); 2) *H. vulgare* өсімдіктің ұзындығы – $21,8 \pm 0,1$ % (бақылауда – $27,4 \pm 2,4$ %), сабақ ұзындығы $14,6 \pm 1,2$ % (бақылау – $15,8 \pm 1,3$ %), тамыр ұзындығы $7,2 \pm 1,1$ % (бақылау – $11,6 \pm 1,2$ %), жапырақ тақташасының ені $2,8$ см, ұзындығы $4,2$ см (бақылау – ені $2,1$ см, ұзындығы $15,7$ см), орташа салмағы $1,2$ г (бақылау – $1,7$ г).

$10,0 \pm 0,9$ % көлемді мөлшерлі концентрациясы: 1) *Ph. vulgaris* өсімдіктің ұзындығы – $10,7 \pm 0,1$ % (бақылауда – $28,3 \pm 2,4$ %), сабақ ұзындығы $5,8 \pm 0,5$ % (бақылау – $14,7 \pm 1,2$ %), тамыр ұзындығы $4,9 \pm 0,4$ % (бақылау – $13,6 \pm 1,2$ %), жапырақ тақташасының ені $0,9$ см, ұзындығы $1,2$ см (бақылау – ені $3,6$ см, ұзындығы $4,7$ см), орташа салмағы $1,3$ г (бақылау – $2,8$ г); 2) *H. vulgare* өсімдіктің ұзындығы – $10,9 \pm 0,1$ % (бақылауда – $27,4 \pm 2,4$ %), сабақ ұзындығы $6,7 \pm 0,6$ % (бақылау – $15,8 \pm 1,3$ %), тамыр ұзындығы $4,2 \pm 0,4$ % (бақылау – $11,6 \pm 1,2$ %), жапырақ тақташасының ені $0,2$ см, ұзындығы $8,7$ см (бақылау – ені $2,1$ см, ұзындығы $15,7$ см), орташа салмағы $1,2$ г (бақылау – $1,7$ г).

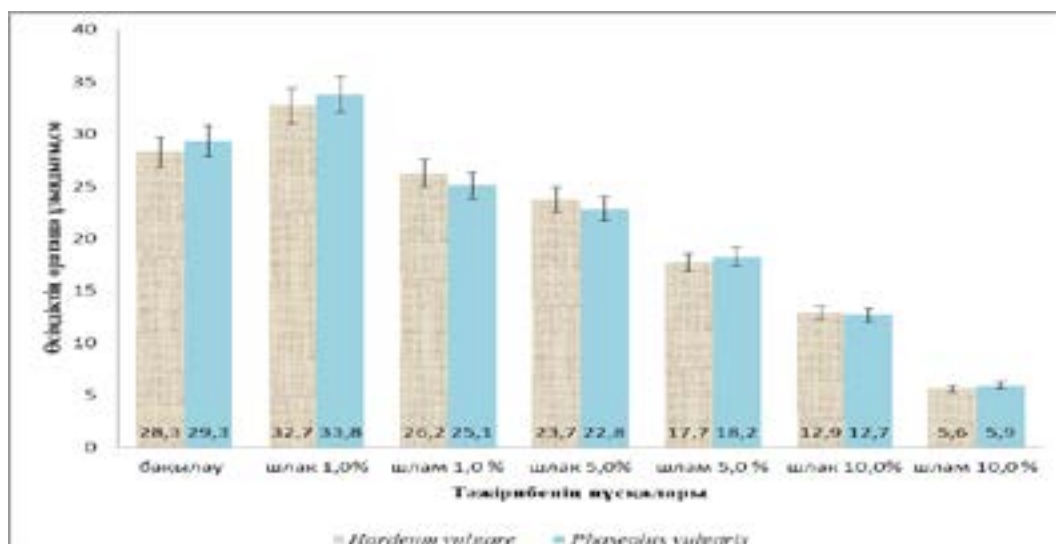
Б – құрамында фосфоры бар шлам, өткір иісті, тығыз қалдық. Фито-уыттылығы $1,0 \pm 0,1$ % көлемді мөлшерлі концентрациясы уыттылығы төмен, өсімдік тұқымының өнуі $89,2 \pm 3,45$ %

құрады. Өнген өсімдіктердің вегетативті мүшелерінің морфометрикалық көрсеткіштері қалыпты дамыды. $5,0 \pm 0,5 - 10,0 \pm 0,9$ % көлемді мөлшерлі концентрациялар уыттылығы жоғары екені анықталды. $5,0 \pm 0,5$ % көлемді мөлшерлі концентрациясы: 1) *Ph. vulgaris* өсімдіктің ұзындығы – $18,2 \pm 1,3$ % (бақылауда – $28,3 \pm 2,4$ %), сабақ ұзындығы $12,8 \pm 1,2$ % (бақылау – $14,7 \pm 1,2$ %), тамыр ұзындығы $5,4 \pm 1,0$ % (бақылау – $13,6 \pm 1,2$ %), жапырақ тақташасының ені $1,8$ см, ұзындығы $3,8$ см (бақылау – ені $3,6$ см, ұзындығы $4,7$ см), 2) *H. vulgare* өсімдіктің ұзындығы – $17,7 \pm 1,2$ % (бақылауда – $27,4 \pm 2,4$ %), сабақ ұзындығы $9,8 \pm 0,9$ % (бақылау – $15,8 \pm 1,3$ %), тамыр ұзындығы $7,9 \pm 0,7$ % (бақылау – $11,6 \pm 1,2$ %), жапырақ тақташасының ені $0,6$ см, ұзындығы $4,2$ см (бақылау – ені $2,1$ см, ұзындығы $15,7$ см). Осы концентрацияда өсімдіктердің өнуі $47,8 - 67,2$ % төмендеді (бақылауда $98,8$ %). Вегетациялық мүшелерінің өсу критериялары өзгерді, морфометрикалық көрсеткіштері, сабақ, тамыр ұзындықтары қысқарды, жапырақтары кішірейген (сурет 1,2).

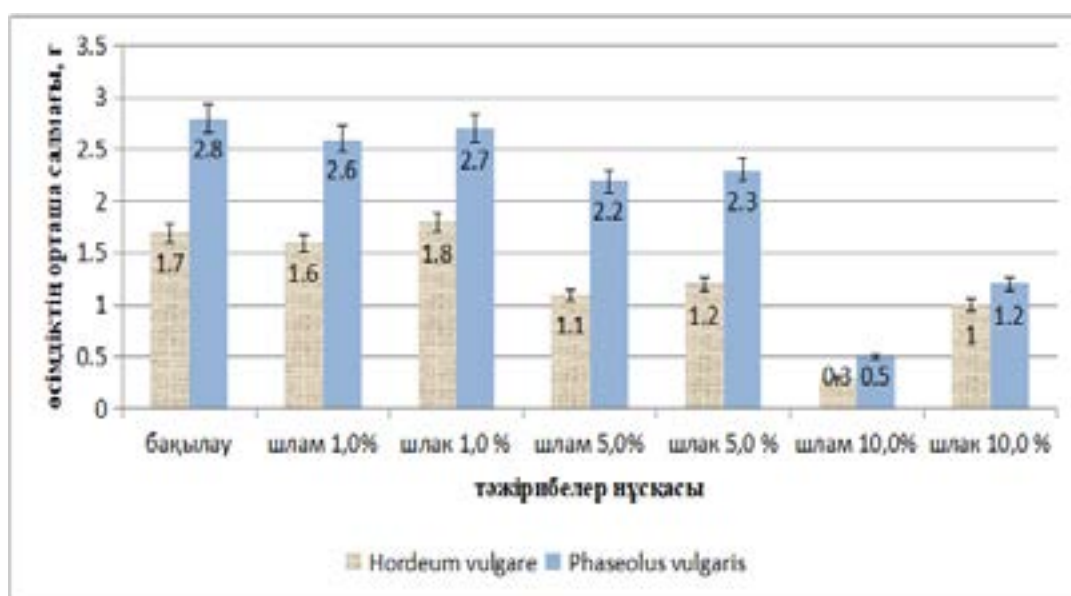
$10,0 \pm 0,9$ % көлемді мөлшерлі концентрациясы: 1) *Ph. vulgaris* өсімдіктің ұзындығы – $5,9 \pm 0,5$ % (бақылауда – $28,3 \pm 2,4$ %), сабақ ұзындығы $3,8 \pm 0,5$ % (бақылау – $14,7 \pm 1,2$ %), тамыр ұзындығы $2,1 \pm 0,4$ % (бақылау – $13,6 \pm 1,2$ %), жапырақ жетілмеген, некрозға ұшыраған (бақылау – ені $3,6$ см, ұзындығы $4,7$ см), орташа салмағы $0,5$ г (бақылау – $2,8$ г). *Ph. vulgaris* өсімдігінің жапырақ мүшесі гуттациялық процесстердің төмендігінен жапырақтары құрғап, некрозға ұшырады, кейбір өскіндерде мүлдем дамымады. Тамыр жүйесі қысқарған. Шлам қосылған нұсқада *Ph. vulgaris* тұқымдарының өнуі $93,3$ % төмен болды, тек $6,7$ % өніп шықты. 2) *H. vulgare* өсімдіктің ұзындығы – $5,6 \pm 0,5$ % (бақылауда – $27,4 \pm 2,4$ %), сабақ ұзындығы $3,8 \pm 0,3$ % (бақылау – $15,8 \pm 1,3$ %), тамыр ұзындығы $1,8 \pm 0,1$ % (бақылау – $11,6 \pm 1,2$ %), жапырақ тақташасының ені $0,2$ см, ұзындығы $3,4$ см (бақылау – ені $2,1$ см, ұзындығы $15,7$ см), орташа салмағы $0,3$ г (бақылау – $1,7$ г). Өсімдіктің морфометрикалық көрсеткіштері төмендеді, сабақ ұзындығы, тамыр жүйесінде өзгерістер орын алды. Тұқымдардың өнімі төмендейді. Өсімдіктердің биометрикалық көрсеткіштерінің ауытқуы мен өсімдіктің өсу, даму процесстерінің тежелуі байқалды. Осыған орай Б тобындағы құрамында фосфоры бар өткір иісті, тығыз қалдық, шламның $5,0 - 10,0$ % көлемді мөлшерлі концентрациясының фитоуыттылығы *Phaseolus vulgaris*, *Hordeum vulgare* мәдени өсімдіктері үшін жоғары болды. Шламның

10,0±0,9 % көлемді мөлшерлі концентрациясы тест-өсімдіктер үшін уыттылық мөлшер деп бағалауға болады. Барлық бақылау

нұсқалардағы стакандарда өскен тест-нысан өсімдіктердің өсу көрсеткіштері қалыпты дамыды (сурет 1,2).



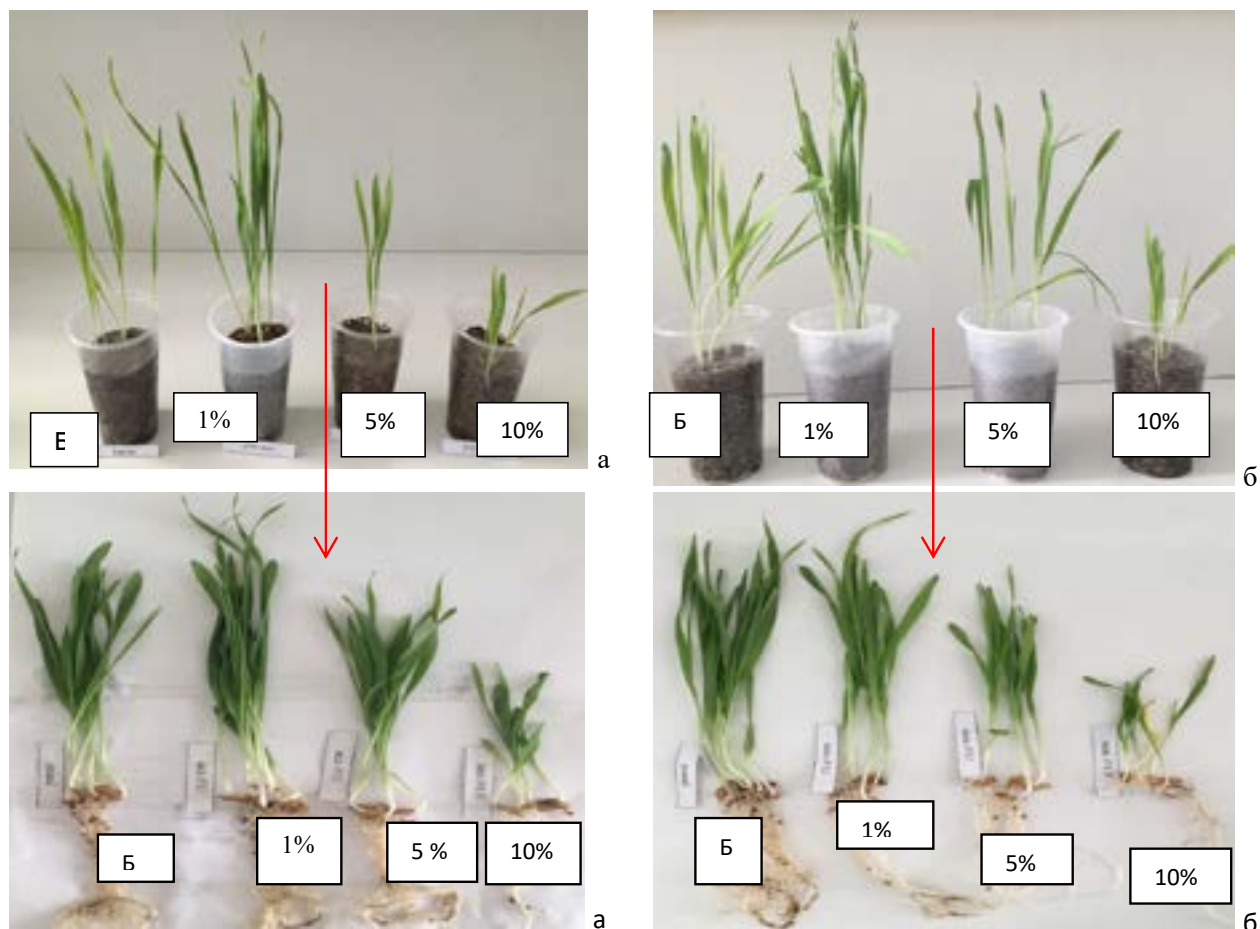
1-сурет – Мәдени өсімдіктердің орташа ұзындығына құрамында фосфоры бар қалдықтардың әртүрлі концентрациясының әсері



2-сурет – Мәдени өсімдіктердің орташа салмағына құрамында фосфоры бар қалдықтардың әртүрлі концентрациясының әсері

Шламның 10,0±0,9 % көлемді мөлшерлі концентрациясының уыттылығы құрамында фосфоры бар түйіршікті шлак қалдықтарымен салыстырғанда жоғары екендігі, фито-тест өсімдіктердегі морфометрикалық өзгерістер көрсеткіштеріне қарай анықталынды және

қалыпты жағдайда судағы бақылау нұсқасымен салыстырғанда тест-нысан өсімдіктердің ұрық өнімі, өсімдіктердің жапырақ тақтасының өзгерісі, жетілмеуі, күйіп қалуы, некрозға ұшырау сияқты параметрлік өзгерістер байқалынды (сурет 3,4).



3-сурет – *Hordeum vulgare* жүргізілген тәжірибелер

а – шлак түріндегі фосфор қалдықтарының әсері, б – шлам түріндегі фосфор қалдығының әсері.

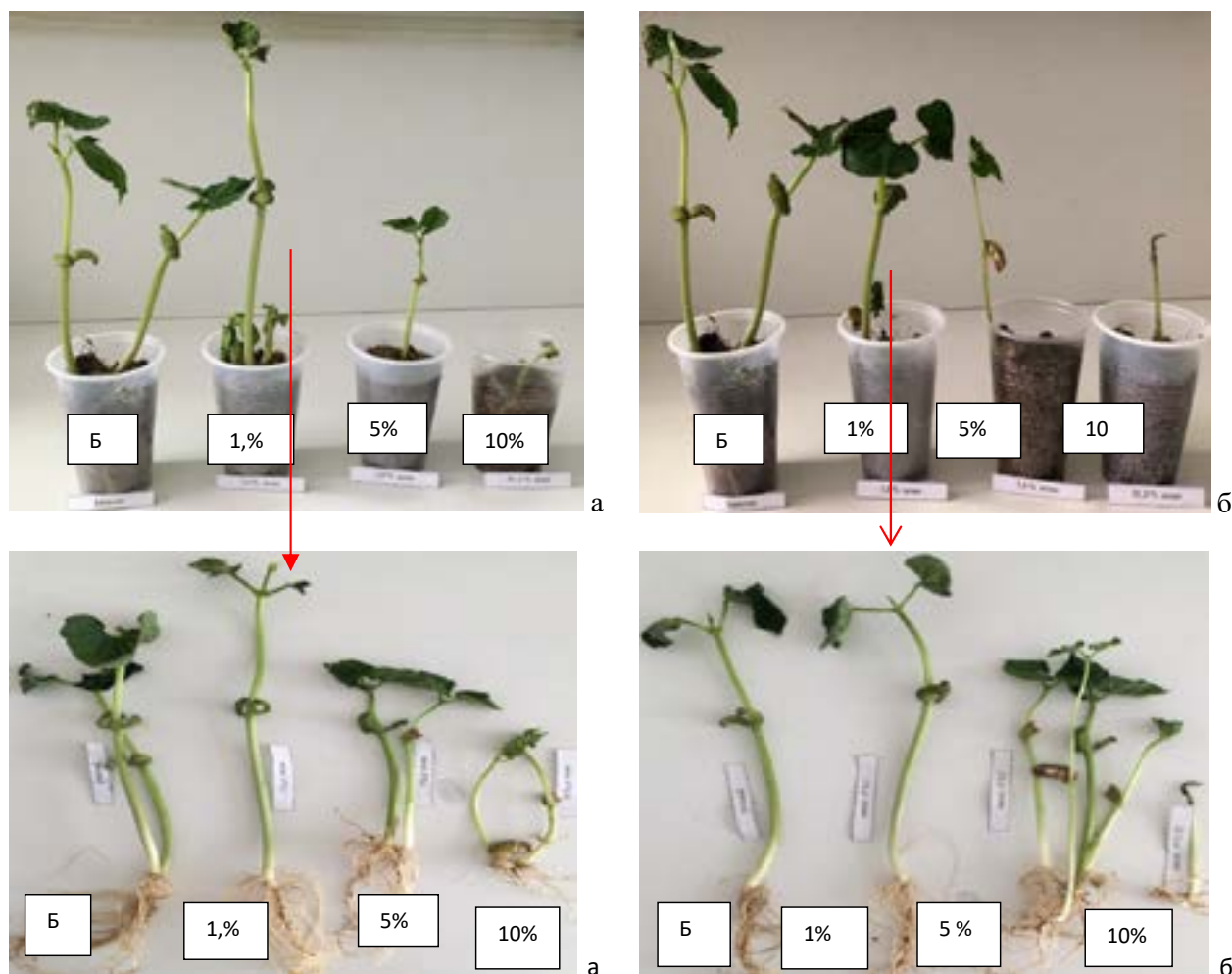
Ескерту: Б-бақылау, 1,0±0,1%, 5,0±0,5%, 10,0±0,9% шлак (а)

және шлам (б) көлемді мөлшерлі концентрациясы

Тест-нысан өсімдік ретінде бақылауға алынған мәдени өсімдіктерге *Hordeum vulgare* *Phaseolus vulgaris* фосфор қалдығының 10,0±0,9% концентрациясында едеуір уытты екендігі өсімдіктердегі морфометрикалық өзгерістер, жапырақ тақтасының дұрыс жетілмеуі, өсімдіктің жалпы орташа ұзындығының бақылау нұсқасымен салыстарғанда 81,2±7,5 % -ға, сонымен бірге өнімділіктің күрт төмендеуі арқылы белгілі болды. Фосфор қалдықтарының (шлам) 10,0±0,9% концентрациядан жоғары мөлшер мәдени өсімдіктердің өніп-жетілуіне, қалыпты дамуына кері әсер беретіні тәжірибелер нәтижесі арқылы белгілі болды (сурет 3). Зерттеу

көрсеткіштеріне қарай құрамында фосфор бар шлам қалдықтары шлак түріндегі қалдықтарға қарағанда уытты екендігі анықталды.

Тест-өсімдіктердің морфометриялық көрсеткіштері су суспензиясымен араласқан фосфор қалдықтарымен пропорционалды түрде төмендейтіні белгілі болды. 10,0±0,9 % шлам мен шлактың судағы мөлшері улы болып табылды, онда өсімдіктердің салмағы 82,1±8,0% *Phaseolus vulgaris*, 82,4±8,1% *Hordeum vulgare*, *Phaseolus vulgaris*, ал өсімдіктердің биіктігі 79,8±7,6 % *Phaseolus vulgaris*, сәйкесінше *Hordeum vulgare* 80,2±7,5 % төмендегені байқалды.



4-сурет – *Phaseolus vulgaris* өсімдігіне фосфор қалдықтарының (шлак, шлам) 1,0- 10,0 % көлемді мөлшерлі концентрацияларының әсері.

а- шлак түріндегі фосфор қалдықтарының әсері, б- шлам түріндегі фосфор қалдығының әсері.

Ескерту: Б-бақылау, құрамында фосфоры бар шлак (а) және шлам (б) 1,0%, 5,0%, 10,0% көлемді мөлшерлі концентрациясы

Қорытынды

Сонымен, зерттеу нәтижелерін қорытындылай, құрамында фосфоры бар қалдықтардың тест өсімдіктер *Phaseolus vulgaris*, *Hordeum vulgare* үшін фитоуыттылығын анықтауда қалдықтардың 1,0±0,1-10,0±0,9 % концентрациясы дейінге тексерілді. Шлактың 1,0 ±0,1% концентрациясы жоғары сатыдағы мәдени өсімдіктер үшін «өсу стимуляторы» ретінде

әсер беретін концентрация болып нақтыланды. Қалдықтардың 5,0±0,5 % көлемді концентрациясы әлсіз уытты уытты концентрация, өткір уыттылық белгілерінен кейін бейімдеушілік реакциялары қалыптасып, тіршіліктік қабілеттері пайда болатыны, ал шламның 10,0±0,9% жоғары концентрация гидробионтты ағзалар мен жоғары сатыдағы мәдени өсімдіктер ағзасы созылмалы уыттылық дәрежесін тудыратын концентрация болып анықталды.

Әдебиеттер

- 1 Seregina Yu., Semenova I., Suyundukov Y., Khasanova R., Kuzhina G., Rafikova Yu. 2019 Assessment of Soil Phytotoxicity under the Conditions of Technogenic Impact of Enterprises of the Mining and Metallurgical Complex of the Republic of Bashkortostan. *Ecology and Industry of Russia.*; 23 (7): PP 67-71. (In Russ.) <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2019-7-67-71>
- 2 Anne Priac, Pierre-Marie Badot, Crini grégorio. Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: Focus on germination and root elongation test parameters. *Comptes Rendus Biologies* 340 (3). (2017), PP 188-194. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crvi.2017.01.002>
- 3 Isak Rajjak Shaikh, Parveen Rajjak Shaikh, Rafique Ahmed Shaikh, Alamgir Abdulla Shaikh. Phytotoxic effects of Heavy metals (Cr, Cd, Mn and Zn) on Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seed Germination and Seedlings growth in Black Cotton Soil of Nanded, India. *Research Journal of Chemical Sciences* Vol. 3(6), 14-23, June (2013) Res. J. Chem. Sci. International Science Congress Association 14. PP 14-23.
- 4 Fred Magdoff, W. E. Jokela, W. E. Jokela, R. P. Durieux's. Comparison of Phosphorus Soil Test Extractants for Plant Availability and Environmental Assessment. // *Soil Science Society of America Journal* 63(4), 1999. PP 999-1006. DOI:10.2136/sssaj1999.634999x
- 5 Tokach Yu.E., Elena Nikolaevna G. Creating Bioresistant Technogenic Waste Basted Coatings for Construction Materials. // International Conference on Industrial Engineering, ICIE 2016. *Procedia Engineering* 150 (2016). PP 1547 – 1552.
- 6 Carmen Alice Teacă and Ruxanda Bodirlău. Assessment of toxicity of industrial wastes using crop plant assays. // *Toxicity assay assessment, BioResources* 3 (4) (2008). PP 1130-1145.
- 7 Lugovaya Y.R., Orlova K.N., Litovkin S.V., Malchik A.G., Gaydamak M .A. Biotesting as a Method of Evaluating Waste Hazard in Metallic Mineral Mining. // *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 127 (2016). PP 1-8. doi:10.1088/1757-899X/127/1/012026
- 8 Tamara V. Bardina & Marina V. Chugunova & Valery V. Kulibaba, Yulia M. Polyak, Victoria I. Bardina, Lyudmila P. Kapelkina. Applying Bioassay Methods for Ecological Assessment of the Soils from the Brownfield Site. // *Water Air Soil Pollut* (2017) PP 228:351, DOI 10.1007/s11270-017-3521-3
- 9 Kamliuk S., Boris O., Gomolko T.. The use of test systems in invertebrates for biotesting of industrial waste – developer solutions. *Cakharovskiye chteniya 2019 goda: ekologicheskkiye problemy XXI veka : materialy 19-y mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii. 23–24 maya 2019 g. Minsk. Respublika Belarus : v 3 ch. / MGEI im. A. D. Sakharova BGU; redkol. : A. N. Batyan [i dr.] ; pod red. S. A. Maskevicha. S. S. Poznyaka. – Minsk : IVTs Minfina. 2019. – Ch. 2. – PP. 160-163.*
- 10 Zayadan B.K. et al. Pigment mutants of the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii*: morphological properties and photosynthetic performance. // *Eurasian Journal of Ecology. No 2 (59). 2019, PP 100-110.*
- 11 Бутырин М.В. Особенности фитоэкстракции тяжелых металлов и мышьяка различными видами растений и их использование в технологиях ремедиации загрязненных почв Предбайкалья. АВТОРЕФЕРАТ диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Тюмень, 2017. – С. 18.
- 12 Крючков В. Н., Курапов А. А. Оценка влияния отходов бурения на гидробионтов. // *Вестник АГТУ. Сер: Рыбное хозяйство. – 2012. №1. – С. -60-65.*
- 13 Бардина Т. В., Чугунова М. В., Бардина В. И. Изучение экотоксичности урбаноземов методами биотестирования // «Живые и биосферные системы». – 2013. – № 5; стр 1-10. URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-5/article-8>.
- 14 Тишин А.С. Фитотестирование почв, загрязненных нефтепродуктами. // *Международный научно-исследовательский журнал. № 12 (102). Часть 2, Декабрь 78 DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2020.102.12.048>.*
- 15 Бардина Т. В., Бардина В.И. Экологический контроль почвогрунтов карьеров на территории водосбора р. Невы методами фитотестирования. // *Ученые записки РГГМУ. – № 54. – С. 91-99. doi: 10.33933/2074-2762-2019-54-91-99.*
- 16 Ахмет А., Исаева А.У. Құрамында фосфоры бар өндірістік қалдыктардың тест-өсімдіктердің морфометрикалық көрсеткіштеріне әсері. // *Қазақстан Республикасы Тәуелсіздігінің 30 жылдығына арналған «Микробиология, биотехнология және биоалуантүрліліктің өзекті мәселелері» атты халықаралық ғылыми-практикалық конференция. – 2021 ж. 17 қыркүйек. – Нұр-Сұлтан. – 4-7 б.*
- 17 Ахмет А., Исаева А.У., Панкиевич Р., Нарымбаева З.К. Оценка влияния фосфорсодержащих отходов на гидробионтов. // *Материалы IV Межрегиональной научно-практической конференции (с международным участием) «От биопродуктов к биоэкономике» (23–24 сентября 2021 г.) / под ред. А.Н. Лукьянова. – Барнаул : Изд-во Алт. ун-та, 2021. – 318 с. – С.159-164.*
- 18 Исаева А.У., Отарбекова А. А., Омрзак А.К., Дауренбекова К.П. Экологические проблемы складирования фосфорсодержащих отходов. 2018г. // *Spirit time – №11. – С. 4-6.*
- 19 Габов Ю.А., Кист В.Э. Отходы Казахстана и проблемы утилизации. 3-часть. – Алматы: New book, 2018. – 164 с.
- 20 Искандиров М. Завод минеральных удобрений «Казфосфат» увеличил объемы экспорта. Международное информационное агентство «КазИнформ» 6 Октября 2020. https://www.qazaqparat.kz/ru/zavod-mineral-nyh-udobreniy-kazfosfat-uvlichil-ob-emy-eksporta_a3702888.
- 21 <http://umts.kazakhmys.kz/>
- 22 <https://kazakhaltyn.kz/>
- 23 <https://www.kazminerals.com/kz/>
- 24 Официальный сайт Бюро национальной статистики Агентства по стратегическому планированию и реформам Республики Казахстан. <http://www.stat.gov.kz>

25 Официальный сайт Министерство индустрии и инфраструктурного развития Республики Казахстан <https://www.gov.kz/memleket/entities/miid/about>

26 Исаева А.У., Панкиевич Р., Отарбекова А.А. Микрофлора фосфорсодержащих отходов Южного Казахстана. // Al-Farabi Kazakh National University. Серия БИОЛОГИЧЕСКАЯ. – №3 (84) сентябрь.2020. – С. 39-48.

27 Akmaral U. Issayeva, Radosław Pankiewicz, Ainagul A. Otarbekova. Bioleaching of metals from wastes of phosphoric fertilizers production. // Polish Journal of Environmental Studies. Vol. 29, No. 6 2020, PP 1-9. DOI: 10.15244/pjoes/118319

References

1 Akhmet A., Issayeva A. U. (2021). Vliyaniye fosforsoderzhashchikh proizvodstvennykh otkhodov na morfometricheskiye pokazateli test – rasteniy. [Influence of phosphorus-containing industrial waste on morphometric indicators of test plants]. // Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Aktualnyye problemy mikrobiologii, biotekhnologii i bioraznoobraziya» posvyashchennoy 30-letiyu Nezavisimosti Respubliki Kazakhstan. Nur-Sultan. PP 4-7.

2 Akhmet A., Issayeva A.U., Pankiewicz R., Narymbayeva Z.K. (2021). Otsenka vliyaniya fosforsoderzhashchikh otkhodov na gidrobiontov. [Assessment of the effect of phosphorus-containing waste on hydrobionts]. // Materialy IV Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii (s mezhdunarodnym uchastiyem) «Ot bioproduktov k bioekonomike» (23–24 sentyabrya 2021 g.) / pod red. A.N. Lukianova. — Barnaul : Izd-vo Alt. un-ta. – 318 PP 159-164.

3 Akmaral U. Issayeva, Radosław Pankiewicz, Ainagul A. Otarbekova.(2020). Bioleaching of metals from wastes of phosphoric fertilizers production. // Polish Journal of Environmental Studies. Vol. 29, No. 6. PP 1-9. DOI: 10.15244/pjoes/118319

4 Anne Priac, Pierre-Marie Badot, Crini grégorio. (2017). Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: Focus on germination and root elongation test parameters. Comptes Rendus Biologies. 340 (3). PP 188-194. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crv.2017.01.0025>

5 Butyrin Mikhail Viktorovich. (2017). Osobennosti fitoekstratsii tyazhelykh metallov i myshiaka razlichnymi vidami rasteniy i ikh ispolzovaniye v tekhnologiyakh remediatsii zagryaznennykh pochv Predbaykalia. [Features of phytoextraction of heavy metals and arsenic by various plant species and their use in remediation technologies of contaminated soils of the Baikal region]. Avtoreferat dissertatsii na soiskaniye uchenoy stepeni kandidata biologicheskikh nauk. Tyumen – 2017.

6 Bardina T. V., Chugunova M. V., Bardina V. I. (2013). Izucheniye ekotoksichnosti urbanozemov metodami biotestirovaniya. [Studying the toxicity of urbanozems by biotesting methods]. J. Zhivyye i biokosnyye sistemy. Vol. № 5. PP-1-10. URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-5/article-8>.

7 Bardina T.V., Bardina V.I. (2019). Ekologicheskii kontrol pochvogrunтов karyerov na territorii vodosbora r. Nevy metodami fitotestirovaniya. [Ecological control of quarry soils in the Neva River catchment area by phytotesting methods]. //Uchenyye zapiski RGGMU. № 54. doi: 10.33933/2074-2762-2019-54. PP 91-99.

8 Gabov Yu.A., Kist V.E. (2018). Otkhody Kazakhstana i problemy utilizatsii. [Kazakhstan’s waste and recycling problems]. 3-chast. Almaty: New book.PP-164.

9 Zayadan B.K. et al.(2019). Pigment mutants of the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii*: morphological properties and photosynthetic performance. Eurasian Journal of Ecology. No 2 (59). PP 100-110.

10 Isak Rajjak Shaikh, Parveen Rajjak Shaikh, Rafique Ahmed Shaikh, Alamgir Abdulla Shaikh.(2013). Phytotoxic effects of Heavy metals (Cr, Cd, Mn and Zn) on Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seed Germination and Seedlings growth in Black Cotton Soil of Nanded, India. Research Journal of Chemical Sciences Vol. 3(6), 14-23, June .Res. J. Chem. Sci. International Science Congress Association 14. PP 14-23.

11 Issayeva A.U., Otarbekova A. A., Omirzak A.K., Daurenbekova K.P. (2018). Ekologicheskyye problemy skladirovaniya fosforsoderzhashchikh otkhodov. [Environmental problems of storage of phosphorus-containing waste]. // Spirit time №11. PP 4-6.

12 Issayeva A.U., Pankiewicz R., Otarbekova A. A. (2020). Mikroflora fosforsoderzhashchikh otkhodov Yuzhnogo Kazakhstana. [Microflora of phosphorus-containing wastes of Southern Kazakhstan]. // Al-Farabi Kazakh National University. Seriya Biologicheskaya. № 3 (84) sentyabr. PP 39-48.

13 Iskandirov M. (2020). Zavod mineralnykh udobreniy «Kazfosfat» uvelichil obyemy eksporta. [The plant of mineral fertilizers “Kazphosphate” increased the volume of exports]. Mezhdunarodnoye informatsionnoye agentstvo «KazInform» 6 Oktyabrya.

14 Kryuchkov V. N., Kurapov A. A. (2012). Otsenka vliyaniya otkhodov bureniya na gidrobiontov [Assessment of the impact of drilling waste on hydrobionts]. Vestnik AGTU. Ser: Rybnoye khozyaystvo. №1. PP 60-65.

15 Kamliuk S., Boris O., Gomolko T. (2019). The use of test systems in invertebrates for biotesting of industrial waste – developer solutions. Cakharovskiye chteniya 2019 goda: ekologicheskyye problemy XXI veka : materialy 19-y mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii. 23–24 maya. Minsk. Respublika Belarus : v 3 ch. / MGEI im. A. D. Sakharova BGU; redkol. : A. N. Batyan [i dr.] ; pod red. S. A. Maskevicha. S. S. Poznyaka. – Minsk : IVTs Minfina. – Ch. 2. – PP. 160-163.

16 Lugovaya Y.R., Orlova K.N., Litovkin S.V., Malchik A.G., Gaydamak M .A. (2016). Biotesting as a Method of Evaluating Waste Hazard in Metallic Mineral Mining. // IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 127. PP 1-8. doi:10.1088/1757-899X/127/1/012026

17 Seregina Yu., Semenova I., Suyundukov Y., Khasanova R., Kuzhina G., Rafikova Yu. (2019) [Assessment of Soil Phytotoxicity under the Conditions of Technogenic Impact of Enterprises of the Mining and Metallurgical Complex of the Republic of Bashkortostan]. *Ecology and Industry of Russia*. 23 (7): PP 67-71. (In Russ.) <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2019-7-67-71>

18 Tishin A.S. (2020). Fitotestirovaniye pochv, zagryaznennykh nefteproduktami. [Biotesting of soils contaminated with petroleum products]. // Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal. № 12 (102). DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2020.102.12.048>

19 Tamara V. Bardina, Marina V. Chugunova, Valery V. Kulibaba, Yulia M. Polyak, Victoria I. Bardina, Lyudmila P. Kapelkina. (2017). Applying Bioassay Methods for Ecological Assessment of the Soils from the Brownfield Site. *J. Water Air Soil Pollut.* PP 228-351. DOI 10.1007/s11270-017-3521-3

20 Tokach Yu.E., Nikolaevna Elena G. (2016). Creating Bioresistant Technogenic Waste Basted Coatings for Construction Materials. // International Conference on Industrial Engineering, ICIE 2016. *Procedia Engineering* 150. PP 1547 – 1552.

21 Fred Magdoff, W. E. Jokela, W. E. Jokela, R. P. Durieux's. (1999). Comparison of Phosphorus Soil Test Extractants for Plant Availability and Environmental Assessment. // *Soil Science Society of America Journal* 63(4). PP 999-1006. DOI:10.2136/sssaj1999.634999x

https://www.qazaqparat.kz/ru/zavod-mineral-nyh-udobreniy-kazfosfat-uvlichil-ob-emy-eksporta_a3702888.

22 <http://umts.kazakhmys.kz/>

23 <https://kazakhaltyn.kz/>

24 <https://www.kazminerals.com/kz/>

25 <http://www.stat.gov.kz>

26 <https://www.gov.kz/memleket/entities/miid/about>

27 Carmen Alice Teacă and Ruxanda Bodirlău.(2008). Assessment of toxicity of industrial wastes using crop plant assays. // *Toxicity assay assessment, BioResources* 3 (4). PP 1130-1145.

S.A. Abiev¹ , A.N. Sarsenova^{1*} , T.E. Darbayeva² 

¹L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazakhstan, Nur-Sultan

²Makhambet Utemisov West Kazakhstan University, Kazakhstan, Uralsk

*e-mail: assemgulsarsenova@gmail.com

THE MYCOBIOTA OAK FORESTS OF THE URAL RIVER VALLEY WITHIN THE WEST KAZAKHSTAN REGION

The study and conservation of biodiversity is one of the global problems of modern biology, since currently in many regions of the planet there is a decrease in the species composition of various organisms, including fungi. The obtained data make a significant contribution to the knowledge of the diversity of macromycetes of oak forests in the middle reaches of the Ural River, information about which is still insufficient and fragmented on the territory of Kazakhstan.

The article presents data on the biodiversity of mycobiota of the oak forests of the Ural River valley, growing not only in the floodplain of the river, but also in beams, that is, the ravine forests flowing into the central floodplain. We have registered 31 species belonging to 23 genera, 17 families and five orders. The leading families are Polyporaceae, Boletaceae, Russulaceae, Amanitaceae. As a result of our research, it has been found that the mycological composition in ravine oak forests is richer than in floodplain oak forests. The richness of the species composition of macromycetes appears to have been influenced by well-defined associations in ravine oak forests (22 associations), represented by forest boreal tree-shrub species absent in floodplain oak forests, as well as favorable microclimatic conditions, relief, soil cover and various ecotopes that are not observed in floodplain oak forests (16 associations).

Ecological-trophic analysis showed the predominance of mycorrhizal (45.1%) and xylophages (41.9%) over humus saprotrophs (12.9%). The considered taxonomic composition of macromycetes of the studied area is collected, identified and presented for the first time for this region.

Key words: mycobiota, macromycetes, oak forest, Ural river, biodiversity.

С.А. Абиев¹, А.Н. Сарсенова^{1*}, Т.Е. Дарбаева²

¹А.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.

²М. Өтемісов атындағы Батыс Қазақстан университеті, Қазақстан, Орал қ.

* e-mail: assemgulsarsenova@gmail.com

Батыс Қазақстан облысы шегіндегі Жайық өзені аңғары еменді ормандарының микобиотасы

Биоалуантүрлілікті зерттеу және сақтау заманауи биологияның жаһандық мәселелерінің бірі болып табылады, өйткені қазіргі уақытта ғаламшардың көптеген аймақтарында өртүрлі ағзалардың, соның ішінде саңырауқұлақтардың түрлер құрамының азаюы байқалады. Алынған нәтижелер Қазақстан аумағында әлі күнге дейін мәліметтер жеткіліксіз және фрагменттік болып табылатын Жайық өзені аңғары еменді ормандары макромицеттерінің алуантүрлілігін тануға елеулі үлес қосады.

Мақалада Жайық өзені аңғарында өсетін жайылма, сондай-ақ сай – жыраларда таралған байрақты ормандарда кездесетін еменді ормандар микобиотасының биоалуантүрлілігі туралы деректер берілген. Зерттеу нәтижелері негізінде бүгінгі таңда биотада 5 қатар, 17 тұқымдас және 23 туысқа біріккен 31 түр анықталды. Жетекші тұқымдастарды Polyporaceae, Boletaceae, Russulaceae, Amanitaceae құрайды. Біздің зерттеу жұмысымыздың нәтижесінде байрақты еменді ормандардағы микологиялық құрам жайылма еменді ормандардағы макромицеттер өртүрлілігіне қарағанда едәуір бай екендігі анықталды. Мұндай түрлік құрамның молдығына жайылма еменді ормандарда (16 ассоциация) байқалмайтын байрақты ормандардағы (22 ассоциация) орманды бореальді ағаш тектес-бұталы түрлері бар ассоциациялардың басымдық танытуы, қолайлы микроклиматтық жағдай, жер бедері, топырақ жамылғысы және түрлі экотоптардың әсерінен болуы мүмкін.

Экологиялық-трофикалық талдау Жайық өзенінің ортаңғы ағысындағы еменді ормандарда микоризатүзушілердің (45,1%), ксилотрофтар (41,9%) және қарашіріктік сапротрофтардан

(12,9%) басым екенін көрсетті. Макромицеттердің ең бай әртүрлілігі байрақты еменді ормандарда байқалды.

Түйін сөздер: микобиота, макромицеттер, еменді орман, Жайық өзені, биолоантүрлілік.

С.А. Абиев¹, А.Н. Сарсенова^{1*}, Т.Е. Дарбаева²

¹Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Казахстан, г. Нур-Султан

²Западно-Казахстанский университет им. М.Утемисова, Казахстан, г. Уральск

*e-mail: assemgulsarsenova@gmail.com

Микобиота дубрав долины р. Урал в пределах Западно-Казахстанской области

Изучение и сохранение биоразнообразия является одной из глобальных проблем современной биологии, поскольку в настоящее время во многих регионах планеты происходит уменьшение видового состава различных организмов, в том числе и грибов. Полученные сведения вносят значительный вклад в познание разнообразия макромицетов дубрав среднего течения реки Урал, сведения о которых на территории Казахстана до сих пор недостаточны и фрагментарны.

В статье представлены данные о биоразнообразии микобиоты дубрав долины р.Урал, произрастающих не только в пойме реки, но и в балках, то есть байрачных лесах впадающих в центральную пойму. Нами зарегистрирован 31 вид относящихся к 23 родам, 17 семействам и пяти порядкам. Ведущими семействами являются Polyporaceae, Boletaceae, Russulaceae, Amanitaceae. В результате наших исследований установлено, что в байрачных дубравах микологический состав более богатый, чем в пойменных дубравах. Повидимому на богатство видового состава макромицетов повлияли хорошо выраженные ассоциации в байрачных дубравах (22 ассоциаций), представленные лесными бореальными древесно-кустарниковыми видами отсутствующих в пойменных дубравах, также благоприятные микроклиматические условия, рельеф, почвенный покров и различные экотопы, которые не наблюдаются в пойменных дубравах (16 ассоциаций). Эколого-трофический анализ показал преобладание микоризообразователей (45,1%) и ксилотрофов (41,9%) над гумусовыми сапротрофами (12,9%). Рассмотренный таксономический состав макромицетов исследуемого района собран, идентифицирован и представлен впервые для этого региона.

Ключевые слова: микобиота, макромицеты, дубрава, река Урал, биоразнообразие.

Introduction

Fungi are extremely heterogeneous organisms characterized by high levels of species diversity and are widespread in all environments [1]. Fungi are of great importance in forest ecosystems worldwide. As decomposers, they are the most important organisms for the degradation of organic matter, and play a key role in nutrient cycling [2]. Mycorrhizal fungi form symbiotic associations with higher plants, facilitating plant uptake of water and nutrients such as phosphorus and nitrogen, in exchange for photosynthetically fixed carbon [2, 3].

The magnitude of global fungal diversity is largely unknown and it is estimated that only around 2–6 % of the existing fungal richness has been formally described [4]. Since many years, Hawksworth's proposal of 1.5 million fungal species [5] is one of the most frequently cited estimates of global fungal richness. However, updated estimates assume a much higher number of fungal species, ranging from 3.5 up to 5.1 million species based on high-throughput sequencing methods [6]. In a most

recent publication, a variety of estimation techniques suggest a range for the number of fungal species worldwide between 2.2 and 3.8 million [7, 8].

Currently, there is interest in macromycete distribution patterns in relation to forest tree species composition [9, 10]. The relationship between tree and fungal communities is reflected in host trees affecting fungal specialization and providing unique habitat availability and different resource quality [11, 12, 13].

In forest ecosystems, biological diversity is caused by the vital activity of many organisms, including macromycetes [14, 15, 16]. They are widespread in nature and are a permanent component of biogeocenoses [17, 18]. As heterotrophic organisms, they take an active part in the biological cycle of substances and energy [19, 20]

Currently, the main commonly accepted characteristics of biodiversity are species composition, taxonomic structure and spatial organization.

The valley of the Ural River is the intrazonal center of biodiversity of Western Kazakhstan. Therefore, the study of the mycobiota of oak forests

of the Ural River valley within the West Kazakhstan region is considered relevant.

As noted earlier by S.A. Nikitin (1954, 1956), V.V. Ivanov (1960), A.Z. Petrenko (1971), depending on the habitat conditions, the forest vegetation of the West Kazakhstan region is represented by the following groups: floodplain forests, splits of sandy massifs and estuary type depressions, ravine forests. A characteristic feature of forest-growing conditions of these forests is their confinement to habitats that receive additional moisture by river, rain and meltwater, or to places with close groundwater [21].

Floodplain forests are confined to river valleys. These forests receive additional moisture due to spring flood waters and are distributed mainly in the floodplain of the Ural River and its tributaries. Depending on the ability of trees to withstand prolonged flooding, formations are formed: willow forests, aspen forests, white poplar forests, elm forests, aspen forests, birch forests, oak forests.

By ravine forests S.A. Nikitin and V.V. Ivanov mean special types of deciduous forests with steppe shrubs on the edges. They are connected with ravines and beams, inter-szyrt depressions in the pre-szyrt and szyrt parts of the region [21].

Poplar (*Populus alba*, *P. nigra*), elm (*Ulmus laevis*), willow (*Salix alba*, *S. triandra*) and oak (*Quercus robur*) forests are developed in the valley of the Ural River, forming floodplain and ravine oak forests.

The only natural habitat of oak forests in the Republic of Kazakhstan is the floodplain of the Ural River, as well as ravines and beams within the West Kazakhstan region [22].

Pedunculate oak (*Quercus robur* L.) is a rare species listed in the Red Book of the Republic of Kazakhstan, and is subject to protection. The southern and eastern borders of the pedunculate oak distribution range pass through this territory and the territory we are exploring is the only location of this species in the valley of the middle reaches of the Ural River. Along the valley of the Ural River passes the southern border of the distribution of common oak. To the south of the border N 51°02'11.8 E 051°05'22.6 oak is not found [22].

In order to ensure the conservation and restoration of oak forests, it is necessary to find out the features of the functioning of these ecosystems and their individual components. One of the most significant components of any forest ecosystem, including oak forests, is macromycete fungi, which are part of the decomposer system [9]. They ensure the return of matter and energy to ecosystems, as they decompose organic residues (primarily wood),

converting them to more easily digestible forms available for consumption by other organisms [9]. In this regard, we conducted research on the biota of macromycetes of floodplain and ravine oak forests of the middle course of the Ural River within the West Kazakhstan region.

The aim of this study is to identify of species diversity and analyze the mycobiota of oak forests of the Ural River valley within the West Kazakhstan region.

Material and Methods

The object of the study is the macromycetes of oak forests of the middle reaches of the Ural River within the West Kazakhstan region.

The area of our research is located within N 51 ° 28.879 E 053 ° 07.049 and N51 ° 19.097 'E51 ° 52 .810' starting from the village of Priuralnyi to the village of Kabyltobe (Burli and Terekti districts) and within N51°27.506 'E52°27.376' and N51°21.698 'E51°50.326' from the village of Kirsanovo to the village of Ozernoe (Baiterek district) (Figure 1).

The material for this work was the author's own mycological collections and observations in nature, carried out during the field seasons from 2019 to October 2021 in the studied region. The collection of material was carried out by the route method in the vicinity of various geographical points. The habitat was noted for the samples, geographical coordinates were taken, photographs and descriptions of macromorphological features disappearing during herbarization were taken. Fruiting bodies were photographed in natural habitats and data on the substrate, neighbouring plants and collection dates were noted. Morphological features of collected fruiting bodies, such as shape, size, colour, odor, hymenophore and velum types, etc., were analysed. For samples, the habitat was noted, geographical coordinates were taken, photographs were taken and descriptions of macromorphological features disappearing during herbarization. All collected fruiting bodies were photographed using the camera Canon EOS 4000D and iPhone 12 camera.

The collection, drying and storage of fruit bodies of fungi, the identification of their distribution features, the description of biotopes and substrates, plant communities in the growing environment were carried out on the basis of methods used in conventional methods in mycology and botany. The macromycetes were identified based on macro and micromorphological features according to the descriptions available on books and journal articles.

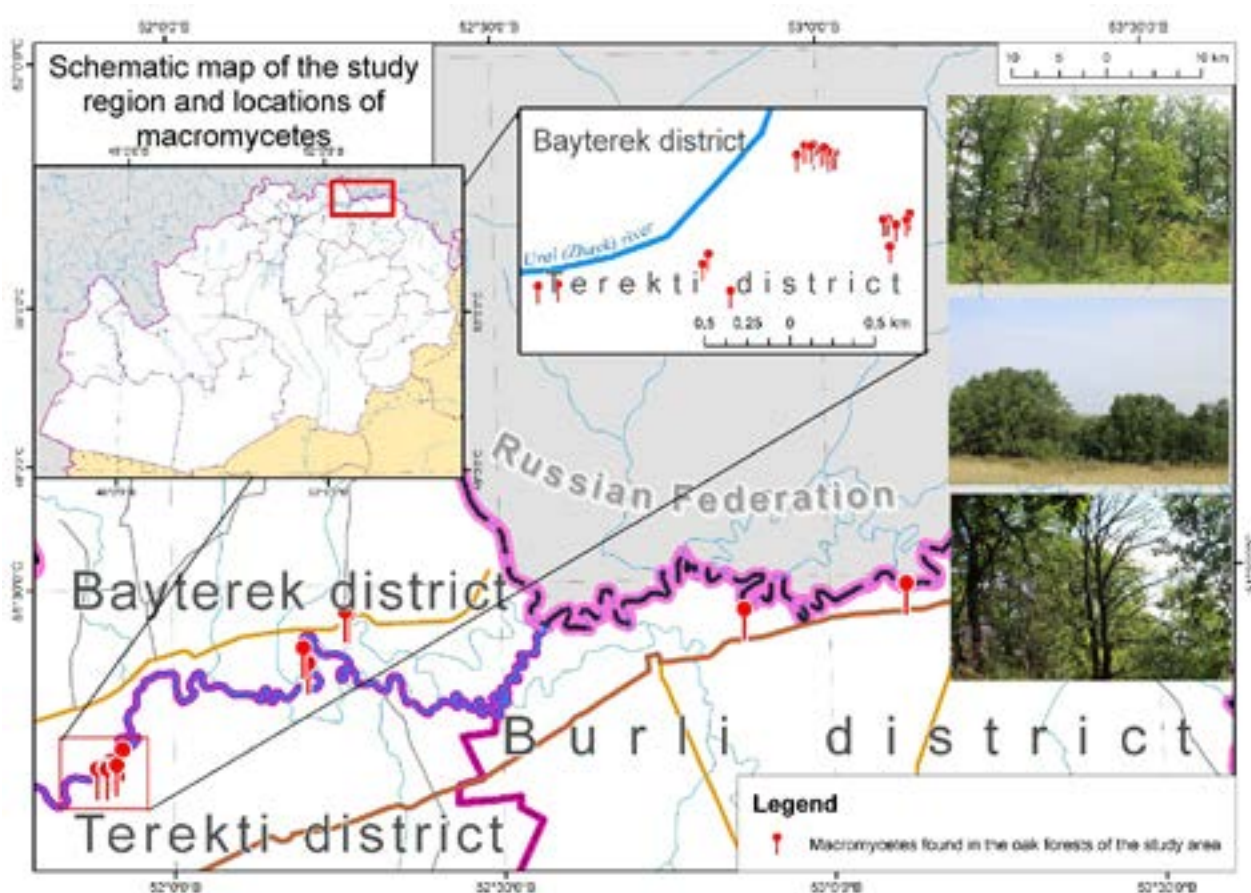


Figure 1 – Schematic map of the study region and locations of macromycetes

Macromorphological features were studied on the basis of fresh and dried material, as well as through analysis of photographs and descriptions taken in the field. Micromorphological structures have been studied on herbarium material. Identification, detailed examination of the material and photography were carried out using an Olympus DP72 microscope and an EVOS® FL/FL fluorescent microscope.

At each site, geographical coordinates and elevation were recorded using a geographic positioning device (GPS, Garmin eTrex 30X).

Each sample was identified on the basis of macro- and micromorphological features. Names of fungi and author's abbreviations follow the Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>) [23] and Dictionary of the Fungi (Kirk et al.2008) [24]. Abbreviations of author's plant names comply with the standards established by the International Plant Names Index (IPNI 2008) [25].

Research results and discussion

According to our materials, 509 plant species were noted in the floodplain and ravine forests. In the flora of oak forests, 81 (15.9^o) woody and semi-woody species were identified in the flora of oak forests.. The main part of the flora is made up of perennial herbaceous plants of 428 species (84^o). There are 335 perennial herbaceous polycarpics (78.3^o), and there are fewer annual herbaceous monocarpics, they make up 93 species (21.7^o). Oak (*Quercus robur*) dominates in the tree cover of floodplain forests, besides it poplars (*Populus alba*, *P.nigra*), smooth elm (*Ulmus laevis*) live here.

Aspen (*Populus tremula*), birch (*Betula pendula*, *B. pubescens*), gray poplar (*Populus canescens*) are present in ravine forests. A rich shrub cover from forest boreal species is developed: hazel (*Coryllus avellana*), euonymus (*Euonymus verrucosus*), viburnum (*Viburnum opulus*), buckthorn (*Frangula alnus*), bird cherry (*Padus*

avium), currant (*Ribes nigrum*). In floodplain in the shrub layer, the composition is more depleted and consists of tatar honeysuckle (*Lonicera tatarica*), cherry (*Cerasus fruticosa*), brittle buckthorn (*Frangula alnus*), blackthorn (*Prunus spinosa*), wild rose (*Rosa majalis*). On the edges, dense shrubs of meadowsweet (*Spiraea hypericifolia*), caragana (*Caragana frutex*), broom (*Chamaecytisus borystenicus*) and bean (*Amygdalus nana*) are well developed.

As a result of our research, to date, 31 species of macromycetes belonging to 23 genera, 17 families and five orders have been identified in the mycobiota to date (Table 1).

Table 1 – Species diversity of macromycetes in oak forests of the Ural River valley within the West Kazakhstan region

Class, order, family (n of genus / n of species)	Genus (n of species)
Class: AGARICOMYCETES (31)	
Order: AGARICALES (8/12)	
Family: Agaricaceae (1/1)	<i>Agaricus (1)</i>
Amanitaceae (1/3)	<i>Amanita (3)</i>
Cortinariaceae (1/1)	<i>Cortinarius (1)</i>
Fistulinaceae (1/1)	<i>Fistulina (1)</i>
Hymenogastraceae (1/1)	<i>Hebeloma (1)</i>
Lycoperdaceae (1/2)	<i>Lycoperdon (2)</i>
Physalacriaceae (1/1)	<i>Hymenopellis (1)</i>
Psathyrellaceae (1/1)	<i>Coprinellus (1)</i>
Strophariaceae (1/1)	<i>Kuehneromyces (1)</i>
Order: BOLETALES (2/6)	
Boletaceae (3/5)	<i>Boletus (2), Suillellus (1), Xerocomellus (2)</i>
Sclerodermataceae (1/1)	<i>Scleroderma (1)</i>
Order: GLOEOPHYLLALES (1/1)	
Gloeophyllaceae (1/1)	<i>Neolentinus (1)</i>
Order: POLYPORALES (3/7)	
Fomitopsidaceae (1/1)	<i>Daedalea (1)</i>
Laetiporaceae (1/1)	<i>Laetiporus (1)</i>
Polyporaceae (4/5)	<i>Fomes (1), Lenzites (1), Lentinus (1), Trametes (2)</i>
Order: RUSSULALES (2/5)	
Russulaceae (2/4)	<i>Lactarius (3), Russula (1)</i>
Stereaceae (1/1)	<i>Stereum (1)</i>

Note: The taxonomic composition of the biota of macromycetes, presented for the first time for this area.

The leading families are *Polyporaceae*, *Boletaceae*, *Russulaceae*, *Amanitaceae*. In the families *Polyporaceae* – 5, *Boletaceae* – 5, *Russulaceae* – 4, *Amanitaceae* – 3, *Lycoperdaceae* – 2 species, the remaining families are represented by one species

Floodplain oak forests occupy the terraced and central floodplain of the Ural River within the study area. The stand is dominated by oak (*Quercus robur*), besides it there are (*Populus alba*, *P.nigra*), smooth elm (*Ulmus laevis*). On the edge – maple (*Acer negundo*) and ash (*Fraxinus excelsior*). The shrub layer is well defined (*Lonicera tatarica*, *Rhamnus cathartica*, *Prunus spinosa*). Herbage rare ruderal. The floodplain oak forests occupying the terraced floodplain are characterized associations by oaks with forb-rose-hip (*Quercus robur*, *Rosa majalis*), broom (*Q.robur*, *Chamaecytisus borystenicus*), thorn (*Q.robur*, *Prunus spinosa*), blackberry (*Q.robur*, *Rubus caesius*), birthwort (*Q.robur*, *Aristolochia clematites*), bluegrass (*Q.robur*, *Poa angustifolia*); and for oak forests of the central floodplain associations oaks with lily-of-the-valley (*Q.robur*, *Convallaria majalis*), thorn-lily-of-the-valley (*Q.robur*, *Prunus spinosa*, *Convallaria majalis*), buckthorn-lily-of-the-valley (*Q.robur*, *Rhamnus cathartica*, *Convallaria majalis*), blackberry (*Q.robur*, *Rubus caesius*), sedge (*Q.robur*, *Carex acuta*, *C.supina*, *C. vulpina*), burdock (*Q.robur*, *Agrimonia pilosa*), horsetail-blackberry (*Q.robur*, *Equisetum arvense*, *Rubus caesius*), horsetail (*Q.robur*, *Equisetum arvense*), birthwort (*Q.robur*, *Aristolochia clematites*), mesophytic-sedge (*Q.robur*, *Carex supina*), bentgrass (*Q.robur*, *Agrostis albida*), sedge-lily of the valley (*Q.robur*, *Carex acuta*, *C. vulpina*, *Convallaria majalis*).

In the central floodplain in the oak-sedge association, *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Lactarius zonarius* (Bull.) Fr., *Lentinus arcularius* (Batsch) Zmitr., *Fomes fomentarius* (L.) Fr.; in oak -burdock *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With; *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill were registered in the oak forest of the horsetail-blackberry association; horsetail oak forest also contains *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Lycoperdon perlatum* Pers., *Lycoperdon excipuliforme* (Scop.) Pers.. Species *Neolentinus cyathiformis* (Schaeff.) Della Magg. & Trassin., *Xerocomellus pruinatus* (Fr. & Hök) Šutara, *Hebeloma crustuliniforme* (Bull.) Quél.), *Boletus*

edulis Bull. identified in the oak-lily of the valley association.

In the associations characteristic of the terraced floodplain noted: in the oak blackberry, *Russula foetens* Pers, *Lactarius resimus* (Fr.) Fr., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With, *Hebeloma crustuliniforme* (Bull.) Quél.; in the oak birthwort *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With, *Suillellus luridus* (Schaeff.) Murril; in oak bentgrass *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Lactarius deliciosus* (L.) Gray.

In the floodplain oak forests, macromycetes are most noted in the central floodplain, in which 11 species have been identified, and the near-terrace floodplain is represented by a meager species composition, where 7 species of macromycetes have been identified. This may be due to the fact that the central floodplain is flooded with spring thawed flood waters. And the poverty of the species composition of macromycetes of the near-terrace floodplain is explained by the fact that upland vegetation smoothly passes into the near-terrace floodplain and xerophilic oak forests developed here.

In turn, ravine oak forests are formed in the beams along different elements of the beams (the bottom, the lower part of the slope, the middle part of the slope, the edge of the beam). The depth of the ravine forests ranges from 20 to 25 m. Broad-leaved oak forests with a rich boreal and nemoral species diversity are formed in the ravine forests. Although the length of such oak forests is between 1500 and 2000 m.

A permanent stream flows along the bottom from the upper reaches of the beams to the mouth, a permanent stream flows along the bottom, near which oak forests are formed in combination with gray poplar and euonymus (*Q.robur*, *Populus canescens*, *Euonymus verrucosus*), oak euonymus-horsetail (*Q.robur*, *Euonymus verrucosus*, *Equisetum arvense*), oak lily-of-the-valley (*Q.robur*, *Convallaria majalis*), oak bentgrass (*Q.robur*, *Agrostis albida*), oak elecampane-sedge (*Q.robur*, *Inula helenium*, *Carex vulpina*), oak butterbur (*Q.robur*, *Petasites spurius*), oak herb-reed (*Q.robur*, *Galium boreale*, *Sonchus palustris*, *Equisetum arvense*, *Phragmites australis*), oak fern-brack (*Q.robur*, *Pteridium aquilinum*).

Here, in the oak forest of the euonymus-horsetail association, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill was noted, in the lily-of-the-valley oak forest *Daedalea quercina* (L.) Pers., in the oak bentgrass *Lenzites betulinus* (L.) Fr., (Schaeff.) Singer & A.H. Sm., oak butterbur *Trametes versicolor* (L.) Lloyd,

Laetiporus sulphureus (Bull.) Murrill, *Suillellus luridus* (Schaeff.) Murril and in oak bracken-fern *Suillellus luridus* (Schaeff.) Murril.

The following associations are characteristic along the bottom of the beams: oak with lily-of-the-valley (*Q.robur*, *Convallaria majalis*), euonymus-horsetail (*Q.robur*, *Euonymus verrucosus*, *Equisetum arvense*), aspen-oak-lily-of-the-valley (*Populus tremula*, *Q.robur*, *Convallaria majalis*), lily-of-the-valley-cherry (*Q.robur*, *Convallaria majalis*, *Cerasus fruticosa*), fern (*Q.robur*, *Dryopteris filix-mas*), broom (*Q.robur*, *Chamaecytisus borystenicus*), bluegrass (*Q.robur*, *Poa angustifolia*), mesophytic-fern-bracken (*Q.robur*, *Origanum vulgare*, *Galium boreale*, *Viola canina*, *Pteridium aquilinum*) sedge-horsetail (*Q.robur*, *Carex vulpina*, *Equisetum arvense*), horsetail (*Q.robur*, *Equisetum arvense*), sedge oak forest (*Q.robur*, *Aristolochia clematites*), sedge (*Q.robur*, *Carex vulpina*, *C.supina*).

In the oak forest of the lily-of-the-valley association of gully oak forests, such species of macromycetes as *Suillellus luridus* (Schaeff.) Murril, *Agaricus* sp., *Amanita pantherina* (DC.) Krombh., *Amanita muscaria* (L.) Lam., *Daedalea quercina* (L.) Pers., *Boletus reticulatus* Schaeff.

In the oak euonymus-horsetail associations *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, in the aspen-oak-lily-of-the-valley association we found *Daedalea quercina* (L.) Pers.; .) Murril, in oak horsetail associations *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murril, in oak birthwort associations *Cortinarius* sp., *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With.

Suillellus luridus (Schaeff.) Murril, *Trametes versicolor* (L.) Lloyd were registered in the oak forest-forb-reed association; in the oak forest-sedge association *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, ex Watling) Šutara, in the ash-oak-lily-of-the-valley association *Trametes ochracea* (Pers.) Gilb. & Ryvardeen, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Scleroderma citrinum* Pers. and *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Stereum subtomentosum* Pouzar were found in the oak-ash-sedge association.

The lower and middle parts are occupied by oak forests: hazel-lily of the valley (*Q.robur*, *Coryllus avellana*, *Convallaria majalis*), broom-forb (*Q.robur*, *Fritillaria meleagroides*, *Cucubalus baccifer*, *Melica nutans*, *Chamaecytisus borystenicus*), cherry (*Q.robur*, *Cerasus fruticosa*), broom with sedge (*Q.robur*, *Chamaecytisus borystenicus*, *C.supina*).

In associations of oak forests occupying the lower and middle parts of the slope, namely, in the hazel-lily of the valley *Boletus edulis* Bull., *Lactarius resimus* (Fr.) Fr., in the cherry oak forest *Xerocomellus porosporus* (Imler ex Watling) Šutara, *Lactarius deliciosus* (L.) Gray, *Coprinellus micaceus* (Bull.) Vilgalys, in broom-sedge oak forest *Boletus reticulatus* Schaeff., *Amanita phalloides* (Vaill. ex Fr.) Link.

Along the edge of the ravines, oak – birthwort (*Q. robur*, *Aristolochia clematites*) associations were noted, where *Amanita phalloides* (Vaill. ex Fr.) Link, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With.

Thus, it can be seen that in ravine oak forests there is a richer species composition, where, according to our observations, 23 species of macromycetes and well-defined associations are noted, which are represented by forest boreal tree and shrub species absent in floodplain oak forests, and also favorable microclimatic conditions, unlike floodplain oak forests, which are more susceptible to natural, anthropogenic and technogenic impacts, due to the proximity of oil and gas condensate fields.

It should be noted that among the identified species *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With and *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill were encountered much more often both in ravine and floodplain oak forests, in comparison with other species. It should be taken into account that both of them are wood-destroying fungi that parasitize *Quercus robur* L. If *Fistulina hepatica* (Schaeff.) causes dark brown butt or butt-stem rot and settles mainly on living trees, weakening them and reducing their vital activity, then *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill causes a red-brown butt-stem rot of a destructive type, which also affects living oak trees, but can also develop on dead wood (cut and fallen trunks, stumps). This species is a pronounced oligophagous inhabiting oak forests in addition to oak trees and other species.

One of the most significant characteristics of mycobiota is its trophic structure, since the study of the trophic relationships of fungi comes to the fore in the knowledge of ecological relationships in natural ecosystems, where fungi play an important role (Table 2).

Table 2 – Ecological and trophic confinement of macromycetes in the study area

№	Species of macromycetes	Mr	Hu	Le
1.	<i>Agaricus</i> sp.		+	
2.	<i>Amanita muscaria</i> (L.) Lam.	+		
3.	<i>Amanita pantherina</i> (DC.) Krombh.	+		
4.	<i>Amanita phalloides</i> (Vaill. ex Fr.) Link	+		
5.	<i>Boletus edulis</i> Bull.	+		
6.	<i>Boletus reticulatus</i> Schaeff.	+		
7.	<i>Coprinellus micaceus</i> (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson,			+
8.	<i>Cortinarius</i> sp..	+		
9.	<i>Daedalea quercina</i> (L.) Pers.			+
10.	<i>Fistulina hepatica</i> (Schaeff.) With.			+
11.	<i>Fomes fomentarius</i> (L.) Fr.-			+
12.	<i>Hebeloma crustuliniforme</i> (Bull.) Quél.)	+		
13.	<i>Hymenopellis radicata</i> (Relhan) R.H. Petersen			+
14.	<i>Kuehneromyces mutabilis</i> (Schaeff.) Singer & A.H. Sm.			+
15.	<i>Lactarius deliciosus</i> (L.) Gray	+		
16.	<i>Lactarius resimus</i> (Fr.) Fr.	+		
17.	<i>Lactarius zonarius</i> (Bull.) Fr.	+		
18.	<i>Laetiporus sulphureus</i> (Bull.) Murrill			+
19.	<i>Lentinus arcularius</i> (Batsch) Zmitr.			+
20.	<i>Lenzites betulinus</i> (L.) Fr.			+

Continuation of the table

№	Species of macromycetes	Mr	Hu	Le
21.	<i>Lycoperdon excipuliforme</i> (Scop.) Pers.,		+	
22.	<i>Lycoperdon perlatum</i> Pers.		+	
23.	<i>Neolentinus cyathiformis</i> (Schaeff.) Della Magg. & Trassin.			+
24.	<i>Russula foetens</i> Pers.	+		
25.	<i>Scleroderma citrinum</i> Pers.		+	
26.	<i>Stereum subtomentosum</i> Pouzar			+
27.	<i>Suillellus luridus</i> (Schaeff.) Murril	+		
28.	<i>Trametes ochracea</i> (Pers.) Gilb. & Ryvarden			+
29.	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd			+
30.	<i>Xerocomellus porosporus</i> (Imler ex Watling) Šutara	+		
31.	<i>Xerocomellus pruinaatus</i> (Fr. & Hök) Šutara	+		

Note: Mr- mycorrhizal, Hu – humus saprotrophs, Le (lignum epigaeum) – on wood

When analyzing the ecological and trophic confinement of macromycetes, it was noted that mycorrhizal are leading in the studied mycobiota, it accounts for 45.1% of the total number of species, xylophages account for 41.9%, and the share of humus saprotrophs is 12.9% of the total number of species.

Conclusion

As a result of research, we registered for the first time for the study area 31 species of macromycetes belonging to 23 genera, 17 families and five orders, and geobotanical descriptions of oak forests are also given.

The families *Polyporaceae*, *Boletaceae*, *Russulaceae*, *Amanitaceae* are the leaders in the taxonomic spectrum in the mycobiota of oak forests.

The spectrum of the ecological and trophic structure of the biota showed that the most numerous group is symbiotrophs, among which mycorrhizal fungi are 45.1%. Saprotrophs account for 17 species

(54.8%), among them xylophages make up 41.9%, and the share of humus saprotrophs is 12.9%.

The obtained data make a significant contribution to the knowledge of the diversity of macromycetes of oak forests in the Ural River valley within the West Kazakhstan region, information about which in Kazakhstan is still insufficient and fragmentary on the territory of Kazakhstan.

Conflict of interest

All authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgments

The author expresses sincere gratitude to his scientific supervisor, Doctor of Biological Sciences, Professor Sardarbek Abiev and Doctor of Biological Sciences, Professor Talshen Darbayeva for their consulting and valuable advice, as well as immeasurable moral support.

References

- Venturella, G. (2020). Fungal Diversity in the Mediterranean Area. *Diversity*, 12(6), 253.
- Ruiz-Almenara, C., Gándara, E., & Gómez-Hernández, M. (2019). Comparison of diversity and composition of macrofungal species between intensive mushroom harvesting and non-harvesting areas in Oaxaca, Mexico. *PeerJ*, 7, e8325.
- Zervakis, G. I., Dimou, D., & Polemis, E. (2004). Fungal diversity and conservation in the Mediterranean area: Recent advances in the inventory of Greek macromycetes. *Mycologia balcanica*, 1, 31-34.
- Jones, M. D., & Richards, T. A. (2011). 3 Environmental DNA Analysis and the Expansion of the Fungal Tree of Life. In *Evolution of fungi and fungal-like organisms*. Springer, Berlin, Heidelberg, 37-54.
- Hawksworth LD (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycolog Res*. 105:1422-1432

- 6 Blackwell, M. (2011). The Fungi: 1, 2, 3... 5.1 million species?. *American journal of botany*, 98(3), 426-438.
- 7 Hawksworth, D. L., & Lücking, R. (2017). Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiology spectrum*, 5(4), 5-4.
- 8 Rudolph, S., Maciá-Vicente, J. G., Lotz-Winter, H., Schleuning, M., & Piepenbring, M. (2018). Temporal variation of fungal diversity in a mosaic landscape in Germany. *Studies in Mycology*, 89, 95-104.
- 9 O'Hanlon, R & Harrington TJ (2012a) The macrofungal diversity and community of atlantic oak (*quercus petraea* and *q. robur*) forests in ireland. *Anales del Jard n Bot nico de Madrid*, 69, 107-17.
- 10 O'Hanlon, R & Harrington, TJ (2012b) Macrofungal diversity and ecology in four irish forest types. *Fungal Ecology*, 5, 499-508.
- 11 Buee, M, Maurice, JP, Zeller, B, Andrianarisoa, S, Ranger, J, Courtecuisse, R, Mar ais, B & Le Tacon, F (2011) Influence of tree species on richness and diversity of epigeous fungal communities in a french temperate forest stand. *Fungal Ecology*, 4, 22-31.
- 12 Angelini, P., Bistocchi, G., Arcangeli, A., Bricchi, E., & Venanzoni, R. (2015). Diversity and ecological distribution of macrofungi in a site of community importance of Umbria (Central Italy). *The Open Ecology Journal*, 8(1).
- 13 Bisko, N. A., Lomberg, M. L., Mykchaylova, O. B., & Mytropolska, N. Y. (2018). Conservation of biotechnological important species diversity and genetic resource of rare and endangered fungi of Ukraine. *Plant & Fungal Research*, 1(1), 18-27.
- 14 Nyamsuren, K., Magsar, U., Batsumber, S., Myagmardorj, T., Tsogetbaatar, E., Cho, Y., & Kwon, O. (2016). Survey on the distribution of Macrofungi in Mongolia. *Journal of Ecology and Environment*, 39(1), 91-97.
- 15 Mowna Sundari, T., Alwin Prem Anand, A., Jenifer, P., & Shenbagarathai, R. (2018). Bioprospection of Basidiomycetes and molecular phylogenetic analysis using internal transcribed spacer (ITS) and 5.8 S rRNA gene sequence. *Scientific Reports*, 8(1), 1-18.
- 16 Saha, R., Das, D., Tarafder, E., Roy, A., & Acharya, K. (2018). Contribution to the Macromycetes of West Bengal, India: 34–39. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 11(11), 5123-5129
- 17 Dvořák, D., Vašutová, M., Hofmeister, J., Beran, M., Hošek, J., Běťák, J., ... & Deckerová, H. (2017). Macrofungal diversity patterns in central European forests affirm the key importance of old-growth forests. *Fungal Ecology*, 27, 145-154.
- 18 Filippova N, Bulyonkova T (2017) The communities of terrestrial macrofungi in different forest types in vicinities of Khanty-Mansiysk (middle taiga zone of West Siberia). *Biodiversity Data Journal* 5: e20732. <https://doi.org/10.3897/BDJ.5.e20732>
- 19 Vaishlya, O. B., Kudashova, N. N., Gashkov, S. I., Karbysheva, K. S., & Bakhtinskaya, I. A. (2017). First list of macromycetes forming ectomycorrhizas in cedar and pine forests of Tomsk region of West Siberia. *International Journal of Environmental Studies*, 74(5), 752-770.
- 20 Debnath, S., Upadhyay, R. C., Saha, R., Majumdar, K., Das, P., & Saha, A. K. (2020). A checklist of macrofungi (mushroom) diversity and distribution in the forests of Tripura, India. *Journal of Threatened Taxa*, 12(10), 16314-16346.
- 21 Petrenko A.Z. and et.al. (1998). Prirodno-resursnyj potencial i proektiruemye ob'ekty zapovednogo fonda Zapadno-Kazahstanskoj oblasti [Natural and resource potential and designed projects of reserved fund of the West Kazakhstan region]. – Uralsk, – p.175.
- 22 Mamysheva, M. V., & Darbayeva, T. E. (2014). Ekologicheskaya ocenka sovremennogo sostoyaniya dubrav srednego techeniya reki Ural v predelakh Zapadno-Kazahstanskoj oblasti [The Environmental assessment of the current state oak of middle reaches of the Ural River within the West-Kazakhstan Region] *KazNU Bulletin. Biology series*, 60(2), 85-89.
- 23 Index Fungorum Database. Available online: <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp> (accessed on 28 February 2022)
- 24 Kirk PM, Cannon PF, Stalpers JA. 2008. Dictionary of the fungi. 10th ed. Wallingford: CAB International; p. 719. ISBN 978-0-85199-826-8
- 25 IPNI. 2008. The International Plant Names Index. Author query. Available: <http://www.ipni.org/ipni/authorsearchpage.do>

А.А. Кулбекова^{1*}, Ж.Ж. Кужантаева¹,
 А.А. Ыдырыс², Ж.М. Ералиева¹, Д.С. Батаева¹

¹Қазақ ұлттық қыздар педагогикалық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

²Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты, Қазақстан, Алматы обл.

*e-mail: kulbekova.aiman@gmail.com

TRITICUM L. ЖӘНЕ SECALE L. ТУЫСТАРЫНЫҢ МӘДЕНИ ТҮРЛЕРІНЕ БИОХИМИЯЛЫҚ ТАЛДАУ ЖАСАУ

Мақалада Triticum L. және Secale L. туыстары түрлерінің биоэкологиялық ерекшеліктерін нақтылау мақсатында бірқатар сорттардың химиялық құрамы макроэлементтер, белок, май, көмірсу, жасұнық және дәрумендер мөлшері анықталды.

Зерттеуге Алматы, Жамбыл облыстары аймақтарында өсірілетін және жоғары өнім беретін күздік жұмсақ бидай «Мереке 70» және «Димаш» сорттары мен күздік қатты бидай «Казакхстанский янтарь», тритикаленің «Таза» сорттары алынды.

Қазіргі уақытта Қазақстанда астықтың сапасын жақсартып, өнімін жоғарылату ауыл шаруашылығы ғылымдары мен өндірістің негізгі міндеттерінің бірі болып табылады. Осы тұрғыда, көптеген өнімділігі жоғары сұрыптарды алу мүмкіндігі жолға қойылды. И. Ш. Фатыхов, В. Г. Колесникова, С. И. Коконев, Э. Ф. Вафина өз зерттеулерінде Орталық Орал маңындағы дәнді дақылдардың химиялық құрамы азот, фосфор, калий мөлшерін, азықтық құнарлылығын анықтаған.

ГОСТ 29033-91, ГОСТ 10846-91 әдісімен белок, май мөлшері, сорттардың тұқымы құрамындағы көмірсу мөлшері перманганатометриялық әдіспен, ал Венд әдісі бойынша жасұнық мөлшері анықталса, М 04-41-2005 әдістемесімен (өлшемдерді орындау әдістемесін аттестаттау туралы куәлік № 224.04.17.035/2006) никотинамид және никотин қышқылы нысанында сударитін В1, В2, В3, Вс, В6, В5 дәрумендердің массалық үлесі капиллярлы электрофорез – аймақтық (КЭА) және мицеллярлы электрокинетикалық хроматография (МЭКХ) екі әдіспен анықталды. Е (α-γ – токоферол) дәруменін анықтауда ГОСТ Р 54634-2011 әдісін стандарты функционалды тамақ өнімдеріне қолданылады және жоғары тиімді сұйық хроматография көмегімен α-, β-, γ-, δ-токоферолдар түрінде Е дәруменінің массалық үлесі анықталды. Сонымен қатар, бидай сорттарының құрамындағы макроэлементтер атомдық-абсорбциялық спектроскопиясы (ААС) әдісі арқылы анықталды.

Зерттеу нәтижесінде белок мөлшері күздік қатты бидай «Казакхстанский янтарь» сортында басқа сорттармен салыстырғанда орташа есеппен 16%-ға жоғары болды, май мөлшері бойынша тритикаленің «Таза» сорты 21,1%, көмірсу мөлшерінде айтарлықтай айырмашылық байқалмады, ал жасұнық мөлшері бойынша күздік жұмсақ бидай «Димаш» сортында 25,3% басым екендігі анықталды. Ал, макроэлементтер құрамын анықтау барысында салыстырмалы түрде күздік қара бидай тритикаленің «Таза» сортында элементтер мөлшері басым нәтиже көрсетті.

Түйін сөздер. Triticum L., Secale L., сорт, тритикале, макроэлементтер, эндосперм.

A.A. Kulbekova^{1*}, Zh.Zh. Kuzhantaeva¹,
 A.A. Ydyrys², Zh.M. Yerallyeva¹, D.S. Bataeva¹

¹Kazakh National women's teacher training University, Kazakhstan, Almaty

²Kazakh research Institute of agriculture and crop production, Kazakhstan, Almaty region,

*e-mail: kulbekova.aiman@gmail.com

Biochemical analysis of cultural species of *Triticum L.* and *Secale L.*

In the article Triticum L. and Secale L. to clarify the bioecological features of the species, the chemical composition of a number of varieties containing macronutrients, proteins, fats, carbohydrates, fiber and vitamins was determined.

The study included varieties of winter soft wheat "Mereke 70" and "Dimash" and winter durum wheat "Kazakhstansky yantar", winter rye Tretikale "Taza", cultivated in the regions of Almaty and Zhambyl regions.

In the conditions of the Middle Urals, the chemical composition of grain crops was studied by I. S. Fatykhov, V. G. Kolesnikova, S. I. Kokonov, E. F. Vafina, in their studies they determined the feed fertility and the content of nitrogen, phosphorus, potassium in the chemical composition of grain crops.

The contents of protein and fat at 29033-91 GOST, GOST 10846-91, carbohydrates in the seeds of varieties determine permanent residence method, and fiber content according to the method of Vend, method M 04-41-2005 (certificate on certification of technique of execution of measurements No. 224.04.17.035/2006) mass fraction of water-soluble vitamins B1, B2, B3, Vs, C, B6, B5 in the form of nicotinamide and nicotinic acid were determined by two methods, capillary electrophoresis – zonal and mitsellyarnoi electrokinetic chromatography. When determining vitamin E (α – γ – tocopherol), the GOST R 54634-2011 standard is applied to functional food products.

As a result of the study, it was found that the protein content of winter durum wheat in the “Kazakhstan yantar” variety is on average 16% higher compared to other varieties, the fat content of “Taza” variety Tritikale was 21.1%, there was no significant difference in the content of carbohydrates, and the fiber content of winter soft wheat prevailed in the “Dimash” variety by 25.3%. When determining the content of macronutrients in the relatively “Taza” variety of winter rye Tritikale, the number of elements prevailed.

Key words. Triticum L., Secale L., variety, tritikale, macronutrients, endosperm.

А.А. Кулбекова^{1*}, Ж.Ж. Кужантаева¹,
А.А. Ыдырыс², Ж.М. Ералиева¹, Д.С. Батаева¹

¹Казахский национальный женский педагогический университета, Казахстан, г. Алматы

²Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Казахстан, Алматы обл.

*e-mail: kulbekova.aiman@gmail.com

Биохимический анализ культурных видов *Triticum L.* и *Secale L.*

В Статье *Triticum L.* и *Secale L.* для уточнения биоэкологических особенностей вида был определен химический состав ряда сортов, содержащих макроэлементы, белки, жиры, углеводы, клетчатку и витамины.

На исследование были взяты сорта озимой мягкой пшеницы «Мереке 70» и «Димаш» и озимой твердой пшеницы «Казахстанский янтарь», озимой ржи Тритикале «Таза», возделываемые в регионах Алматинской и Жамбылской областей.

В настоящее время улучшение качества и повышение урожайности зерна в Казахстане является одной из основных задач сельскохозяйственных наук и производства. В этом контексте была налажена возможность получения многих высокопроизводительных сортов. В условиях Среднего Предуралья химический состав зерновых культур изучали И. Ш. Фатыхов, В. Г. Колесникова, С. И. Коконев, Э. Ф. Вафина, в своих исследованиях определили кормовую плодородность и содержание азота, фосфора, калия в химическом составе зерновых культур.

Содержание белка и жира по ГОСТ 29033-91, ГОСТ 10846-91, углеводов в семенах сортов определяют перманганатометрическим методом, а содержание клетчатки по методу Венд, методикой М 04-41-2005 (свидетельство об аттестации методики выполнения измерений № 224.04.17.035/2006) массовая доля водорастворимых витаминов B1, B2, B3, Bc, C, B6, B5 в форме никотинамида и никотиновой кислоты определялась двумя методами капиллярного электрофореза – зональной (КЭЗ) и мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ). При определении витамина E (α – γ – токоферола) стандарт ГОСТ Р 54634-2011 применяется к функциональным пищевым продуктам и с помощью высокоэффективной жидкой хроматографии определена массовая доля витамина E в виде α -, β -, γ -, δ -токоферолов. Кроме того, макроэлементы в составе сортов пшеницы определялись методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС).

В результате исследования установлено, что по содержанию белка озимая твердая пшеница в сорте «Казахстанский янтарь» в среднем на 16% выше по сравнению с другими сортами, по содержанию жира «Таза» сорт Тритикале составил 21,1%, существенной разницы в содержании углеводов не наблюдалось, а по содержанию клетчатки озимая мягкая пшеница преобладала в сорте «Димаш» на 25,3%. При определении содержания макроэлементов в сравнительно «Таза» сорте озимой ржи Тритикале преобладало количество элементов.

Ключевые слова. Triticum L., Secale L., сорт, тритикале, макроэлементы, эндосперм.

Кіріспе

Астық тұқымдасы даражарнақтылар класына жататын бір және көп жылдық шөптесін өсімдіктер. Жер шарында кең таралған, 700-дей туысы, 10 мыңнан астам түрі белгілі. Олардың

ішінде космополит түрлері құрлықтардың барлығында кең таралған. Астық тұқымдасы түрлері көп жағдайда шалғындықтар мен шөлейт жерлердің табиғи өсімдіктер жабыны құрамында басым болады. Қазақстандағы барлық облыстарда таралған 83 туысының 418 түрі бар [1].

Дәстүрлі селекция әдістері кейде таңқаларлық нәтижелер береді. Мысалы, бидай (*Triticum* L.) мен қара бидайдың (*Secale* L.) тритикале (ғылыми атауы *Triticosecale*) буданы көптеген аудандарда егіліп, перспективті болып саналды. Оны 1950-ші жылы АҚШ-тың Айова штатының Дж. О'Мара Университетінде колхициннің көмегімен бидай мен қара бидайдың буданындағы хромосомалардың санын екі есе көбейту жолы арқылы алды. Тритикале өнімділігі жоғары бидайды күй талғамайтын қара бидаймен біріктірді. Екі дақылдың да жағымды қасиеттері үйлескен: қара бидайға тән жоғары өнімділігі, қысқа төзімділігі және тағамдық құндылығы, сонымен қатар бидайдың ерекшелігі болып табылады. Будан бидай өнімділігін шектейтін басты факторлардың бірі – сабақ таты саңырауқұлағы ауруларына біршама төзімді болып келеді. Сонымен қатар нақты аудандар үшін будандастыру арқылы тритикале тізбектерін жақсарту жолға қойылды. 1980 ж ортасында бұл мәдени өсімдік жоғары өнімділігімен, ауа райы факторларға төзімділігімен және тазаланған қалдығынан кейінгі тамаша сабанымен БЭЖ шеңберінде ірі астық өндіруші Францияны әйгілілігімен жылдам жаулап алды. Алдымен оны негізінен мал азығына пайдаланды, бірақ адам рационындағы тритикаленің рөлі арта түсті. 1982 жылы Кеңестік Социалистік Республикалар Одағы, Еуропа, АҚШ, Канада және Оңтүстік Америкада 1 млн. га астам жерге егілді.

Қазіргі кезде сорттардың өзгергіштігі мен тұқым қуалауы, олардың ауыл шаруашылығындағы маңызды белгілері мәдени және жабайы түрлерден берілген қасиеттері нашар зерттелген. Өсімдіктерді иммундық қасиеттері жұқпалы аурулардың өсімдіктегі қарым-қатынасы, олардың популяцияларының массалық құрамын зерттеу маңызды мәселе болып отыр [2-3]

Бидай туысы (*Triticum* L. – пшеница). Бұдан 10 мың жыл бұрын адамдар бидай өсіріп, оны өз мұқтажына жаратқаны жайлы арнайы әдебиеттерде көптеген деректер келтірілген. Дүниежүзілік құрлықтың 82 % бөлігінде бидай егіледі. Бұл барлық егістіктің 1/5-і. Оны гектарға айналдырса 137 млн га болады. Басқа деректер бойынша 210 млн га жерге бидай егіледі [4].

Тұқымдас түрлерінің адамға азық және малға жепшөп болатын өсімдіктер ретінде шаруашылықтағы маңызы аса зор. Тұқымдастың ағашты түрлері (бамбук) тропикалық және субтропикалық аймақтарда алуан түрлі болып өседі. Күріш пен бамбукте үш жарғақша болады.

Гүлдің аталықтары жетілгенде жарғақшалар су сіңіріп, ісініп гүл қабыршақтарын айқара ашады, аталықтарының жібі тез өсіп, сыртқа шығады. Жел арқылы тозаңдану жүреді. Өркеннің көлбей өсетін тамырсабағының ұзындығына қарай өсімдіктерді тығыз түптенгендер (шым түзілу), бос түптенгендер деп бөледі [5].

Көптеген ғасырлар бойы ауа райы әртүрлі жерлерде өсіру тәжірибесі негізінде бидайдың бірнеше түрлері мен сорттары алынды. Бидай біздің заманымызға дейінгі 6000-5000 жылдары Ежелгі Грек елінде өсіріле бастаған. Мысыр мен Қытайда біздің заманымыздан 4000 жыл бұрын бидайдан тағамдар жасаған. Адамдар бидайды тек тағам ретінде ғана емес, сонымен қатар емдік қасиеттері үшін де ерте заманнан бағалаған. Бидайдың дәні байлық пен жақсылықтың белгісі ретінде қабылданған, өйткені ол кезде көбіне қолданылған сұлы мен қара бидайға қарағанда, суыққа және құрғақшылыққа төзімсіз бидайдан мол өнім алу қиын болған. Ақ ұнды тек үлкен мерекелер кезінде ғана пайдаланған, онда да оған әркімнің мүмкіндігі бола бермеген.

Бидай – дәнді-дақылдар тобына жататын, көбінесе біржылдық шөптесін өсімдік. Дәнді-дақылдардың ішіндегі ең басты және ең көп өнім салатын дақыл. Бидайдың 22-ге жуық жабайы және мәдени түрі белгілі. Бір гектардан 30-40 центнер өнім алынады. Бидай сорттары дәнінің құрамындағы ұн өндірілетін эндоспермнің (80-84%) мөлшеріне байланысты бағаланады. Өсімдіктердің әртүрлі түрлері, соның ішінде ауылшаруашылық маңызы бар өсімдіктер топырақ пен сулы ерітінділердегі Na^+ және Cl^- иондарының концентрациясына төзімділік деңгейіне қарай ерекшеленеді [6]. Қазақстанда негізінен жұмсақ және қатты бидай түрлері өсіріледі. Соңғы жылдары Қазақстан бидай өсіруде дүние жүзі елдерінің алдыңғы қатарына шықты. Мысалы 2017 жылы ірі бидай экспорттаушы елдердің рейтингісінде 11-орын алды [7].

Жұмсақ бидай (*Triticum aestivum* L. – мягкая, пшеница летняя) егіншілікте көп тараған, масағы борпылдақ, қылтықты және қылтықсыз, қылтықтары жан-жағына шашыраңқы және гүлшоғыры масақшасы ұзындығынан қысқа. Масақша қабыршағы ұзынша әжімді, оның қыры (киль) жіңішке, негізіне қарай жойылып кетеді. Күрделі масақтың бет жағы бүйірінен жалпақ. Масақ асты сабанының бөлігі қалыпты жағдайда кеуек. Дәндері жеңіл үгітіледі, ұсақ, орташа және ірі болып келеді, ұнды немесе жылтыр (шынылы). Айдары айқын ажыратылады, қылшықтары ұзын, ақ-сұр. Фитохимиялық тал-

дау нәтижесінде бидай сығындысынан акалоидтар, сапониндер, терпеноидтар, стероидтар, флавоноидтар және таниндер, гликозидтер сияқты әртүрлі биоактивті қосылыстар табылған [8-9].

Жұмсақ бидай – жемісі бір тұқымды дән. Бидай дәнінің сыртқы қабығын перикарпий мен тұқым қабығының қалдығы түзеді. Оның ішінде эндосперм мен ұрық болады. Дәннің 80% астам мөлшерін эндосперм алады және сыртында аллейрон қабығы да болады, оның құрамында қоректік нәруыздар мен липидтер, дәрумендер болады, қабығы крахмалды эндосперм мен ұрықты қоршап тұрады [10]. Бидайдың қандағы қантты оңтайландыру қасиеті бар деп саналады. Қазіргі уақытта оны диабетке қарсы дәрі ретінде қолдану танымал болып келеді [11].

Бидай ұны эндоспермнен алынады. Кебек, яғни аллейрон қабаты мен қалған дән қабығы ұн дайындау кезінде електен өтпейді. Олар жалпы дән массасының шамамен 14% түзеді және астық өнімділігін біршама төмендетеді. Ұрық (дән массасының шамамен 3%) құрамында майдың, жасұнықтың болуынан електен өтпейді және май ашып ұнның сақталу мерзімін қысқартады. Алайда дәрумендердің басым мөлшері бидай кебегі мен ұрығында болады. Қазір диеталық азыққа және ірі қара малдың жемшөбі ретінде кеңінен пайдаланады. Қатты бидайдан өндірілетін макарондар мен манна жармасынан басқа бидай өнімдері осы жұмсақ бидайдан алынады [12].

Қатты бидай (*Triticum durum* Desf. – пшеница твердая) масағы тығыз, призма пішінді, бүйірі бет жағынан кең, негізінен қылтықты. Қылтықтары ұзын, параллель орналасқан. Масақ қабыршағының қыры (киль) негізіне дейін айқын ажыратылған. Масақ асты сабаны қуысы паренхима ұлпасымен толы. Масағындағы дәні қиынырақ үгітіледі. Дәндері сопақша, ірі жылтыр, кейде әлсіз ұнды. Айдары әлсіз дамыған, қылшықтары қысқа [13]. Олардың құрамында қант диабеті, қатерлі ісік және жүрек-тамыр аурулары сияқты созылмалы ауруларды төмендететін және алдын алатын биоактивті қосылыстар бар [14].

Қазақстанның солтүстігінде барынша көп тараған түр тармақтары жұмсақ бидайдан лютеценс, барбаросса және қатты бидайдан гордейформе, леукурум жатады. Бидайдың әрбір түр тармағы биологиялық және өндірістік ерекшеліктерімен бір-бірінен ажыратылатын бірқатар сұрыптарын біріктіреді. Бір түр тармақта жаздық та, күздік те, ерте пісетін және

кеш пісетін, т.б. сұрыптары болуы мүмкін [15]. Сонымен қатар бұл түр әлемдегі маңызды азық-ақылдардың бірі. Африканың сахарасындағы эндемикалық түр. Эфиопия мен Сахараның оазистерінде бұл мәдени түрде мыңдаған жылдар бойы өсіріліп келеді. Бүгінгі таңда шағын фермерлер оны өз тұтынуы үшін өндірісті қамтамасыз ету үшін оны маргиналды жерлерде өсіреді [16].

Қара бидай (*Secale L.* - Рожь) екі түрі күздік және жаздық қара бидайды егеді. Жаздық қара бидай төмен өнімді болып келеді. Қазақстанда жабайы (*Secale sylvestre* Host.) және мәдени (*Secale cereale* L.) түрлері бар. Мәдени қара бидай қара бидай тұқымдасының бір түрі және тағамдық дақыл. Құнарлы мал азығы ретінде де пайдаланады. Қара бидай дәні нақты фитохимиялық заттардың керемет көзі болып табылады. Ондағы флавоноидтардың концентрациясы, жидектер мен көкөністермен салыстырғанда төмен болғанымен, химиялық құрамының әртүрлілігі жоғары болды. [17-18]. Республикада негізінен күздік қара бидай Батыс Қазақстан, Ақтөбе, Қостанай, Шығыс Қазақстан және Қарағанды облыстарында егіледі. Күздік қара бидайдың тамыр жүйесі қуатты дамыған, шашақты, ұрықтық және қосалқы тамырлардан тұрады, топыраққа 1,0-1,05 м дейін тереңдеп өседі, алайда негізгі массасы топырақтың беткі қабатында шоғырланады. Тұқымдары көбінесе 3-4 ұрықтық тамырмен өнеді, олар қара бидай вегетациясының алғашқы кезеңіндегі қоректенуде үлкен рөл атқарады. Негізгі өркеннің төменгі бөлімінен (екіншілік) қосалқы тамырлар тарайды, олардың даму деңгейі топырақ, ауа райы ерекшеліктері мен өсу жағдайларына байланысты өзгереді. Гүл шоғыры күрделі масақ, ақшыл-сары, масақта 30-40 масақшалар жетіледі. Жемісі – жіңішке ұзынша келген немесе сопақша келген дән, жасыл, сары, сұр және басқа да түсті, 1000 дәннің салмағы 18-25 г. Тритикале жаздық бидайға қарағанда тыңайтқыштарға көбірек жауап береді. Тыңайтқыштар астық өнімділігін, сапасын едәуір арттырады. Дәннің химиялық құрамы бойынша тыңайтқыштар ондағы фосфаттар мен калийдің шамалы өзгеруімен жалпы азот құрамын едәуір арттырды [19]. Қара бидай айқас тозанданатын өсімдік (желмен немесе бір бөлігі жәндіктермен). Қазақстанда күздік қара бидайдың егіс көлемі 49,3 га. 1 га-дан орта есеппен 14,0 ц өнім алынады [10]. Аудандастырылған сорттары: Шолпан, Саратовская 4, Долинская, Харьковская 55, Тритикале Таза т.б.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеуге алынған нысандар Алматы, Жамбыл облыстары аймақтарында өсірілетін және жоғары өнім беретін күздік жұмсақ бидай «Мереке 70» және «Димаш» сорттары мен күздік қатты бидай «Казахстанский янтарь», күздік қара бидай тритикаленің «Таза» сорттары алынды.

ГОСТ 29033-91, ГОСТ 10846-91, Венд әдістері бойынша тұқымнан дайындалған шикізаттың биохимиялық көрсеткіші белок, май, көмірсу және жасұнық екендігі анықталды. Күздік жұмсақ бидай «Мереке 70» және «Димаш» сорттары, күздік қатты бидай «Казахстанский янтарь» сорты, тритикаленің «Таза» сорттарының тұқымы құрамындағы көмірсу мөлшері перманганатометриялық әдіспен анықталды [20].

М 04-41-2005 әдістемесі (өлшемдерді орындау әдістемесін аттестаттау туралы куәлік № 224.04.17.035/2006) осы құжат никотинамид және никотин қышқылы нысанында суда еритін В1, В2, В3, Вс, С, В6, В5 дәрумендердің массалық үлесін өлшеуді орындау әдістемесін белгілейді, бұл ретте талданатын сынаманың құрамына және өлшеу дәлдігіне қойылатын талаптарға байланысты капиллярлы электрофорез – аймақтық (ҚТЕ) және мицеллярлы электрокинетикалық хроматографиямен (МЭКХ) екі әдіспен анықталды [21]. Е (α - γ – токоферол) дәруменін анықтауда ГОСТ Р 54634-2011 әдісін стандарты функционалды тамақ өнімдеріне қолданылады және жоғары тиімді сұйық хроматография көмегімен α -, β -, γ -, δ -токоферолдар түрінде Е дәруменінің массалық үлесі анықталды [22-23].

Зерттеуге алынған бидай сорттарының құрамындағы ауыр металдардың құрамы «КВАНТ-Z. ЭТА-Т» электрлік атомизациясы бар спектрометрдегі атомдық-абсорбциялық спектроскопия (ААС) әдісімен бағдарламалық қамтамасыз етумен анықталды [24]. Атомдық-абсорбциялық спектроскопия (ААС) атомдық қасиеттеріне негізделген сандық талдау әдісі – нақты толқын ұзындығын (резонансты сіңіру) жарықпен сіңіру. Жалын атомизациясы – буландыру және атомдау кезінде жалыннан (пропан/ауа, ацетилен/азот тотығы) түзіледі. 0,01-100 мг/л ерітіндідегі элементтер шоғырланады. Электротермиялық атомдау (ЭТА) – үлгідегі булану мен атомдау 1500-3000°C дейінгі температурада электр тоғымен қыздырылған графит түтігінде (графит пешінде) анықталған элементтің қасиеттеріне байланысты болады. Концентрациясы 0,01-100 мкг/л ерітіндідегі

элементтер анықталады. ГОСТ 26657-97 әдісі арқылы фосфор құрамы анықталды [25]. Бұл стандарт барлық азықтық өсімдік түрлерінің, жемазық, жемазықтық шикізат (минералдық шикізатты, жем ашытқысын және папринді қоспағанда) түрлеріне қолданады және фосфордың құрамын анықтаудың фотометриялық және титриметриялық әдістерін белгілейді.

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Күздік жұмсақ бидай «Мереке-70» сорты Алматы облысында суару кезінде және богара жағдайында Одесская 120 стандартымен, Жамбыл облысында Стекловидная 24 стандартымен салыстырмалы зерттеулер жүргізіліп, сынақтан өткен. Астық түсімі бойынша сұрып Одесская 120 стандартынан орта есеппен 3,5 ц/га-ды, орташа өнімділік суармалы кезде 40,8 ц/га-ды, богарда 16,3-тен 28,4 ц/га-ды түзеді. 1000 дәннің массасы орта есеппен 44 грамм болды. Ал, Стекловидная 24 стандартының орташа өнімділігі 8,0 ц/га болды (0,5 ц/га артық). Ірі дәнді, 1000 дән массасы 36 грамм. Нан пісіру сапасы бойынша «Мереке-70» сорты бағалы бидайға жатады.

«Димаш» сорты биіктігі 100-110 см, масағы цилиндр тәрізді жұмыр, жоғары жағында аздау, ақ түсті. Масақтың ұзындығы 10,2-10,5 см, орташа тығыздығы (10 см өзекте 20-21 масақша). Жылдың ауа райы жағдайларына байланысты қылқандары ақ-қоңырқай түсті. Сорт жоғары өнімді, орташа өнімділігі 50,7 ц/га. Алмалы стандартынан (47,2 ц/га) 3,5 ц/га артық (2015-2017жж.). Сорт Қазақстанның (Алматы, Жамбыл, Оңтүстік Қазақстан облыстары) және Орта Азияның суармалы және тау бөктерінде ылғалы мол өңірлерде өсіру ұсынылды. Жоғары агрофонға жауап беретін өнімді сорт түрі [26].

Қатты күздік бидайдың «Казахстанский Янтарь» сорты гибрид популяциясынан (Гергана х Айсберг одесский) х Новинка 3 жеке іріктеумен гибридтік әдіспен шығарылды. Биіктігі орташа 100 см, масақшасы қара түсті, кептірілген, ұршық тәрізді, 7-8 см, ұзын қылтанды, дәні ақ түсті, жұмыртқа тәрізді. 3 жыл ішінде орташа өнімділік 57,8 ц/га, өнімділігі Айсберг одесский стандартымен 45,0 ц/га. Құрғақшылыққа төзімді, шынылығы 98 %, жасұнық құрамы 33,8%. Макаронды сапасының жалпы бағасы – 4,4 балл, Айсберг одесский стандартында – 4,0 балл. Алматы облысында 2010 жылдан бастап пайдалануға рұқсат берілген [10]. Авторлық куәлік: №357, 8.06.2010 ж.

Тритикаленің «Таза» сорты биіктігі 105-110 см, масағы мен дәні ірі, 1000 дәннің салмағы 56 гр құрайды. Масағында 60-70 дән болады, бұл санақ сұрыптың өнімділігі жоғары екендігін көрсетеді. «Таза» сортының жоғары өнімділігі 8-10 т/га құрайды. Крахмалдың жоғары мөлшеріне байланысты, негізгі өнімді химико-технологиялық өнеркәсіп үшін тамаша шикізат (биоэтанол, метанол, биодизель, спирт т.б. өнімдер) болып табылады. 2002 жылдан бастап Алматы, Жамбыл, Оңтүстік Қазақстан облыстарында егуге рұқсат берілген [10].

Көмірсу мөлшері «Казахстанский янтарь» сорты (құрғақ органикалық затының 64,14%), «Димаш» сортында (құрғақ органикалық затының 63,93%), «Мереке 70» (құрғақ органикалық затының 62,38%), тритикале «Таза» (құрғақ

органикалық затының 61,15%) болды (1-кесте).

Сортына қарай бидайдың құрамындағы крахмал мен көмірсулардың мөлшері 50-70%-ға дейін, ақуыздар 10%-дан 20%-ға дейін көтерілді. Сондай-ақ, өсімдік майлары, минералды заттар (калий, кальций, магний, фосфор, натрий т.б), дәрумендер (В1, В2, В6, С, Е, РР), пектинді заттар, сонымен қатар белсенді ферменттер бар.

Әлемде бидайдың басқа да дәнді дақылдар сияқты алуан түрлі сұрыптары мен түрлері бар. Негізінен, ботаникалық және ауылшаруашылық классификациясының ерекшеліктеріне байланысты әр ел өзіне тән сорттары мен жергілікті түрлерін өсіреді. Бидай түрлерінің сипаттамалары көбінесе сабағы мен масақшалары, дәннің сыртқы пішіні және олардың химиялық құрамымен ерекшеленеді.

1-кесте – Зерттелген сорттардың тұқымдарындағы органикалық заттар құрамы мг/100 г

№	Құрамындағы органикалық заттар	«Мереке 70»	«Димаш»	«Казахстанский янтарь»	Тритикале «Таза»	Анықталған әдіс түрі
1	Белок мөлшері %	13,06±0,3	13,72±0,6	15,38±0,2	11,89±0,5	ГОСТ 29033-91
2	Май мөлшері %	0,92±0,1	0,89±0,1	0,91±0,1	1,43±0,1	ГОСТ 10846-91
3	Көмірсу мөлшері %	62,38±0,2	63,93±0,3	64,14±0,4	61,15±0,2	Парманганометриялық әдіс
4	Жасұнық мөлшері %	3,18±0,1	4,07±0,2	3,63±0,2	2,3±0,3	Венд әдісі

Бидайдың химиялық құрамы басқа дәнді дақылдар сияқты көптеген себептерге байланысты үлкен ауытқуларға ұшырайды: дәннің сорты, оның пісу дәрежесі (жинау уақыты), ауа райы климаттық жағдайлары, топырақ және берілген тыңайтқыштар. Бидай дәнінің құрамында су, азотты заттар белоктар, майлар, көмірсулар (суда ерімейтін крахмал, жасұнық, пентозандар және еритін – декстриндер, қант), минералды заттар және аз мөлшерде кейбір басқа заттар болады.

Органикалық қосылыстар тірі организм жасушасының 20-30% құрайды. Оларға биологиялық полимерлер – белоктар, нуклеин қышқылдары және көмірсулар, майлар мен бірқатармаңыздымолекулалар–дәрумендер,гормондар, пигменттер, органикалық қышқылдар, аминқышқылдары, нуклеотидтер, спирттер, т.б. жатады. Астық құрамына кіретін азотты заттар жұғымдылығы жасұнық, қорға жиналған белоктар (глиадин, глутенин), ұн мен одан пісірілген нан сапасына үлкен әсер етеді. Бидайдың азотты заттарының ішінде белоктар (90%) басты орын

алады, белок емес азотты заттар қалыпты азотты заттардың жалпы құрамының 10-12% ғана болады. Белоктар – тіршілік үшін өте зор маңызы бар органикалық заттардың маңызды тобы. Барлық белоктар – мономерлер амин қышқылдарынан түзілген биополимерлер. Өсімдіктерде белок зат алмасу процестеріне қатысады. Нан пісірудегі қара бидай ақуыздарының рөлі төмен деп саналады, өйткені қара бидай қамырында глютен торы пайда болмайды.

Бидай дәндеріндегі жасұнық – ішек моторикасының қуатты стимуляторы. Бидай кебектері көмірсулардың асқазан-ішек жолдарындағы майларға айналуын болдырмайды және сол арқылы салмақтың қалпына келуіне ықпал етеді. Бидай құрамындағы пектиндер шіру процестерін азайтып, зиянды заттарды сіңіреді және ішектің шырышты қабығының жазылуын тездетеді. Сонымен қатар жасұнық жоғары сатыдағы өсімдіктердің жасуша қабықшасының құрамына кіретін жоғары молекулалы, жіңішке талшықты полисахарид болып табылады. Ол өсімдік жасушаларына беріктік қасиет береді.

Тазаланып бөлініп алынған жасұнықтан сапалы қағаздың түрлері, кинотаспалар, пластмассалар, копарылғыш зат, лак жасалынады [27].

Май – тірі организмдер үшін қуат көзі болып табылады. Майлар ыдыраған кезде ақуыздар мен көмірсулар ыдырағанға қарағанда екі еседей көп энергия бөлінеді. Олар ақуыздарды, минералды тұздарды, сондай-ақ майды ерітетін витаминдерді организмнің қалыпты сіңіруіне қажет. Көмірсулар – табиғатта кен таралған органикалық қосылыстар. Олар өсімдік клеткаларының негізін құрайды және қоректік заттардың қоры (крахмал) түрінде жиналады. Өсімдіктердің құрғақ органикалық затының көп бөлігін, яғни оның 85–90 % көмірсулар құрайды.

Дәннің барлық крахмалы, белоктардың көп бөлігі эндоспермде шоғырланған; жасушаның пентозандарының, минералдық заттар мен

майдың көп бөлігі аллейрондары бар қабықта орналасқан. Дәндегі магний мен калий тұздары көмірсулар алмасуын белсендіреді, сүйек тінінің қалыптасуына қатысады, жүрек пен орталық жүйке жүйесінің жұмысын қалыпқа келтіреді [28].

Биологиялық маңызды заттардың басым мөлшері бидай ұрығында болады: В тобының дәрумендері, Е дәрумені, протеиндер, мырыш, калий, темір, фосфор, күкірт және линол қышқылы.

Дәрумендер зат алмасу процесіне қатысады, түрлі ауруларға қарсы тұрақтылықты қамтамасыз етеді және организмде ферменттер түзуде маңызы бар. Күздік бидай сорттарының дәрумендік мөлшері ресми әдістермен анықталып, негізгі дәрумендік көрсеткіштері 2- кестеде берілді.

2-кесте –Зерттелген сорттардың тұқымдарындағы дәрумендік құрамы мг/100 г

Дәрумендер мг/100г	«Мереке 70»	«Димаш»	«Казахстанский янтарь»	Тритикале «Таза»	Анықталған әдіс түрі
Е (α-токоферол)	0,32	табылған жоқ	табылған жоқ	0,43	ГОСТ Р 54634-2011
Е (γ-токоферол)	0,19	0,26	табылған жоқ	0,17	
В1 (тиаминхлорид)	0,025±0,005	0,005±0,001	0,0035±0,1	0,013±0,003	М-04-41-2005
В2 (рибофлавин)	0,031±0,013	0,11±0,047	0,12±0,05	0,099±0,042	
В6 (пиридоксин)	0,011±0,002	0,063±0,013	0,033±0,007	0,056±0,011	
С (аскорбин қышқылы)	0,077±0,026	0,12±0,042	0,08±0,027	0,19±0,06	
В3 (пантотен қышқыл)	0,020±0,004	0,029±0,006	0,049±0,01	0,067±0,013	
В5 (никотин қышқылы)	0,004±0,0006	0,012±0,002	0,030±0,005	0,007±0,001	
В ₉ (фолий қышқыл)	0,029±0,006	0,004±0,001	0,012±0,0024	0,008±0,002	

Е (α- γ – токоферол) дәрумені ағзадағы клеткалар жарғақшаларын радикалдардан қорғайды. Сонымен қатар ағзаның зат алмасу үдерісіне және көбеюіне әсер етеді, жыныс бездерінің қызметін жақсартады. Бұл дәрумен жетіспеген жағдайда әйел бедеулікке ұшырауы мүмкін, кейде қаңқаның бұлшықеттері қатая бастайды. Көкөністерде, астық тұқымдастардың дәнінде, өсімдік майында және жұмыртқада кездеседі. Адам ағзасы үшін қажетті тәуліктік мөлшері 10-12 мг. Зерттеуге алынған «Мереке-70» со-

ртында Е (α-токоферол) дәрумені – 0,32 мг, Е (γ-токоферол) дәрумені – 0,19 мг, тритикаленің «Таза» сортында Е (α-токоферол) дәрумені – 0,43 мг, Е (γ-токоферол) дәрумені – 0,17 мг, «Димаш» сортында Е (α-токоферол) дәрумені кездеспеді, Е (γ-токоферол) дәрумені – 0,26 мг болды. «Казахстанский янтарь» сортында бұл дәрумен кездескен жоқ.

В1 (тиамин хлорид) дәрумені «Мереке-70» сортының құрғақ органикалық затының 0,025 мг, тритикаленің «Таза» – 0,013 мг, ал аз

мөлшерде «Казахстанский янтарь»- 0,0035 мг мен «Димаш» – 0,005 мг кездесті. Бұл дәрумен организмдегі зат алмасу процесіне аса қажет. Егер В1 дәремені жетіспесе шаршағандық сезіліп, ас қорыту жүйесі бұзылады. Сонымен қатар жүйке жүйесі қызметі бұзылады, дене және шығармашылық еңбекпен көп шұғылданғанда, суықта ұзақ болғанда ағза осы дәруменді көп қажет етеді.

В2 (рибофлавин) «Казахстанский янтарь» сортының құрғақ органикалық затының 0,12 мг, «Димаш» – 0,11 мг, ал аз мөлшерде тритикаленің «Таза» сортында – 0,099 мг, «Мереке-70» – 0,031 мг кездесті. Тотығу және қайта қалпына келтіру реакцияларына қатысады, зат алмасудағы маңызы зор. В2 дәрумені әсіресе жасушаның яғни ағзаның өсіп дамуына әсерін тигізеді. Жарақаттардың тез жазылуына әсерін тигізеді, көздің жақсы көру қабілетін сақтайды. Бұл дәрумен жетіспеген жағдайда ерін құрғап, кезереді, ұшық шығады, денеге түскен жарақат баяу жазылады. Сонымен қатар, В2 дәрумені нан ашытқысында, бауырда, сондай-ақ сүт пен сүт тағамдарында көбірек болады.

В6 (пиридоксин) дәрумені тритикаленің «Таза» сортында құрғақ органикалық затының 0,056 мг, «Димаш» – 0,063 мг, ал аз мөлшерде «Казахстанский янтарь» – 0,033 мг мен «Мереке-70» – 0,011 мг кездесті. Бұл дәрумен ақуыздардың құрамдас бөлігі болып табылатын амин қышқылдарының алмасуына қатысады. В₆ дәруменінің жетіспеушілігі жас балалардың бойының өсуін тежеп, қан аздығы мен сезімінің тез қозғыштығын тудырады, ал екіқабат әйелдердің бетінде қара дақ пайда болады. В6 дәруменін молырақ қажетсіну ағзаның өсуі, әйелдің екіқабат және бала емізу кезеңдерінде жиірек байқалуы мүмкін.

Зерттелген түрлер ішінде С (аскорбиновая кислота) дәрумені тритикаленің «Таза» сортында – 0,19 мг, «Димаш» – 0,12 мг, «Мереке-70» – 0,077 мг, «Казахстанский янтарь» – 0,08 мг екендігі анықталды. С дәрумені аскорбин қышқылы құрамындағы биологиялық активті заты. Ағзаның жұқпалы ауруларына қарсы иммунитетін арттырады. Сүйекке және тіске беріктік қасиет береді. С дәрумені жетіспеген жағдайда ағза тез шаршайды, сілемейлі қабықшалар қабынады, қызылиек қанталайды. Бұл дәрумен ұзақ уақыт жетіспесе, адам қауіпті құркұлақ (цинга) ауруына шалдығады. Адам

ағзасы С дәруменін түзбейтіндіктен, тамақпен бірге қабылдануы керек. С дәрумені ағзаға қыс пен көктем айларында көбірек қажет.

В3 (пантотен қышқылы) дәрумені анықтауда 2-кестеде көрсетілгендей тритикаленің «Таза» сортының құрғақ органикалық затының 0,067 мг, «Казахстанский янтарь»- 0,049 мг, «Димаш» – 0,029 мг, «Мереке-70» – 0,020 мг екендігі анықталды. В3 дәрумені никотин қышқылы немесе никотинамид деген атпен де белгілі. Никотин қышқылы холестерин деңгейін азайта алатын қасиеті бар. Жетіспеуінің салдарынан пеллагра, дерматит, диарея мен психикалық күйзеліс аурулары туындайды.

В5 (никотин қышқылы немесе РР) дәрумені «Димаш» сортының құрғақ органикалық затының – 0,012 мг [4], «Казахстанский янтарь» – 0,030 мг, тритикаленің «Таза»- 0,007 мг, «Мереке-70» – 0,004 мг екендігі анықталды. Бұл дәрумен тотығу реакцияларындағы катализатор – ферменттердің құрамына кіреді, май және амин қышқылдарының синтезіне қатысады. Жетіспеушілігінен «Пеллагра» ауруына шалдығады. В5 дәрумені дәрілік мақсаттарда кеңінен қолданылады. Хирургиялық операциядан кейін организмді қалпына келтіру үшін экзема, күйік, бронх демікпесі, өткір және созылмалы бронхит, қан айналым жүйесінің бұзылыстары, бауыр, асқазан, ішек ауруларында препарат ретінде қолданады.

Вс (фолий қышқылы) дәрумені «Мереке-70» сортының құрғақ органикалық затының – 0,029 мг [4], «Казахстанский янтарь» – 0,012 мг, тритикаленің «Таза» – 0,008 мг, «Димаш» – 0,004 мг екендігі анықталды. В9 дәрумені ұлпалардың өсуі, пролиферациясы, даму процестерінің қалыпты жүруі, оның ішінде қан түзілуіне, эмбриогенез үшін қажет, ойлау және дененің жұмыс істеу қабілетін жоғарлатады, асқазанда тұз қышқылы өндірілуін көтереді.

Минералды элементтердің өсімдіктер үшін маңызы зор. Бұл элементтердің қажеттілігі олардың органикалық қосындылардың құрамына енуіне байланысты. Органикалық заттардың құрамына енген минералды элементтер өсімдіктердің химиялық активтілігін ұлғайтып, оларға жаңа қасиет береді. Сонымен қатар адам организмдегі көптеген ферменттердің белсенділігі минералды заттардың қатысуынсыз жүзеге аспайды [29]. Зерттелген сұрыптардың тұқымындағы макроэлементтер құрамын талдау 3-кестеде көрсетілген.

3-кесте – Зерттелген сорттардың тұқымдарындағы минералдық заттар құрамы мг/100 г

Минералды элементтер мг/100г	«Мереке 70»	«Димаш»	«Казахстанский янтарь»	Тритикале «Таза»	Анықталған әдіс түрі
К	331,41±6,63	329,17±4,94	330,05±6,61	337,23±5,06	Атомдық-абсорбциялық спектроскопиялық әдіс
Са	42,67±0,85	49,5±0,99	33±0,66	55,17±1,1	
Mg	125,01±2,5	119,5±2,39	120,23±2,4	113,78±2,28	
Na	5,81±0,2	6,69±0,13	5,90±0,12	5,54±0,11	
P	361,67±7,23	365,33±7,31	290,33±5,81	365,56±7,31	ГОСТ 26657-97

Макроэлементтер. Кальций. Кальций элементінің өсімдіктерде сіңірілу формасы Ca^{+} , қалыпты концентрациясы (құрғақ салмаққа шаққанда) 0,2-3,5%. Жасуша құрамында болады, ферменттердің кофакторы, жасушалық өткізгіштік қасиетке ие, кальмодулинді құрайды – мембрана мен ферменттер жұмысын реттейді. Өсімдіктерде көп мөлшерде кездесетін элементтердің бірі болып табылады. Өсімдіктерде кальций тамырдың өсуіне пайдалы әсер етеді. Кальций пектин қышқылымен қосылып клетканың аралық қабығын тұрақтандырады. Кальцийсіз ортада тамырдың өсу аймағы бұзылады және жас меристемалық ұлпалар мен тамыр жүйесі зардап шегеді. Жанама тамырлардың және тамыр түкшелерінің қалыптасуы тоқтап, тамырдың өсуі нашарлайды. Кальций тапшылығынан пектинді заттар бөрітіп, клетка қабықтары сілемейленіп, клеткалар бұзылады. Нәтижесінде тамырлары, жапырақтары, сабағы шіріп кетеді. Жапырақ ұштары мен жиектері алдымен ағарып, соңынан қараяды да, алақаны шиыршықтанып қалады. Тритикале буданының «Таза» сортында кальций мөлшері зерттеуге алынған сорттармен салыстырғанда – 55,17 мг басым болды.

Кальций сүйек тінін түзуде (фосформен бірге) өте маңызды элемент. Сонымен қатар оның қызметі маңызды ферменттер қатарын белсендіреді, организмдегі иондардың қалыпты болуына, жүйке-бұлшықет және жүрек қантамырлары жүйесіндегі процестерге қатысады.

Магний элементінің өсімдіктерде сіңірілу формасы Mg^{2+} , қалыпты концентрациясы (құрғақ салмаққа шаққанда) 0,1-0,8% [4]. Хлорофилл молекулаларының компоненті, көптеген ферменттерді белсендіреді. Атмосферадағы таралу деңгейі жағынан магний сегізінші орын алады – 2,1%. Топырақ құрамындағы мөлшері – 05% шамасында ғана. Топырақтағы Mg минералдар, алмасқыш, топырақ ерітіндісінде ион-

дар күйінде кездеседі. Өсімдік тамыры еріген және алмасқыш магнийді оңай сіңіреді. Жоғары сатыдағы өсімдіктердегі магнийдің мөлшері 0,02-ден 3,1 %-ке дейінгі аралықта болады. Қысқа күндік өсімдіктерде (жүгері, тары) көбірек мөлшерде болады. Өсімдіктің жас мүшелері мен ұлпаларында көбірек жиналады. Магнийдің тапшылығынан пластидтердің қалыптасуы да нашарлайды. Жапырақтың жасыл жүйкелерінің араларында ашық-жасыл, соңында сары-ақшыл түстеніп, дақтар және жолақтар пайда болады. Жапырақ жиектері сары, сарғыш-қызыл немесе қызыл-қоңыр түстеніп өзгереді.

Өсімдіктердің биологиялық ерекшеліктеріне қажетсіну деңгейінің жоғары болуына байланысты макроэлементтерді (N, P, K) тыңайтқыш түрінде пайдаланады.

Азот. Өсімдіктер қалыпты жағдайда өсіп дамуы үшін азот лимиттеуші фактор болып саналады. Азоттың өсімдікке сіңу формасы NO_3^- немесе NH_4^+ , өсімдіктің құрғақ массасындағы салмағы 1-4%. Аминқышқылдарының, ақуыздың, нуклеотидтердің, нулеин қышқылдарының, хлорофилл дәндерінің, коферменттердің құрамында болады.

Фосфор. Сіңірілу формасы $H_2PO_4^-$ немесе HPO_4^{2-} ; өсімдіктегі қалыпты концентрациясы (құрғақ салмаққа шаққанда) 0,1-0,8% [4]. Сіңірген аорганикалық фосфордың аздаған бөлігі нуклеотидтердің (ДНК, РНК) құрамына кіреді. Жоғары энергетикалық қосылыстарды нуклеотидтерді (АТФ, АДФ) түзеді, қантты фосфорлайды, кейбір маңызды коферменттер мен фосфолипидтердің компоненті. Өсімдік жасушаларында зат алмасуды қамтамасыз етеді, өсімдіктердің жемістерінің пісіп жетілуін тездетеді. Фосфорлы тыңайтқыштардың әсерінен өсімдік тамыры жақсы бұтақтанып, жайылып өседі. Клетка жарғақшалары құрамындағы фосфор жеткіліксіз жағдайда оттегінің сіңуі бәсеңдеп, фосфолипидтерді түзеді. Тыныс

алуға қатысатын ферменттердің ырғақтылығы өзгеріп, митохондриялардан тыс тотығу жүйелері түзіле бастайды. Сонымен қатар, фосфорлы органикалық қосындылар мен полисахаридтердің ыдырау процесі жеделдейді, белоктардың және нуклеотидтердің синтезделуі баяулайды. Өсімдіктің өсуі тежеледі, фосфорсыз хлорофил түзілмейді, онда өсімдік жапырағы көмірқышқыл газын сіңіре алмайды. Өсімдікте фосфор жетіспесе, жапырақта қара қошқыл жасыл, қара дақ пайда болып, өсімдіктердің гүлденуі мен жемістерінің пісуі баяулайды [30].

Егістікте топырақтағы фосфор жаңбыр өзен суымен шайылып, теңізге түсіп тұнба түзеді. Топырақтағы фосфор мөлшері азаяды. Сондықтан фосфор тыңайтқышын фосфатты тау жыныстарынан өндіреді. 3-кестеде көрсетілгендей фосфор мөлшері тритикале буданының «Таза» сорты мен жұмсақ күздік бидай «Димаш» сортында бірдей (365 мг) көрсеткішті берді. «Мереке-70»-361,67 мг, «Қазақстандық Янтарь» – 260,33 мг болды (2-кесте).

Калий. Өсімдіктерде калийдің сіңірілу формасы K^+ , қалыпты концентрациясы (құрғақ салмаққа шаққанда) 0,5-6%. Фермент құрылымын, амин қышқылдары, белок синтезіне қатысады, көптеген ферменттерді белсендіреді, устица саңылауларының ашылуына және жабылуына қатысады. Барлық тірі организмдердің жасушааралық ортасының қажетті компоненті болып табылатын негізгі жасушааралық катиондарға жатады. Адам ағзасында шамамен калий 98% тін жасушасы ішінде кездеседі. Кейбір физиологиялық процестерде калий натрий антагонисі ретінде қызмет атқарады: ағзадағы калий концентрациясының артуы натрийдің жойылуына әсер етеді. Калий қосылыстары тіндердің коллоидтық жағдайына әсер етіп, ағзадан сұйықтықтың шығуына ықпал етеді. Адам ағзасындағы калийдің жалпы құрамы 160-250 г құрайды. Бірақ бұл көрсеткіш адам жынысына, жас ерекшелігіне байланысты өзгереді. Бұл өзгерістер дененің жасушалық салмағының өзгеруіне байланысты. Калий негізінен адам ағзасына азықтық өсімдік тағамдары арқылы келіп түседі [30].

Зерттелген сорттар ішінде тритикале «Таза» (құрғақ органикалық затының) басқа сорттармен салыстырғанда калийдің мөлшері көп 337,23 мг болды. Бұл элемент өсімдіктердің қалыпты өсіп-өнуіне ең қажетті элементтер қатарына жатады. Өсімдіктің жас, өсіп тұрған бөліктерінде көбірек кездеседі, өте жылжымалы. Қазіргі кез-

де алынған деректерге сәйкес, калийдің әсерінен 60-тан аса ферменттердің белсенділігі артатыны белгілі болды, оның зат алмасу процестеріндегі маңыздылығы дәлелденген. Калиймен жақсы қамтамасыз етілген өсімдіктер саңырауқұлақтар мен бактериялық ауруларға төзімді келеді. Калийдің жетіспеушілігі кезінде жасушалардың бөліну процестері баяулайды, өсімдіктердің жапырақтары төменнен жоғары қарай сарғая бастайды. Кейінірек олардың жиектері мен ұштары қоңырланып, қурап үгітіліп қалады. K^+ жыл сайын егістіктен жиналатын өнімнің құрамында болып, топырақ құнарсызданады.

Натрий элементінің өсімдіктерде сіңірілу формасы Na^+ , қалыпты концентрациясы (құрғақ салмаққа шаққанда) қалдық күйінде. Өсімдіктерде көбірек мөлшерде болатын элементтерге натрийді де қосуға болады. Натрий өсімдіктердің құрғақ массасының 0,001-ден 4% – ға дейін құрайды. Тамыржемістілердің қанттылығын арттырады. Натрий глутаматы – өскіндердің өсуін реттеп, құрғақшылық, ылғалды және суық кезеңдеріндегі вегетациясының стресстік факторларға, минералды тыңайтқыштардың жоғары дозаларына төзімділігін арттырады.

Ауылшаруашылығында топырақ құнарсызданып, органикалық тыңайтқыштар (компост т.б.) мен минералдық тыңайтқыштарды пайдаланады. Азот, фосфор, калий тыңайтқыштарын төмендегі формула бойынша қосады.

Қорытынды

Республикамыздың дүниежүзіндегі дамыған 50 елдің құрамына кіру мақсатының бірі, бидай астығы өнімін арттыру, оның экономикалық деңгейін тұрақтандыру, әрі азық-түлік қауіпсіздігін қамтамасыз ету айтарлықтай маңызды. Осы орайда зерттеу нәтижелері көрсеткендей, белок мөлшері күздік қатты бидай «Қазақстанский янтарь» сортында басқа сорттармен салыстырғанда орташа есеппен 16%-ға жоғары болды, май мөлшері бойынша тритекленің «Таза» сорты 21,1%, көмірсу мөлшерінде айтарлықтай айырмашылық байқалмады, ал жасұнық мөлшері бойынша күздік жұмсақ бидай «Димаш» сортында 25,3% басым екендігі анықталды. Ал, макроэлементтер құрамын анықтау барысында салыстырмалы түрде күздік қара бидай тритикаленің «Таза» сортында элементтер мөлшері басым нәтиже көрсетті.

Әдебиеттер

1. Байтенов М.С. Флора Казахстана. – Алматы: Ғылым, 2001. – Т. 2. – 279 с.
2. Оразалиев Р.А. Қазақстан бидайы.-Алматы. Қайнар.-1989ж.-203б.
3. Байрақимов С.И. Экологические основы устойчивости пшеницы к грибным болезням. Алматы,- 2006.-348б.
4. П.Рейвн, Р.Эверт, С.Айкхорн Современный ботаника: Т.2. – Москва «Мир» 1990 г. Алматы: Бастау.- 2006. -168б.
5. «Жизнь растений» т.6., 1982;
6. Mahmood K. Salinity tolerance in barley (*Hordeum vulgare*, L.): effects of varying NaCl, K⁺/Na⁺ and NaHCO₃ levels on cultivars differing in tolerance // Pakistan Journal of Botany.-2011.-V.43(3).-P.1651-1654.
7. Жанзақов М.М. Егістік дақылдар селекциясы. Оқулық. Астана: Фолиант, 2015. – 416 б.
8. Anand Rajoria, Archana Mehta, Pradeep Mehta, Laxmi Ahirwal and Shruti Shukla. Phytochemical analysis and estimation of major bioactive compounds from *Triticum aestivum* L. grass with antimicrobial potential, Pak. J. Pharm. Sci Vol.28 No.6 (Suppl), November 2015, pp.2221-2225.
9. Vandana Pathak, Shubham Shrivastav. Biochemical studies on wheat (*Triticum aestivum* L.), Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2015; 4(3): 171-175
10. Жайлыбай К.Н., Тоқтамысова Ә.М., Жаздық бидай (биологиясы, өсіру технологиясы).- 11. Shirude Anup Ashok. Phytochemical and pharmacological screening of wheatgrass juice (*Triticum aestivum* l.), International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, Volume 9, Issue 1, July – August 2011; Article-029, Page 159-164.
12. Гуляев Г.В., Гужов Ю.Л. Селекция и семеноводство полевых культур. – М.: Агропромиздат, 1987. – 447 с.
13. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в Республике Казахстан. Сорта растений. Астана, 2016. – 244 с.
14. Yunus Şahin, Arzu Yıldırım, Buhara Yücesan, Nusret Zencirci, Şerafettin Erbayram and Ekrem Gürel, Phytochemical content and antioxidant activity of einkorn (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*), bread (*Triticum aestivum* L.), and durum (*Triticum durum* Desf.) wheat, Progress in Nutrition 2017; Vol. 19, N. 4: 00-00
15. Ишпайкина Е.И., Пушкарева В.М., Джембаев Ж.Т. Твердая головня пшеницы в Казахстане. – Труды Казахского НИИ защиты растений. Т.ХІ. – Алма-Ата: «Кайнар», 1972. – С.282-304.
16. Amadou Tidiane Sall, Tiberio Chiari, Wasihun Legesse, Kemal Seid-Ahmed. Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.): Origin, Cultivation and Potential Expansion in Sub-Saharan Africa. Agronomy 2019, 9, 263.
17. Katarína Kulichová, Jozef Sokol, Peter Nemeček, Mária Maliarová, Tibor Maliar, Michaela Havrlentová, Ján Kraic. Phenolic compounds and biological activities of rye (*Secale cereale* L.) grains. Open Chem., 2019; 17: 988–999.
18. Juha-Matti Pihlava, Jarkko Hellström, Tuula Kurtelius, Pirjo Mattila. Flavonoids, anthocyanins, phenolamines, benzoxazinoids, lignans and alkylresorcinols in rye (*Secale cereale*) and some rye products. , Journal of Cereal Science (2017)
19. Беспалова Л.А., Пучков Ю.М. Результаты и перспективы селекции пшеницы и тритикале. – Эволюция научных технологий в растениеводстве. – Краснодар, 2004. – С.17-25.
20. ГОСТ 10846-91, ГОСТ 29033-91. Зерно и продукты его переработки. Метод определения жира. Метод определения белка.
21. М-04-41-2005: Методика выполнения измерений массовой доли свободных форм водорастворимых витаминов в пробах премиксов, витаминных добавок, концентратов и смесей методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель-105». – С-Пб.: ООО «Льюмэкс», 2005.- 36 с.
22. ГОСТ Р 54634-2011. Продукты пищевые функциональные. Метод определения витамина Е.
23. Nabiyeva Zh., Kizatova M., Merdzhanov P., Angelova-Romova M., Zlatanov M., Antova G., Stoyanova A., Karadzhev G. Lipid Composition during the germination of Kazakhstan maize hybrid //Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2013.- №4.- P. 780-784.
24. ГОСТ EN 15505-2013. Продукты пищевые. Определение следовых элементов. Определение натрия и магния с помощью пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии с предварительной минерализацией пробы в микроволновой печи.
25. ГОСТ 26657-97. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения содержания фосфора.
26. Уразалиев Р. А., Кохметова А. М., Абсаттарова А. С. Состояние и перспективы селекции пшеницы в Казахстане. Развитие ключевых направлений сельскохозяйственной науки в Казахстане: селекция, биотехнология, генетические ресурсы. – Алматы, 2004. – С.17-23.
27. Р.Ә.Әлімқұлова, М.А.Тәргенова Өсімдік – табиғат қазынасы. – Алматы: Қайнар, 1984, – 152 б.
28. Скурихина И.М., Волгарев М.Н. Химический состав пищевых продуктов. Том 2 – М.: Агропромиздат, 1987. – 361 с.
29. Қалекенұлы Ж. Өсімдіктер физиологиясы: Оқулық. Ә.Е.Ережеповтың редакциялауымен толықтырылып, өңделген 2-басылымы. – Алматы, 2004. – 456 бет.
30. Грицай А.Д. Влияние средств химизации на продуктивность озимой пшеницы // Химизация сельского хозяйства. – 1991. – №10. – С.74-78.

References

1. Alymqulova R.A., Tartenova M. A. (1984) Osymdyq – tabiғat qazynasy. – Almaty: Qamar, – 152 b.
2. Amadou Tidiane Sall, Tiberio Chiari, Wasihun Legesse, Kemal Seid-Ahmed. Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.): Origin, Cultivation and Potential Expansion in Sub-Saharan Africa. Agronomy 2019, 9, 263.

3. Anand Rajoria, Archana Mehta, Pradeep Mehta, Laxmi Ahirwal and Shruti Shukla. (2015) Phytochemical analysis and estimation of major bioactive compounds from *Triticum aestivum* L. grass with antimicrobial potential, *Pak. J. Pharm. Sci* Vol.28 No.6 (Suppl), pp.2221-2225.
4. Baitenov M.S. (2001) Flora Kazahstana. – Almaty: Ğylym,– T. 2. – 279 s.
5. Bairakimov S.İ. (2006) Ekologicheskie osnovy ustoichivosti pšenisy k gribnym boleznam. Almaty,- 348b.
6. Bespalova L.A., Puchkov İ.U. (2004) Rezultaty i perspektivy seleksii pšenisy i tritikale. – Evolüsia nauchnyh tehnologi v rastenievodstve. – Krasnodar, – S.17-25.
7. Skurikhina İ.M., Volgarev M.N. (1987) Himicheski sostav pişevykh produktov. Tom 2 – M.: Agropromizdat. – 361 c.
8. Shirude Anup Ashok. (2011) Phytochemical and pharmacological screening of wheatgrass juice (*Triticum aestivum* L.), *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, Volume 9, Issue 1, July – August; Article-029, Page 159-164.
9. Guläev G.V., Gujov İ.U. (1987) Seleksia i semenovodstvo polevykh kültür. – M.: Agropromizdat,– 447 s.
10. Gosudarstvennyi reestr selekcionnykh dostijeni, dopuşennykh k ispolzovaniyu Respublike Kazahstan (2016) Sorta rasteni. Astana,– 244 s.
11. Grisai A.D. (1991) Vlianie sredstv himizatsii na produktivnost ozimoi pšenisy // Himizatsia selskogo hozäistva. –№10. – S.74-78.
12. GOST 10846-91, GOST 29033-91. Zerno i produkty ego pererabotki. Metod opredelenia jira. Metod opredelenia belka.
13. GOST R 54634-2011. Produkty pişevye funkcionälnye. Metod opredelenia vitamina E.
14. GOST EN 15505-2013. Produkty pişevye. Opredelenie sledovykh elementov. Opredelenie natria i magnia s pomöşü plamennoi atomno-absorbtsionnoi spektrometrii s predvaritelnoi mineralizatsiei proby v mikrovolnovoi pechi.
15. GOST 26657-97. Korma, kombikorma, kombikormovoe syre. Metod opredelenia soderjania fosfora.
16. İşpaikina E.İ., Puşkareva V.M., Jiembraev J.T. (1972) Tverdaia golovnä pšenisy v Kazahstane. – Trudy Kazahskogo Nİİ zaşity rasteni. T.XI. – Alma-Ata: «Kainar», – S.282-304.
17. «Jizn rasteni» T.6., 1982;
18. Janzaqov M.M. (2015) Egistik daqyldar seleksiasy. Oqulyq. Astana: Foliant – 416 b.
19. Jailybai K.N., Toqtamysova Ä.M. (2006) Jazdyq bidai (biologiasy, ösiru tehnologiasy).-Almaty: Bastau.-168b.
20. Juha-Matti Pihlava, Jarkko Hellström, Tuula Kurtelius, Pirjo Mattila (2017) Flavonoids, anthocyanins, phenolamines, benzoxazinoids, lignans and alkylresorcinols in rye (*Secale cereale*) and some rye products. , *Journal of Cereal Science*
21. Katarína Kulichová, Jozef Sokol, Peter Nemeček, Mária Maliarová, Tibor Maliar, Michaela Havrlentová, Ján Kraic (2019) Phenolic compounds and biological activities of rye (*Secale cereale* L.) grains. *Open Chem.*, 17: 988–999.
22. Mahmood K. (2011) Salinity tolerance in barley (*Hordeum vulgare*, L.): effects of varying NaCl, K⁺/Na⁺ and NaHCO₃ levels on cultivars differing in tolerance // *Pakistan Journal of Botany*.– V.43(3).–P.1651-1654.
23. M-04-41-2005: Metodika vypolnenia izmereni masovoi doli svobodnykh form vodorastvorimyykh vitaminov v probah premiksov, vitaminnykh dobavok, konsentratov i smesei metodom kapilärnogo elektroforeza s ispolzovaniem sistemy kapilärnogo elektroforeza «Kapel-105». – S-Pb.: OOO «Lümeks», 2005.- 36 s.
24. Nabieva Zh., Kizatoval M., Merdzhanov P., Angelova-Romova M., Zlatanov M., Antova G., Stouanova A., Karadzhov G. (2013) Lipid Composition during the germination of Kazakhstan maize hybrid // *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. –№4.- R. 780-784.
25. Orazaliev R.A. (1989) Qazaqstan bidaiy.-Almaty. Qainar.-203b.
26. Qalekenüly J. (2004) Ösimdikter fiziologiasy: Oqulyq. Ä.E.Erejepovtyñ redaksialauymen tolyqtyrylyp, öñdelgen 2-basylymy. – Almaty. – 456 bet.
27. Reivn P., Evert R., Aikhorn S. (2006) Sovremenniy botanika: T.2. – Mosvka «Mir» 1990 g. Almaty: Bastau.-168b.
28. Urazaliev R. A., Kohmetova A. M., Absattarova A. S. (2004) Sostoianie i perspektivy seleksii pšenisy v Kazahstane. Razvitie klüchevykh napravleni selskhozäistvennoi nauki v Kazahstane: seleksia, biotehnologia, geneticheskie resursy. – Almaty. – S.17-23.
29. Vandana Pathak, Shubham Shrivastav (2015) Biochemical studies on wheat (*Triticum aestivum* L.), *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*; 4(3): 171-175
30. Yunus Şahin, Arzu Yıldırım, Buhara Yücesan, Nusret Zencirci, Şerafettin Erbayram and Ekrem Gürel (2017) Phytochemical content and antioxidant activity of einkorn (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*), bread (*Triticum aestivum* L.), and durum (*Triticum durum* Desf.) wheat, *Progress in Nutrition*; Vol. 19, N. 4: 00-00

Zh.T. Tergenbaeva¹, L.N. Karasholakova², A.A. Kitapbaeva¹,
K.Zh. Dakieva¹ and A.A. Sumbembayev^{3*}

¹East Kazakhstan University named after S. Amanzholov, Kazakhstan, Ust-Kamenogorsk

²Zhetysay University named after I. Zhansugurov, Kazakhstan, Taldykorgan

³Altai botanical garden, Kazakhstan, Ridder

*e-mail: aydars@list.ru

DISTRIBUTION AND COENOFLORA OF *DAPHNE ALTAICA* (THYMELAEACEAE) – A RARE ENDEMIC SPECIES FROM EASTERN KAZAKHSTAN

Daphne altaica is a insufficiently explored rare endemic species from East Kazakhstan, which is of great scientific interest. The main goal of this study is to establish the actual habitats based on historical collections stored in the main herbarium repositories, as well as to study the flora of associated species for *D. altaica*. As a result of the study, data were obtained on the distribution and coenoflora of the rare endemic species *Daphne altaica* in East Kazakhstan. For additional clarification of the distribution sites of the species, herbarium materials dated 1840–1973 from the main repositories were studied: the Institute of Botany and Phytointroduction (AA), Altai State University (ALTB), Siberian Botanical Garden (NS) and Lomonosov Moscow State University (MW). The analysis carried out confirmed the narrow local distribution of the rare species throughout the territory of the Republic of Kazakhstan. Possible additional habitats of *D. altaica* included in the Red Data Book of Kazakhstan have been identified. The concentration of habitats falls on the floristic regions 22. Altai and 23. Tarbagatai. The distribution of the species is limited by the Kalba, Southern Altai, Sarymsakty, Narym, Azutau, Ulba, Uba, Tarbagatai, Western Tarbagatai and Saur ridges. When studying the coenoflora of *D. altaica*, the completeness of the species composition of the communities was established. The coenoflora of *D. altaica* includes 175 species of higher vascular plants belonging to 127 genera and 42 families. In terms of the spectrum of the 10 leading families, the coenoflora of *D. altaica* is noticeably similar to the flora of the entire East Kazakhstan. The results obtained are necessary for monitoring and searching for historical habitats of *D. altaica*, compiling the route of field expedition trips, finding areas in natural habitats, and establishing phytocenotic relationships in *D. altaica* communities.

Key words: Thymelaeaceae, East Kazakhstan, herbarium funds, inventory, floristic composition.

Ж.Т. Тергенбаева¹, Л.Н. Қарашолақова², А.А. Кітапбаева¹,
К.Ж. Дакиева¹, А.А. Сумбембаев^{3*}

¹С. Аманжолов атындағы Шығыс Қазақстан университеті, Қазақстан, Өскемен қ.

²І. Жансүгіров атындағы Жетісу университеті, Қазақстан, Талдықорған қ.

³Алтай ботаникалық бағы, Қазақстан, Риддер қ.

*e-mail: aydars@list.ru

Шығыс Қазақстандағы сирек кездесетін эндем *Daphne altaica* (Thymelaeaceae) өсімдігінің таралуы мен ценофлорасы

Daphne altaica – Шығыс Қазақстандағы аз зерттелген сирек эндемик түр, бұл ғылыми қызығушылықты тудырады. Бұл зерттеудің негізгі мақсаты – негізгі гербарий қоймаларында сақталған тарихи коллекциялар негізінде нақты мекендеу орындарын құру, сондай-ақ *D. altaica* үшін сабақтас түрлердің флорасын зерттеу. Зерттеу нәтижесінде Шығыс Қазақстанда сирек кездесетін эндем *Daphne altaica* түрінің таралуы мен ценофлорасы туралы мәліметтер алынды. Түрдің таралу орындарын қосымша нақтылау үшін Ботаника және фитоинтродукция институты (AA), Алтай мемлекеттік университеті (ALTB), Сібір ботаникалық бағы (NS) және Ломоносов атындағы Мәскеу мемлекеттік университетінің (MW) негізгі репозиторийлерінен 1840–1973 жылдардағы гербарий материалдары зерттелді. Жүргізілген талдау нәтижесінде сирек кездесетін түрдің Қазақстан Республикасының бүкіл аумағында сирек таралғанын растады. Қазақстанның Қызыл кітабына енгізілген *D. altaica* түрінің өсуі мүмкін жерлер белгіленді. Тіршілік ету ортасының шоғырлануы мынандай флористикалық аймақтарға келеді 22. Алтай және 23. Тарбағатай. Түрдің таралуы Қалба, Оңтүстік Алтай, Сарымсақты, Нарым, Азутау, Үлбі, Үбі, Тарбағатай, Батыс Тарбағатай және Сауыр жоталарымен шектелген. *D. altaica* ценофлорасын зерттеу кезінде

қауымдастықтардың түрлік құрамының толықтығы анықталды. *D. altaica* ценофлорасына 127 туыс және 42 тұқымдасқа жататын жоғары сатыдағы өсімдіктердің 175 түрі кіреді. Жетекші 10 тұқымдастың спектрі бойынша *D. altaica* ценофлорасы бүкіл Шығыс Қазақстанның флорасымен айтарлықтай ұқсас келеді. Алынған нәтижелер *D. altaica* өсімдігінің тарихи мекендеу орындарын бақылау және іздестіру, далалық экспедициялардың маршрутын құрастыру, табиғи мекендеу орындарында ареалдарды табу, *D. altaica* қатысатын қауымдастықтарда фитоценоздық байланыстарды орнату үшін қажет.

Түйін сөздер: Thymelaeaceae, Шығыс Қазақстан, гербарий фонды, инвентаризация, флоралық құрамы.

Ж.Т. Тергенбаева¹, А.Н. Карашолакова², А.А. Китапбаева¹,
К.Ж. Дакиева¹, А.А. Сүмбембаев^{3*}

¹Восточно-Казахстанский университет имени С. Аманжолова, Казахстан, г. Усть-Каменогорск

²Жетысуский университет им. И. Жансугурова, Казахстан, г. Талдыкорган

³Алтайский ботанический сад, Казахстан, г. Риддер

*e-mail: aydars@list.ru

Распространение и ценофлора *Daphne altaica* (Thymelaeaceae) – редкого эндемичного вида из Восточного Казахстана

Daphne altaica является малоизученным редким эндемичным видом из Восточного Казахстана, который вызывает повышенный научный интерес. Основной целью данного исследования является установление фактических мест произрастания на основе исторических сборов, хранящихся в основных гербарных репозиториях, а также изучение флоры сопутствующих видов для *D. altaica*. В результате проведенного исследования получены данные по распространению и ценофлоре редкого эндемичного вида *Daphne altaica* в Восточном Казахстане. Для дополнительного уточнения мест распространения произрастания вида были изучены гербарные материалы датированные 1840–1973 гг. из основных репозитариев: Институт ботаники и фитоинтродукции (АА), Алтайский государственный университет (АЛТВ), Сибирский ботанический сад (NS) и МГУ им Ломоносова (MW). Проведенный анализ подтвердил узколокальное распространение редкого вида на всей территории Республики Казахстан. Установлены возможные дополнительные места произрастания *D. altaica*, включенного в Красную Книгу Казахстана. Концентрация мест произрастания приходится на флористические районы 22. Алтай и 23. Тарбагатай. Распространение вида ограничено хребтами Калбинский, Южный Алтай, Сарымсақты, Нарымский, Азутау, Ульбинский, Убинский, Тарбагатай, Западный Тарбагатай и Саур. При изучении ценофлоры *D. altaica*, установлена полночленность видового состава сообществ. Ценофлора *D. altaica* насчитывает 175 видов высших сосудистых растений, принадлежащих к 127 родам и 42 семействам. По спектру 10 ведущих семейств ценофлора *D. altaica* заметно схожа со флорой всего Восточного Казахстана. Полученные результаты необходимы для мониторинга и поиска исторических мест произрастания *D. altaica*, составлению маршрута полевых экспедиционных выездов, нахождению ареалов в естественных местах произрастания и установлению фитоценологических связей в сообществах с участием *D. altaica*.

Ключевые слова: Thymelaeaceae, Восточный Казахстан, гербарные фонды, инвентаризация, флористический состав.

Introduction

Daphne altaica is an endemic, relict species with a limited abundance and narrow ecology (Figure 1) [1]. It is used in official and traditional medicine [2]. It has anticancer properties [3, 4] and other highly valuable chemical properties [5, 6]. Degree of rarity: according to the Red Book of the Republic of Kazakhstan – a rare species [1]; included in the IUCN list: status Data Deficient (DD) [7].

Much research has been done on the biology of *D. altaica* in phytochemistry [8, 9], introduction

[10], pharmacology [11, 12, 13], and anatomy [14]. At the same time, there is a limited number of studies on the distribution of *D. altaica* populations (Figure 2) in natural areas and in East Kazakhstan, in particular [15, 16, 17]. One of the effective methods for studying distribution is the inventory of herbarium collections.

Herbarium funds of the world contain about 480 million items [18]. They serve as a central resource for taxonomic and floristic research, including species discovery and description; means of verifying species identification; and accessible storage for formal deposit, for confirmation and

repeatability of botanical research. The following usual functions of herbariums remain important to botanical research: new species continue to be described, systematic relationships are always subject to revision, nomenclature is regularly updated, and documentation and biodiversity studies become increasingly important. Research increasingly uses herbarium specimens to answer questions on

time and space scales. Herbarium samples have been used to test the prevalence of rapid evolution in introduced species [19], to quantify long-term phenological shifts as a result of climate change [20], to evolve secondary production of metabolites [21], to determine the phylogeography of a fungal strain [22], and to map the spread of diseases plants [23].



Figure 1 – Flowers of *D. altaica*



Figure 2 – Populations of *D. altaica*

The study of individual species collected at different times makes it possible to compare fluctuations in the size of populations of rare species and track colonization routes of invasive species [24, 25]. The herbarium fund is also of interest for the ecology of the species – to assess progress in achieving global conservation goals and promote the adoption of environmentally sustainable solutions to biodiversity problems [26, 27, 28].

The climatic conditions of the studied region – East Kazakhstan are determined, first of all, by its location in the center of the Eurasian continent with a relatively equal distance from the oceans, the proximity of the deserts of Mongolia and Central Asia, as well as the position in the system of continental-ocean transport of air masses [29]. Soils, as a rule, are light chestnut soils, which form the main background, against which the vertical range of soils characteristic of the region is manifested: dark chestnut, steppe chernozems and forest-steppe, gray forest soils, mountain taiga acid soils, and mountain meadow soils [30].

The purpose of the research was to clarify and supplement the information on the presence and distribution of *D. altaica* in various floristic regions of East Kazakhstan, as well as to study the

coenoflora of communities with the participation of *D. altaica*.

Materials and methods

To further clarify the species composition and distribution of species of the genus *Daphne*, an inventory of the herbarium material of the study area was carried out. To compile a summary of the species, materials from the main repositories were processed: the Herbarium Fund of the Institute of Botany and Phytointroduction (AA) – more than 50 herbarium sheets, Altai State University (ALTB) – 10 sheets, the Siberian Botanical Garden (NS) – 10 sheets, and Lomonosov Moscow State University (MW) – more than 20 herbarium sheets [31]. Herbarium samples are presented from different places of the Republic of Kazakhstan and dated 1840-1973.

The Latin names of the species are given according to the international platform Plants of World (POWO). Nomenclature citations are based on the “World checklist of selected plant families” system [32]. Geographical zoning and names of mountain ranges are indicated according to the “Physical Map of Kazakhstan”. The names

of floristic regions are given according to the academic publication “Flora of Kazakhstan” [33].

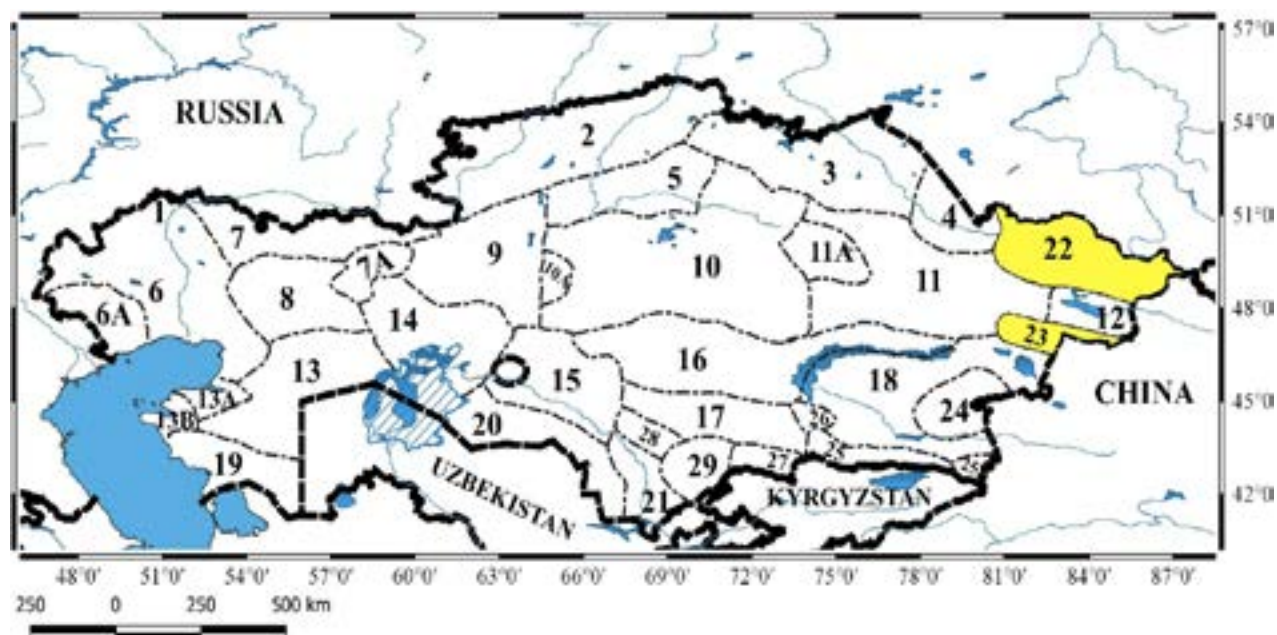
Mapping of locations was carried out in the Qgis 3.12.0-București program. The rarity category and species status are specified in accordance with “The IUCN Red List of Threatened Species” [7].

Results and discussion

The disappearance of populations poses a serious threat to plants, leading to a reduction in the

range, fragmentation, and isolation of species [34, 35, 36, 37].

As a result of the inventory of herbarium samples of *D. altaica* in the Herbarium Fund of the Institute of Botany (AA), Altai State University (ALTB), Siberian Botanical Garden (NS) and in the digital herbarium of Moscow State University – Depository of Living Systems “Noah’s Ark” (MW), were found additional actual places of growth. The main concentration of historical finds is given for the floristic regions 22. Altai and 23. Tarbagatai (Figure 3).



1. Spurs of the General Syrt (Sp. gen. Syrt); 2. Tobol-Ishim (Tob.-Ishim); 3. Irtysh (Irt.); 4. Semipalatinsk pinery (Semip. pin.); 5. Kokchetav (Kokch.); 6. Caspian (Casp.); 6a. Bukeyev; 7. Aktobe; 7a. Mugodzhary (Mugodzh.); 8. Emba; 9. Turgai; 10. Western upland (West. upl.); 10a. Ulutau; 11. East upland (East upl.); 11a. Karkaraly (Kark.); 12. Zaysan; 13. Northern Ust-Urt (North. Ust-Urt); 13a. Buzachi; 13b. Mangyshlak (Mangysh.); 14. Aral; 15. Kzyl Orda; 16. Betpak-Dala; 17. Muyunkum; 18. Balkhash-Alakol (Balkh.-Alak.); 19. South Ust-Urt; 20. Kzyl-Kum; 21. Turkestan (Turk.); 22. Altai; 23. Tarbagatai (Tarb.); 24. Dzungarian Alatau (Dzung. Alat.); 25. Ile Kungei Alatau (Ile Kung. Alat.); 25a. Ketmen Terskey Alatau (Ketm.Tersk. Alat.); 26. Chu-Ili mountains (Chu-Ili moun.); 27. Kyrgyz Alatau (Kyrg. Alat.); 28. Karatau (Karat.); 29. Western Tien Shan (West T.Sh.).

Figure 3 – Map-scheme of floristic regions of Kazakhstan

The summaries of herbarium sheets of *D. altaica* identified during the inventory of repositories are given below. Nomenclature quotations were compiled with a list of generally accepted synonyms. Original labels have been cited for actual growing locations.

Family Thymelaeaceae Juss., Gen. Pl. [Jussieu] 76. 1789 [4 Aug 1789] (as “Thymelaeae”) (1789).

Genus *Daphne* Tourn. ex L., Sp. Pl.: 356 (1753). – ***Mezereum* C.A. Mey, Bull. Cl. Phys.-Math. Acad. Imp. Sci. Saint-Petersbourg 1: 358**

(1843). – *Thymelaea* All., Stirp. Litt. Agri Nicaeen.: 25 (1757).

Daphne altaica Pall., Fl. Ross. 1(1): 53 1784. – *Daphne altaica* subsp. *fasciculiflora* (T.Z. Hsu) Halda, Acta Mus. Richnov., Sect. Nat. 4: 67 (1997), *Daphne fasciculiflora* T.Z. Hsu, Guihaia 10: 290 (1990), – *Daphne indica* Schangin, Neueste Nord. Beytr. Phys. Geogr. Erd- Völkerbeschreib. 6: 109 1793. – *Daphne undulata* Raf., Autik. Bot. 145 1840.

22. Altai:

Kalba Highlands: Kalba Ridge (small hills on the way to Kokpekty, 10.VII.1967, Stepanova E.F. (AA); Ulansky district, Koktau mountains, sporadically in the shrub belt, 11.VI.1970, Snegirev V.A. (AA), 5 km N. Asu-Bulak, 05.VIII.1971, Mikheeva N.N. (AA), Ergentau, 06.VIII.1971, Mikheeva N.N. (AA)).

Southern Altai: Southern Altai Ridge (1840, Karelin G., Kirilow J. (AA); tract “Cheeks” on the tract Malokrasnoyarsky settlement, Katon, Karakaba, 23.VII.1919, Vereshchagin V. (NS)); Sarymsakty Ridge (Bolshenarymsky district, vicinity of Maimyr settlement, 11.VIII.1972, M.G. Pimenov, L. Sdobnina, E. Klyuykov (MW)); Narym Range (Baltabay Mountains, 28.VII.1966, Stepanova E.F. (AA)); Azutau Ridge (Markakolsky district, Mramornaya town, north of Nikolaevka village, 1.VIII.1972, M.G. Pimenov, L. Sdobnina, E. Klyuykov (MW)); Mramornaya Gora Pass at the foot of rocks, on shale talus, 23.VI.1988, Nesterenko V.P. (ALTB)).

Western Altai: Ulba Ridge (Zyryanovsky mine, in thickets of steppe shrubs, 06/25/1925, Vereshchagin V.N. (NS); outskirts of Ust-Kamenogorsk, in shrubs on a steep slope of the left bank of the Ulba river above the city, 05. VI.1931, B.K. Gornaya Ulbinka, 25.VIII.1972, Pimenov M.G., Sdobnina L., Klyuykov E. (MW)); Uba Ridge (spurs, near the village of Sekisovka, 29.VII.1972, Pimenov M.G. (MW)); near the village of Verkhnyaya Ubinka, 29.VIII.1972, Pimenov M.G. (MW); spurs, near the village of Belokamenka, 29.VIII.1973, Pimenov M.G. (MW)).

23. Tarbagatai:

Tarbagatai: Tarbagatai Ridge (Songaria, In m. Tarbagatai, 1841, Schrenk A.G. (AA); intermontane valley between Western Tarbagatai and Kzyl-Beltau mountains, floodplain of the Terektinka River, 17.VII.1947, Gamayunova A.P. (AA) ; Urdzharsky District, intermountain plain, floodplain of the Terektinka river along Blagodatnoe

village, thickets of shrubs, 17.VII.1947, Gamayunova A.P. (AA); southern slope, gorge of the Ak-Choka river, among rose gardens, 28. VII.1948, Stepanova E.F. (AA), Baymurza pass, northern slope, 06.VII.1958, Stepanova E.F. (AA), southern slopes, 30 km northeast of Urdzhar village, rocky gorge, 11.VIII.1959, Goloskokov V.P. (NS); Semipalatinsk oblast, steppe forestry enterprise, Urdzhar tract, mountain macroslope of Central Tarbagatai, 03.IX.1972, Gribanov L.N. (AA)); Urdzharsky district, Besterek, Valet tract, 23.V.1977, Petrova T. (NS); Semipalat. region, Urdzhar district, southern slope of Tarbagatai, 8 km from the village Alekseevka, 23.VIII.1979, Klyuykov E. (MW)); Western Tarbagatai Ridge (near the village of Urdzhar, 29.VI.1956, Bykov B.A. (AA); southern slopes, 30 km northeast of the village of Urdzhar, rocky gorge, 11.VIII.1959, Blokhin V.G.(AA)).

Sauro-Manrak: Saur ridge (Zaisan forestry, Temir-su river valley, below the forest cordon, 11.VIII.1969, L.N. Gribanov (AA); 5 km south of Shargutsu village, 84°48' e. and 47°16' N, thickets of shrubs, May 26, 2000, Smirnov S.V., Antonyuk E.V. (ALTB)).

As a result of the inventory, it was found that the distribution of the endemic species is limited by the Kalba, Southern Altai, Sarymsakty, Narym, Azutau, Ulba, Uba, Tarbagatai, Western Tarbagatai, Saur ridges (Figure 4). The data obtained additionally confirm the high endemism of the studied species and the need for full protection of all known localities.

The second important task in the study of *D. altaica* was the study of the coenoflora of the communities that this species may belong to. An analysis of the species composition of the communities, with the participation of *D. altaica*, showed the completeness of the flora of the populations. It was found that the coenoflora of *D. altaica* includes 175 species of higher vascular plants belonging to 127 genera and 42 families. In ecological terms (Figure 5), the basis of coenoflora is mesophytes – 53%, xeromesophytes 24%, xerophytes 18% and mesohygrophytes – 5% are represented in a smaller proportion. The predominant life form is herbaceous vegetation – 141 (80%) species, a small proportion of shrubs and trees – 34 (20%) species. The main species abundance falls on the families Poaceae Barnhart (13.7%), Asteraceae Dumort. (13.1%), Fabaceae Lindl. (10.8%), Rosaceae Juss. (10.3%), Ranunculaceae Juss. (6.2%), Apiaceae Lindl. (5.1%), Lamiaceae Martinov (4.5%).



Figure 4 – Distribution of *D. altaica* in East Kazakhstan

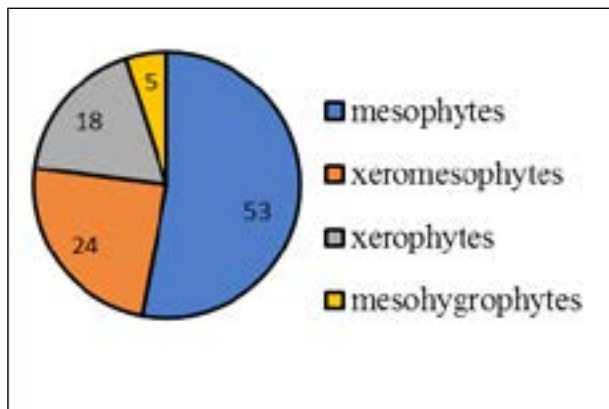


Figure 5 – Ecological structure of *D. altaica* coenoflora

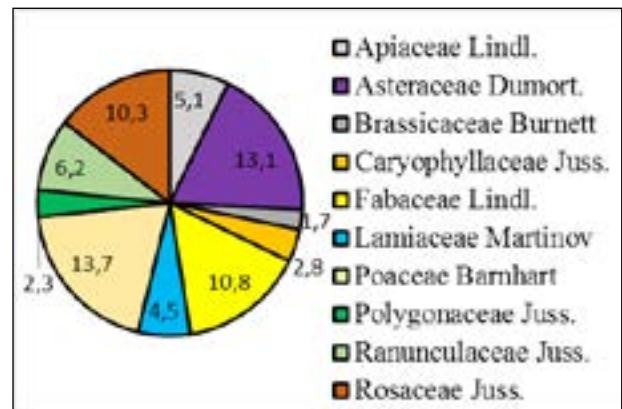


Figure 6 – Leading families of the *D. altaica* coenoflora

Composition of *D. altaica* coenoflora:

Alliaceae J.G. Agardh.

Allium caeruleum Pall.

Amaranthaceae Juss.

Chenopodium album L.

Apiaceae Lindl.

Angelica sylvestris L.; *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm.; *Bupleurum longifolium* subsp. *aureum* (Fisch. ex Hoffm.) Soo; *B. scorzonrifolium* Willd.;

Conium maculatum L.; *Heracleum sibiricum* L.; *Ferula soongarica* Pall. ex Spreng.; *Peucedanum ruthenicum* Bieb.; *Pleurospermum uralense* Hoffm.

Asparagaceae Juss.

Asparagus officinalis L.

Asteraceae Dumort.

Achillea millefolium L.; *Alfredia cernua* (L.) Cass.; *Artemisia absinthium* L.; *A. austriaca* Jacq.; *A. glauca* Pall. ex Willd.; *A. sericea* Web.; *A.*

sieversiana Willd.; *A. vulgaris* L.; *Cacalia hastata* L.; *Centaurea sibirica* L.; *Cichorium intubus* L.; *Cirsium helenioides* (L.) Hill; *C. serratuloides* (L.) Hill.; *Echinops sphaerocephalus* L.; *Echium vulgare* L.; *Galatella punctata* (Wakdst. Et Kit.) Nees; *Hieracium umbellatum* L.; *Ligularia glauca* (L.) O. Hoffm.; *Pyrethrum kelleri* (Kryl. et Plotn.) Krasch.; *Serratula coronata* L.; *Solidago virgaurea* L.; *Sonchus arvensis* L.; *Tragopogon pratensis* L.

Betulaceae Gray

Betula pendula Roth.

Boraginaceae Juss.

Myosotis krylovii Serg.; *M. sparsiflora* Pohl.; *Pulmonaria mollis* Wulf. ex Hornem.

Brassicaceae Burnett

Bunias orientalis L.; *Draba sibirica* (Pall.) Thell.; *Hesperis sibirica* L.

Campanulaceae Juss.

Campanula glomerata L.; *Adenophora lilifolia* (L.) A. DC.

Cannabaceae Martinov

Cannabis ruderalis Janisch.; *Humulus lupulus* L.

Caprifoliaceae Juss.

Lonicera altaica Pall.; *L. tatarica* L.,

Caryophyllaceae Juss.

Dianthus superbus L.; *Cerastium pauciflorum* Stev. ex Ser.; *Melandrium album* (Mill.) Garcke; *M. latifolium* (Poir.) Maire; *Stellaria graminea* L.

Convolvulaceae Juss.

Calystegia sepium (L.) R. Br.; *Convolvulus arvensis* L.; *Cuscuta europaea* L.

Cupressaceae Bartlett

Juniperus sibirica Burgsd.

Cyperaceae Juss.

Carex macroura Meinsh.; *C. pallescens* L.

Euphorbiaceae Juss.

Euphorbia latifolia C.A. Mey.

Fabaceae Lindl.

Astragalus danicus Retz.; *A. schanginianus* Pall.; *A. vereschaginii* Kryl. et Sumn.; *Caragana arborescens* Lam.; *C. frutex* (L.) C. Koch; *Lathyrus gmelinii* Fritsch.; *L. pisiiformis* L.; *L. pratensis* L.;

L. tuberosus L.; *L. vernus* (L.) Bernh.; *Medicago falcata* L.; *M. lupulina* L.; *Trifolium lupinaster* L.; *T. pratense* L.; *Vicia megalotropis* Ledeb.; *V. sepium* L.; *V. cracca* L.; *V. sepium* L.; *V. tetrasperma* (L.) Schreb.

Geraniaceae Juss.

Geranium pseudosibiricum J. Mayer; *G. pratense* L.

Hypericaceae Juss.

Hypericum perforatum L.

Iridaceae Juss.

Iris ruthenica Ker-Gawl.

Lamiaceae Martinov

Dracocephalum nutans L.; *Galeopsis tetrahit* L.; *Glechoma hederaceae* L.; *Lamium album* L.; *Leonurus glaucescens* Bunge; *Origanum vulgare* L.; *Phlomis tuberosa* (L.) Moench; *Salvia nemorosa* L.

Liliaceae Juss.

Erythronium sibiricum (Fisch. et C.A. Mey.) Kryl.; *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Misch.

Malvaceae Juss.

Lavatera thuringiaca L.

Melanthiaceae Batch ex Borkh.

Veratrum nigrum L.

Onagraceae Juss.

Chamaenerion angustifolium (L.) Scop.

Paeoniaceae Rudolphi

Paeonia anomala L.; *P. hybrida* Pall.

Papaveraceae Juss.

Chelidonium majus L.

Pinaceae Lindl.

Abies sibirica Ledeb.; *Larix sibirica* Ledeb.; *Picea obovata* Ledeb.

Plantaginaceae Juss.

Plantago media L. *P. major* L.; *Veronica krylovii* Schischk.

Poaceae Barnhart

Agropyron pectinatum (Bieb.) Beauv.; *Alopecurus pratensis* L.; *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv.; *B. inermis* (Leyss.) Holub; *Calamagrostis*

epigeios (L.) Roth; *Dactylis glomerata* L.; *Elymus mutabilis* (Drob.) Tzvel.; *Elytrigia repens* (L.) Nevski; *E. nevskii* Tzvel.; *Festuca altissima* All.; *F. pratensis* Huds.; *F. valesiaca* Gaudin; *Koeleria cristata* (L.) Pers.; *Melica altissima* L.; *M. nutans* L.; *Phleum phleoides* (L.) Karst.; *P. pretense* L.; *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.; *Poa angustifolia* L.; *P. attenuata* Trin.; *P. pratensis* L.; *P. sibirica* Roshev.; *Schizachne callosa* (Turcz.ex Griseb.) Ohwi; *Setaria virides* (L.) Beauv.

Polygonaceae Juss.

Aconogonon alpinum (All.) Schur; *Fallopia convolvulus* (L.) A. Löve; *Rumex confertus* Willd.; *Polygonum aviculare* L.

Primulaceae Vent.

Primula macrocalyx Bunge

Ranunculaceae Juss.

Aconitum septentrionale Koelle; *A. volubile* Pall. ex Koelle; *Adonis wolgensis* Stev.; *Anemone sylvestris* L.; *Cimicifuga foetida* L.; *Clematis integrifolia* L.; *Delphinium dictyocarpum* DC.; *D. elatum* L.; *Pulsatilla patens* Mill.; *Thalictrum flavum* L.; *T. simplex* L.

Rhamnaceae Juss.

Rhamnus cathartica L.

Rosaceae Juss.

Agrimonia pilosa Ledeb.; *Cotoneaster melanocarpus* Fisch.ex Blytt; *Crataegus chlorocarpa* Lenné et C. Koch.; *C. sanguinea* Pall.; *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.; *F. vulgaris* Moench; *Fragaria virides* Duch; *Padus avium* Mill.; *Potentilla chrysantha* Trev.; *Rosa acicularis* Lindl.; *R. pimpinellifolia* L.; *Rubus caesius* L.; *R. saxatilis* L.; *Sorbus sibirica* Hedl.; *Spiraea chamaedrifolia* L.; *S. hypericifolia* L.; *S. media* Franz Schmidt; *S. trilobata* L.

Rubiaceae Juss.

Galium boreale L.; *G. verum* L.

Rutaceae Juss.

Dicthamnus angustifolius G. Don. ex Sweet

Salicaceae Mirb.

Populus tremula L.; *Salix bebbiana* Sarg.; *S. caprea* L.

Thymelaeaceae Juss.

Daphne altaica Pall.

Urticaceae Martinov

Urtica dioica L.

Viburnaceae Rafin.

Viburnum opulus L.

Violaceae Batsch

Viola canina L.; *V. macroceras* Bunge

The presence of weed species: *Heracleum dissectum* Ledeb., *Sonchus arvensis* L., *Cannabis ruderalis* Janisch., *Humulus lupulus* L., *Cuscuta europaea* L. and *Urtica dioica* L. confirms the presence of anthropogenic pressure on the studied populations. When comparing the coenoflora of *D. altaica* with the flora of East Kazakhstan (Table 1), it was found that the families Apiaceae Lindl., Brassicaceae Burnett, Fabaceae Lindl., Ranunculaceae Juss. and Rosaceae Juss. differ markedly in the share of participation in the formation of the floristic composition. This is due to the low number of mesohygrophytic species and the predominant number of xerophytic and xeromesophytic species characteristic of the steppe slopes of East Kazakhstan. Spearman's rank correlation coefficient is 0.56, i.e. communication is moderate and direct. In terms of the spectrum of the 10 leading families, the coenoflora of *D. altaica* is noticeably similar to the flora of East Kazakhstan. A high percentage of species belonging to the main 10 families – 70.5%, indicates a significant degree of anthropogenic pressure and flora transformation, which is noticeably higher than the general indicators for East Kazakhstan – 51.8%.

Table 1 – Leading families of the coenoflora *D. altaica* according to the number of species and genera

Family	Coenoflora of <i>D. altaica</i> populations		Flora of East Kazakhstan
	Number of genera, % of the total number	Number of species, % of the total number	Number of species, % of the total number
Apiaceae Lindl.	8/6,3	9/5,1	71/2,9
Asteraceae Dumort.	17/13,4	23/13,1	324/13,3

Continuation of the table

Family	Coenoflora of <i>D. altaica</i> populations		Flora of East Kazakhstan
	Number of genera, % of the total number	Number of species, % of the total number	Number of species, % of the total number
Brassicaceae Burnett	3/2,4	3/1.7	120/5,2
Caryophyllaceae Juss.	4/3,1	5/2.8	81/3,3
Fabaceae Lindl.	6/4,7	19/10.8	183/7,5
Lamiaceae Martinov	8/6,3	8/4.5	77/3,2
Poaceae Barnhart	16/12,6	24/13.7	308/12,6
Polygonaceae Juss.	4/3,1	4/2.3	40/1,6
Ranunculaceae Juss.	8/6,3	11/6.2	10/4,2
Rosaceae Juss.	11/8,7	18/10.3	109/4,5
Бсєє	85/66,9	124/70,5	1256/51,8

Conclusion

As a result of the inventory of herbarium specimens, additional actual habitats of *D. altaica* were established. The main concentration of historical finds falls on the floristic regions 22. Altai and 23. Tarbagatai. As a result of the inventory, it was found that the distribution of the endemic species is limited by the Kalba, Southern Altai, Sarymsakty, Narym, Azutau, Ulba, Uba, Tarbagatai, Western Tarbagatai, and Saur ridges. Thus, the high narrow local endemism of the species is confirmed.

Analysis of the coenoflora of *D. altaica* showed the completeness of the flora of populations. It was found that the coenoflora of *D. altaica* includes 175 species of higher plants, from 127 genera and 42 families. In ecological terms, the basis of coenoflora is mesophytes – 53%, xeromesophytes 24%, xerophytes 18% and mesohygrophytes – 5% are represented in a smaller proportion. The predominant life form is herbaceous vegetation – 141 (80%) species, a small proportion of shrubs and trees – 34 (20%) species. The main species abundance falls on the families Poaceae Barnhart (13.7%), Asteraceae Dumort. (13.1%), Fabaceae Lindl.

(10.8%), Rosaceae Juss. (10.3%), Ranunculaceae Juss. (6.2%), Apiaceae Lindl. (5.1%), Lamiaceae Martinov (4.5%). In terms of the spectrum of the 10 leading families, the coenoflora of *D. altaica* is noticeably similar to the flora of East Kazakhstan.

The results obtained are necessary for monitoring and searching for historical habitats of *D. altaica*, compiling the route of field expedition trips, finding areas in natural habitats, and establishing phytocenotic relationships in *D. altaica* communities.

Conflict of interest

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

Source of financing

The article was prepared with the financial support of Science Technical Program “Development of scientific and practical foundations and innovative approaches to plant introduction in natural zones of Western and Eastern Kazakhstan for rational and effective use in landscaping, gardening and environmental protection” of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan for 2021-2022.

References

- 1 Красная Книга Казахстана. – Изд. 2–е, переработанное и дополненное. Том 2: Растения (колл. авт.).– Астана, 2014. – 452 с.
- 2 Kizaibek M. et al. Antiproliferative activity of different extracts from *Daphne altaica* Pall. on selected cancer cells // Journal of Medicinal Plants Research. – 2011. – Т. 5. – №. 15. – С. 3448-3452.
- 3 Kizaibek M. et al. LC-MS-based phytochemical characterization of an antiproliferative *Daphne altaica* stem bark extract // Planta Medica. – 2015. – Т. 81. – №. 16. – С. PM_114.
- 4 Kizaibek M. et al. Chemical Constituents of the Stem Bark of *Daphne altaica* // Chemistry of Natural Compounds. – 2019. – Т. 55. – №. 6. – С. 1150-1152.

- 5 Nugroho A. E. et al. Daphnane diterpenoids from *Daphne altaica* //Natural product communications. – 2016. – Т. 11. – №8. – С. 1934578X1601100809.
- 6 Kizaibek M. et al. Effects of an ethyl acetate extract of *Daphne altaica* stem bark on the cell cycle, apoptosis and expression of PPAR γ in Eca 109 human esophageal carcinoma cells //Molecular Medicine Reports. – 2020. – Т. 22. – №. 2. – С. 1400-1408.
- 7 IUCN 2020. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2019-3. <http://www.iucnredlist.org>.
- 8 Sovrlić M. M., Manojlović N. T. Plants from the genus *Daphne*: A review of its traditional uses, phytochemistry, biological and pharmacological activity //Serbian Journal of Experimental and Clinical Research. – 2017. – Т. 18. – №. 1. – С. 69-79.
- 9 Bahytjan S. et al. Chemical constituents of ethanol extracts from *Daphne altaica* pall and their pro-apoptotic role in cancer cell //Tianjin Medical Journal. – 2015. – Т. 43. – №. 2.
- 10 Kondratyuk-Stoyan V. G. *Daphne altaica* Pall. under conditions of culture //Plant Introduction. – 2000. – Т. 5. – С. 38-40.
- 11 Moshiaishvili G., Tabatadze N., Mshvildadze V. The genus *Daphne*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology //Fitoterapia. – 2020. – Т. 143. – С. 104540.
- 12 Nie Y. W. et al. Phytochemistry and Pharmacological Activities of the Diterpenoids from the Genus *Daphne* //Molecules. – 2021. – Т. 26. – №. 21. – С. 6598.
- 13 TianTian Z. et al. Identification and quantification of chemical constituents in *Daphne altaica* and their antioxidant and cytotoxic activities //International Journal of Agriculture and Biology. – 2019. – Т. 22. – №. 5. – С. 985-992.
- 14 Mchedlidze K. et al. Anatomical structure of the stem and leaf of *Daphne glomerata* Lam //Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. – 2019. – Т. 8. – №. 4. – С. 3241-3244.
- 15 Baitulin I., Myrzagaliev A., Samarkhanov T. New localities of endemic and relic species of flora in east Kazakhstan// News of national academy of sciences of the republic of Kazakhstan. Series of biological and medical. – 2018. – Vol. 1. – № 325. – 10-14.
- 16 Котухов Ю. А., Данилова А. Н., Ануфриева О. А. Волчегодник алтайский (*Daphne altaica* Pall.) – редкий, исчезающий вид флоры Казахстанского Алтая// Ботанические исследования Сибири и Казахстана. – 2018. – №. 24. – С. 56-77.
- 17 Olonova M. V. et al. Rare and endangered plant species of the Chinese Altai Mountains //干旱区科学. – 2010. – Т. 2. – №3. – С. 222-230.
- 18 Thiers B. The world's herbaria 2016: A summary report based on data from Index Herbariorum. Available at <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/> [accessed 13 March 2017].
- 19 Buswell J.M., Moles A.T., and Hartley S. Is rapid evolution common in introduced plant species? // Journal of Ecology. – 2011. – 99. – P. 214 – 224.
- 20 Davis C.C., Willis C.G., Connolly B., Kelly C., and Ellison A. M. Herbarium records are reliable sources of phenological change driven by climate and provide novel insights into species' phenological cueing mechanisms// American Journal of Botany. – 2015. – 102. – P. 1599 – 1609.
- 21 Zangerl A.R., and Berenbaum M.R. Increase in toxicity of an invasive weed after reassociation with its coevolved herbivore// Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. – 2005. – 102. – P. 15529 – 15532.
- 22 Saville A.C., Martin M.D., and Ristaino J.B. Historic late blight outbreaks caused by a widespread dominant lineage of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. // PLoS One. – 2016. – 11: e0168381.
- 23 Hood M.E., Mena-Aln J.I., Gibson A.K., Oxelman B., Giraud T., Yockteng R., Arroyo M.T.K. et al. Distribution of the anther-smut pathogen *Microbotryum* on species of the Caryophyllaceae // New Phytologist. – 2010. – 187. P. 217 – 229.
- 24 Wandeler, Peter, Paquita EA Hoeck, and Lukas F. Keller. Back to the future: museum specimens in population genetics. Trends in Ecology & Evolution. – 2007. – Vol. 22. – № 12. P. 634-642.
- 25 Matsuhashi S., Kudoh H., Maki M., Cartolano M., Tsiantis M., Itagaki T., and Sakai S. "Invasion History of *Cardamine hirsuta* in Japan Inferred from Genetic Analyses of Herbarium Specimens and Current Populations."// Biological Invasions. – 2016. – 18 (7). – P. 1939–1951. doi:10.1007/s10530-016-1139-9.
- 26 Braat L.C., & de Groot R. The ecosystem services agenda: bridging the worlds of natural science and economics, conservation and development, and public and private policy. // Ecosystem Services, – 2012. – 1(1). – P. 4–15. doi:10.1016/j.ecoser.2012.07.011
- 27 Ferrier S., Powell G.V.N., Richardson K.S., Manion G., Overton J.M., Allnutt T.F. et al. Mapping more of terrestrial biodiversity for global conservation assessment. // BioScience. – 2004. – 54 (12). – P. 1101–1109.
- 28 Pereira H.M., & Cooper H.D. Towards the global monitoring of biodiversity change. // Trends in Ecology & Evolution. – 2006. – 21 (3). – P. 123–9. doi:10.1016/j.tree.2005.10.015
- 29 Байтулин И.О., Котухов Ю.А. Флора сосудистых растений Казахстанского Алтая. Алматы, 2011. – 160 с.
- 30 Котухов Ю.А., Данилова А.Н., Ануфриева О.А. Современное состояние популяций редких и исчезающих растений Восточного Казахстана. Алматы: 2006. – 177 с.
- 31 Серегин А. П. (ред.) Коллекция "Гербарий МГУ" // Депозитарий живых систем "Ноев Ковчег" (направление "Растения"): Электронный ресурс. – М.: МГУ, 2022.
- 32 World Checklist of Selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://wmsp.science.kew.org/> Retrieved.
- 33 Flora of Kazakhstan. –Alma-Ata: AN KazSSR,1958. – vol. 2 – 290.
- 34 Oostermeijer J. G. B. Threats to rare plant persistence. In Population viability in plants. Springer Berlin Heidelberg. – 2003. – P. 17-58.
- 35 Harrison S. & Bruna E. Habitat fragmentation and large-scale conservation: What do we know for sure? // Ecography. – 1999. – 22(3). – P. 225-232.

- 36 Kéry M., Spillmann J.H., Truong C. & Holderegger R. How biased are estimates of extinction probability in revisitation studies? // *Journal of Ecology*. – 2006 – 94. – P. 980–986.
- 37 Matthies D., Bräuer I., Maibom W., & Tschardt T. Population size and the risk of local extinction: empirical evidence from rare plants. // *Oikos*. – 2004. – 105 (3). – P. 481-488.

References







- 1 Bahytjan, S., Kizaibek, M., Bahytjan, D., Sawytbai, P., Kasymkan, R., & Jumabai, A. (2015). Chemical constituents of ethanol extracts from *Daphne altaica* pall and their pro-apoptotic role in cancer cell. *Tianjin Medical Journal*, 43(2).
- 2 Baitulin I., Myrzagaliyeva A., Samarkhanov T. (2018). New localities of endemic and relic species of flora in east Kazakhstan. *News of national academy of sciences of the republic of Kazakhstan. Series of biological and medical*. – 1 (325). – 10-14.
- 3 Baitulin I.O., Kotukhov Yu.A. (2011). *Flora of vascular plants of the Kazakhstan Altai [Flora sosudistyh rastenij Kazahstanskogo Altaja]*. Almaty. – 160 p.
- 4 Braat, L. C., & De Groot, R. (2012). The ecosystem services agenda: bridging the worlds of natural science and economics, conservation and development, and public and private policy. *Ecosystem services*, 1(1), 4-15.
- 5 Buswell, J. M., Moles, A. T., & Hartley, S. (2011). Is rapid evolution common in introduced plant species?. *Journal of Ecology*, 99(1), 214-224.
- 6 Davis, C. C., Willis, C. G., Connolly, B., Kelly, C., & Ellison, A. M. (2015). Herbarium records are reliable sources of phenological change driven by climate and provide novel insights into species' phenological cueing mechanisms. *American Journal of Botany*, 102(10), 1599-1609.
- 7 Ferrier, S., Powell, G. V., Richardson, K. S., Manion, G., Overton, J. M., Allnutt, T. F., ... & Van Rompaey, R. S. (2004). Mapping more of terrestrial biodiversity for global conservation assessment. *BioScience*, 54(12), 1101-1109.
- 8 *Flora of Kazakhstan*. (1958). Alma-Ata: AN KazSSR, – vol. 2 – 290 p.
- 9 Harrison, S., & Bruna, E. (1999). Habitat fragmentation and large-scale conservation: what do we know for sure? *Ecography*, 22(3), 225-232.
- 10 Hood, M. E., Mena-Alí, J. I., Gibson, A. K., Oxelman, B., Giraud, T., Yockteng, R., ... & Antonovics, J. (2010). Distribution of the anther-smut pathogen *Microbotryum* on species of the Caryophyllaceae. *New Phytologist*, 187(1), 217-229.
- 11 IUCN 2020. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2019-3. <http://www.iucnredlist.org>.
- 12 Kery, M., Spillmann, J. H., Truong, C., & Holderegger, R. (2006). How biased are estimates of extinction probability in revisitation studies? *Journal of Ecology*, 94(5), 980-986.
- 13 Kizaibek, M., Cao, P., Gu, Z., Bahetjan, D., & Jielile, J. (2019). Chemical Constituents of the Stem Bark of *Daphne altaica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 55(6), 1150-1152.
- 14 Kizaibek, M., Daniar, M., Li, L., & Upur, H. (2011). Antiproliferative activity of different extracts from *Daphne altaica* Pall. on selected cancer cells. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(15), 3448-3452.
- 15 Kizaibek, M., Pferschy-Wenzig, E. M., Kretschmer, N., Hamburger, M., & Bauer, R. (2015). LC-MS-based phytochemical characterization of an antiproliferative *Daphne altaica* stem bark extract. *Planta Medica*, 81(16), PM_114.
- 16 Kizaibek, M., Wubuli, A., Gu, Z., Bahetjan, D., Tursinbai, L., Nurhamit, K., ... & Cao, P. (2020). Effects of an ethyl acetate extract of *Daphne altaica* stem bark on the cell cycle, apoptosis and expression of PPAR γ in Eca 109 human esophageal carcinoma cells. *Molecular Medicine Reports*, 22(2), 1400-1408.
- 17 Kondratyuk-Stoyan, V. G. (2000). *Daphne altaica* Pall. under conditions of culture. *Plant Introduction*, 5, 38-40.
- 18 Kotukhov Yu.A., Danilova A.N., Anufrieva O.A. (2006). The current state of populations of rare and endangered plants in East Kazakhstan. Almaty. – 177 p.
- 19 Kotukhov, Yu. A., Danilova, A. N., & Anufrieva, O. A. (2018). *Daphne altaica* Pall. – a rare, disappearing species of the flora of the Kazakhstan Altai [Volchejagodnik altajskij (*Daphne altaica* Pall.) – redkij, ischezajushhij vid flory Kazahstanskogo Altaja]. *Botanical research of Siberia and Kazakhstan*, (24), 56-77.
- 20 Matsushashi, S., Kudoh, H., Maki, M., Cartolano, M., Tsiantis, M., Itagaki, T., & Sakai, S. (2016). Invasion history of *Cardamine hirsuta* in Japan inferred from genetic analyses of herbarium specimens and current populations. *Biological invasions*, 18(7), 1939-1951.
- 21 Matthies, D., Bräuer, I., Maibom, W., & Tschardt, T. (2004). Population size and the risk of local extinction: empirical evidence from rare plants. *Oikos*, 105(3), 481-488.
- 22 Mchedlidze, K., Churadze, M., Aneli, J., Moshiasvili, G., & Mshvildadze, V. (2019). Anatomical structure of the stem and leaf of *Daphne glomerata* Lam. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 3241-3244.
- 23 Moshiasvili, G., Tabatadze, N., & Mshvildadze, V. (2020). The genus *Daphne*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Fitoterapia*, 143, 104540.
- 24 Nie, Y. W., Li, Y., Luo, L., Zhang, C. Y., Fan, W., Gu, W. Y., ... & Zhu, J. Y. (2021). Phytochemistry and Pharmacological Activities of the Diterpenoids from the Genus *Daphne*. *Molecules*, 26(21), 6598.
- 25 Nugroho, A. E., Chin-Piow, W., Hirasawa, Y., Janar, J., Kaneda, T., Shiota, O., & Morita, H. (2016). Daphnane diterpenoids from *Daphne altaica*. *Natural product communications*, 11(8), 1934578X1601100809.
- 26 Olonova, M. V., Zhang, D., ShiMing, D. U. A. N., LinKe, Y. I. N., & BoRong, P. A. N. (2010). Rare and endangered plant species of the Chinese Altai Mountains. *干旱区科学*, 2(3), 222-230.

- 27 Oostermeijer, J. G. B. (2003). Threats to rare plant persistence. In *Population viability in plants* (pp. 17-58). Springer, Berlin, Heidelberg.
- 28 Pereira, H. M., & Cooper, H. D. (2006). Towards the global monitoring of biodiversity change. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(3), 123-129.
- 29 Red Book of Kazakhstan (2014). – Ed. 2nd, revised and supplemented. Volume 2: Plants [Krasnaja Kniga Kazahstana. – Izd. 2–e, pererabotannoe i dopolnennoe. Tom 2: Rastenija] (collective auth.). Astana. – 452 p.
- 30 Saville, A. C., Martin, M. D., & Ristaino, J. B. (2016). Historic late blight outbreaks caused by a widespread dominant lineage of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *PloS one*, 11(12), e0168381.
- 31 Seregin A.P. (ed.) (2022). Collection “Herbarium of Moscow State University”. Depository of living systems “Noah’s Ark” (direction “Plants”): Electronic resource. – Moscow. MGU.
- 32 Sovrlić, M. M., & Manojlović, N. T. (2017). Plants from the genus *Daphne*: A review of its traditional uses, phytochemistry, biological and pharmacological activity. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*, 18(1), 69-79.
- 33 Thiers B. The world’s herbaria (2016): A summary report based on data from Index Herbariorum. Available at <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/> [accessed 13 March 2017].
- 34 TianTian, Z., FuYao, W., ShuWei, L., ShuJie, Z., Lei, L., HuiYing, Z., & YuXin, L. (2019). Identification and quantification of chemical constituents in *Daphne altaica* and their antioxidant and cytotoxic activities. *International Journal of Agriculture and Biology*, 22(5), 985-992.
- 35 Wandeler, P., Hoeck, P. E., & Keller, L. F. (2007). Back to the future: museum specimens in population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(12), 634-642.
- 36 World Checklist of Selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://wmsp.science.kew.org/> Retrieved.
- 37 Zangerl, A. R., & Berenbaum, M. R. (2005). Increase in toxicity of an invasive weed after reassociation with its coevolved herbivore. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(43), 15529-15532.

2-бөлім
БИОТЕХНОЛОГИЯ

Section 2
BIOTECHNOLOGY

Раздел 2
БИОТЕХНОЛОГИЯ

Н.Ш. Акимбеков¹ , Қ.Т. Тастамбек^{1,2*} , Д.К. Шерелхан¹ ,
А.Б. Мылтыбаева¹ , Н.П. Алтынбай¹ , Х. Расулбекқызы¹ ,
Р.Х. Гулам¹ , П. Қуанышбек¹ 

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

²Таразский региональный университет имени М.Х. Дулати, Казахстан, г. Тараз

*e-mail: tastambeku@gmail.com

РАЗРАБОТКА БИОФУНКЦИОНИЛИЗОВАННОГО МЕЛИОРАНТА НА ОСНОВЕ УГОЛЬНОЙ ЗОЛЫ, НАСЫЩЕННОЙ ГУМУСОМ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ЗДОРОВЬЯ ПОЧВЫ

Большая часть промышленного и энергетического секторов экономики ведет к производству огромного количества разнообразных отходов, которые, при неправильном обращении, могут иметь разрушительные последствия для окружающей среды. Угольная зола является одним из наиболее сложных и распространенных антропогенных отходов и традиционно считается весьма проблематичной для переработки и утилизации. Вывоз УЗ-отходов на городские свалки делает почву непригодной к использованию и загрязняют наземные и водные экосистемы. Эти вредные процессы приводят к хроническому загрязнению и деградации вод, почв и воздуха.

Наши предыдущие экспериментальные исследования показали, что добавление в почву веществ, полученных из угля, помогает улучшить физико-химические и биологические свойства почвы, стимулируя рост растений и повышая урожайность. Основное преимущество УЗ, по сравнению со многими другими неорганическими мелиорантами, заключается в том, что она может быть легко оптимизирована с технической точки зрения благодаря ее известному химическому составу, специфическому сочетанию свойств поверхности и иерархической пористости.

Использование полезных почвенных микроорганизмов, а также ГК в сочетании с УЗ может потенциально стимулировать производство сельскохозяйственных культур посредством механизмов биодобрения, включая биологическую фиксацию азота, солюбилизацию фосфатов, продукцию фитогормонов и процессы биоконтроля. Таким образом, РСРР являются ключевым фактором в поддержании плодородия почвы в качестве компонентов, участвующих в разработке композитов УЗ-ГК, и могут применяться при совместной инокуляции.

Целью исследования является разработка технологии производства высокоэффективного биотехнологического удобрения нового поколения – УЗ-ГК-РСРР.

Создание новых удобрений путем сочетания УЗ с традиционно используемым органическим навозом, дигестатом, компостом и илом имеет большие многообещающие возможности. Однако экологическое и биогеологическое поведение УЗ еще недостаточно изучено. Разработка качественных продуктов на основе УЗ требует определения характеристик выделения питательных веществ и детального изучения их эффективности для различных типов почв и агроэкологических условий. В результате УЗ-ГК-РСРР будут спроектированы и функционилированы как новый удобрения.

Ключевые слова: угольная зола, бурый уголь, гуминовая кислота, метагеномика, микробиом, ризобактерии, почва.

N.Sh. Akimbekov¹, K.T. Tastambek^{1,2*}, D.K. Sherelkhan¹, A.B. Myltykbaeva¹,
N.P. Altynbay¹, Kh. Rassulbekkyzy¹, R.H. Ghulam¹, P. Kuanyshbek¹

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Taraz Regional University named after M.Kh. Dulati, Kazakhstan, Taraz

*e-mail: tastambeku@gmail.com

Development of a biofunctionalized humic-loaded fly ash amendment for improving soil health

The intensive industrial and power sectors generate huge amounts of diverse wastes which have detrimental consequences for the environment if not properly managed. Fly ash is one of the most complex and abundant anthropogenic wastes and has traditionally been considered as highly problematic for

the treatment and disposal. Being dumped on indigenous and community lands, FA-wastes block their usage and contaminate terrestrial and aquatic ecosystems. These detrimental processes lead to chronic pollution and degradation of waters, soils, and air.

Our previous pilot studies implied that the addition of coal-derived substances to soil help to improve soil physicochemical and biological properties stimulating plant growth and enhancing crop yield. The main advantage of FA as compared to many other inorganic amendments is that it can be easily engineeringly optimized due to its precisely characterized chemical composition, a specific combination of surface properties, and hierarchical porosity.

The use of beneficial soil microorganisms as well as HA in combination with FA can potentially stimulate crop production through biofertilization mechanisms, including biological nitrogen fixation, phosphate solubilization, phytohormone production, and biocontrol processes. Thus, PGPR is a key factor in maintaining soil fertility as a candidate for FA-HA composite engineering and co-inoculation could be an excellent application.

The aim of the proposed research is to develop technology for the production of highly efficient biotechnological fertilizer of new-generation – FA-HA-PGPR.

Synthesis of novel fertilizers by a combination of FA with traditionally used farmyard manure, digestate, compost, and sludge has a very promising potential. However, the ecological and biogeological behavior of FA is not yet adequately studied. Engineering of quality FA-based products requires determination of the nutrient release characteristics and detailed examination of its performance for various soil types and agroecological conditions. As a result, FA-HA-PGPR will be engineered and functionalized as a new fertilizer.

Key words: coal ash, brown coal, humic acid, metagenomics, microbiome, rhizobacteria, soil.

Н.Ш. Акимбеков¹, Қ.Т. Тастамбек^{1,2*}, Д.К. Шерелхан¹, А.Б. Мылтыбаева¹,
Н.П. Алтынбай¹, Х. Расулбекқызы¹, Р.Х. Гулам¹, П. Қуанышбек¹

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

²М.Х. Дулати атындағы Тараз өңірлік университеті, Қазақстан, Тараз қ.

*e-mai: tastambeku@gmail.com

Топырақтың жағдайын жақсарту үшін қарашірікпен қаныққан көмір күлі негізінде биофункцияланған мелиорантты жасау

Экономикадағы өнеркәсіптік және энергетикалық секторларының ауқымды бөлігі үлкен көлемде әртүрлі қалдықтарды бөліп шығарады, олар егер шешімін тауып, дұрыс жолға қойылмаса, қоршаған ортаға орны толмас зардабын тигізеді. Көмір күлі ең күрделі және кең таралған антропогендік қалдықтардың бірі болып табылады және дәстүрлі түрде өңдеу мен жою үшін өте мәселелі болып саналады. Қалалық қоқыс орындарына тасталынған КК-қалдықтары топырақты пайдалануға жарамсыз етеді және жер үсті және су экожүйелерін ластайды. Бұл зиянды үрдістер созылмалы ластануға және су, топырақ пен ауаның деградациялануына алып келеді.

Біздің алдыңғы эксперименттік зерттеулеріміз көмірден алынған заттардың топыраққа қосылуы топырақтың физика-химиялық және биологиялық қасиеттерін жақсартуға, өсімдіктердің өсуіне және өнімділігінің артуына ықпал ететінін көрсетті. КК-нің басқа да көптеген бейорганикалық модификациялармен салыстырғандағы басты артықшылығы – бұл оның белгілі химиялық құрамы, беткі қасиеттері мен құрылымдық кеуектілігінің арнайы үйлесімі арқасында белгілі бір техникалық тұрғыдан оңай оңтайландыруы мүмкін.

Пайдалы топырақ микроорганизмдерін, сонымен бірге ГҚ-ын КК-мен бірге қолдану биотыңайту тетіктері, соның ішінде биологиялық азотты тұту, фосфатты солюбилизациялау, фитогормондар өндірісі және биобақылау үдерістері арқылы ауылшаруашылық дақылдар өндірісін ынталандыруы мүмкін. Осылайша, ӨӨЫР-сы КК-ГҚ композиттерін әзірлеуге қатысатын компоненттер ретінде топырақ құнарлылығын сақтаудың маңызды факторы болып табылады және бірлескен инокуляция кезінде қолдануға болады.

Ұсынылып отырған зерттеудің мақсаты жаңа буындағы жоғары тиімді биотехнологиялық тыңайтқышты – КК-ГҚ-ӨӨЫР өндіру технологиясын жасау болып табылады.

КК дәстүрлі қолданылатын органикалық көң, дигестат, компост және белсенді лаймен біріктіріп жаңа тыңайтқыштар жасаудың болашағы зор. Алайда, КК-нің экологиялық және биогеографиялық табиғаты толық зерттелмеген. КК-не негізделген сапалы өнімдерді әзірлеу қоректік заттардың бөлінуінің сипаттамаларын анықтауды және топырақтың әртүрлі түрлері мен агроэкологиялық жағдайларға әсерін егжей-тегжейлі зерттеуді қажет етеді. Нәтижесінде жаңа тыңайтқыш ретінде КК – ГҚ – ӨӨЫР жобаланатын және функционалданатын болады.

Түйін сөздер: көмір күлі, қоңыр көмір, гумин қышқылы, метагеномика, микробиом, ризобактерия, топырақ.

Сокращения и обозначения

УЗ – угольная зола, ГК – гуминовая кислота, РСРР – ризобактерии, стимулирующие рост растений.

Введение

Угольная зола, как побочный продукт сжигания всех видов угля, является одним из наиболее сложных и распространенных антропогенных отходов и считается весьма проблематичной для утилизации. Вывоз УЗ-отходов на городские свалки делает почву непригодной к использованию и загрязняют водные экосистемы и почвенный слой.

Чрезвычайно высокая площадь поверхности и большая пористость делают УЗ привлекательным инструментом для эффективной адсорбции и удержания гуминовой кислоты, полученной из угольных отходов. Кроме того, являясь идеальным средством доставки ГК (органическая добавка) в почву, сама УЗ может служить источником макро- и микроэлементов (неорганическая добавка). Изобилие, низкая стоимость и экологически безопасный характер УЗ могут обладать большими преимуществами при внесении в почву в «смайт» сельском хозяйстве. Следовательно, возможность создания композитного материала, объединяющего как УЗ, так и ГК, представляется особенно выгодной для устойчивого растениеводства. «Зеленое» сельское хозяйство требует применения не только эффективных органоминеральных добавок, которые содержат макро- и микроэлементы, но также биостимуляторов роста растений – бактерий, которые являются источником биологически активных соединений.

Мировой спрос на энергию в основном удовлетворяется за счет угольных электростанций (>30%) [1]. В настоящее время мировая добыча угля составляет около 7,9 млрд тонн в год [2]. Ожидается, что мировое потребление угля вырастет на 49% с 2006 по 2030 год согласно прогнозу International Energy Outlook (IEO, 2009). В Казахстане около 53,7% общей потребности в энергии покрывается за счет сжигания угля на тепловых электростанциях (ТЭС). Это может продолжаться достаточно длительное время, учитывая, что Казахстан имеет ~25,6 млрд. тонн запасов угля в более чем 400 месторождениях, расположенных в центральных и северных регионах страны [3].

При сжигании угля для выработки электроэнергии на ТЭС образуются твердые отходы, та-

кие как угольная зола и золошлаковые отходы. Общее количество золы, производимой во всем мире огромно. По оценкам, оно превышает 750 миллионов тонн в год, но используется лишь менее 50% мирового производства УЗ [4]. Использование высокозольного угля с низкой теплотой сгорания для сжигания на ТЭС приведет к многократному увеличению образования УЗ. Образовавшиеся в огромных количествах УЗ сбрасываются в золоотвалы, с использованием системы гидрозолоудаления. Однако, эти отходы могут использоваться как альтернативы промышленных ресурсов, процессов и систем (добавка к цементу и бетонным изделиям, конструкционный наполнитель, материал для покрытия, материал конструкции с минимальным весом, инфильтрационный барьер, заполнитель подземных пустот, а также в качестве мелиоранта для улучшения свойств почвы, воды и окружающей среды). Более того, существует огромное количество деградированных почв/земель ($1,9 \times 10^9$ га), имеющих в мире, которые необходимо восстановить соответствующими технологиями [5]. Около 1,5 млрд га территории пригодны для восстановления сельскохозяйственного назначения, в частности, для удовлетворения потребностей постоянно растущего населения [6]. Около 99,9% продуктов питания (калорий) человека приобретает «с земли»; за последние 50 лет общая площадь обрабатываемых земель на душу населения постепенно сократилась с 0,44 га до <0,25 га. Таким образом, проблемы восстановления нарушенных и неплодородных земель с целью их дальнейшего использования в сельском хозяйстве являются чрезвычайно актуальными [7].

Применение УЗ в качестве мелиоранта/структурообразователя почвы является потенциально наиболее оптимальной с точки зрения использования его огромного количества, решения экологических проблем и применения экономической перспективы. Многочисленные исследования указывают на более широкий потенциал УЗ в повышении продуктивности почв и улучшении деградированных земель для восстановления флоры и растительности [8–10]. Использование УЗ в качестве мелиоранта или почвенной добавки может быть улучшено путем комбинирования ее с органическими компонентами, которые значительно богаты N и P [11]. Добавление таких биологических веществ в УЗ может повысить результативность и эффективность мер по рекультивации земель и почвенного покрова.

В контексте использования производных угля в зеленом хозяйстве особое внимание также уделяется производству других побочных продуктов из низкосортных углей, таких как гуминовые кислоты. Эти компоненты являются наиболее сложным и биологически активным органическим веществом почвы и, как известно, стимулируют структуру и функциональность микробных сообществ, что приводит к более высокой доступности макро- и микроэлементов для роста растений и улучшают физико-химическое состояние почвы [12]. Применение полезных почвенных микроорганизмов в сочетании с мелиорантами является одним из наиболее важных биологических методов, направленных на обеспечение устойчивости аграрных, социально-экономических и экологических систем. Ризобактерии, стимулирующие рост растений являются основной функциональной группой почвенного микробиома, известной своими преимуществами, способствующими укреплению здоровья у растений [13].

Учитывая вышеизложенное, настоящее исследование направлено на разработку эффективного подхода к утилизации отходов переработки угля с использованием микробной биоконверсии в устойчивом сельском хозяйстве.

Материалы и методы

Объекты исследования. В работе были использованы бурые угли Экибастузского угольного бассейна (51.7299° N, 75.4060° E) Павлодарской области, как источник гуминовых веществ. Отбор проб проводили согласно ISO 18283:2006 «Hard coal and coke – Manual sampling» и ISO 13909-4:2016 Preview Hard coal and coke – Mechanical sampling – Part 4: Coal – Preparation of test samples» (ГОСТ 10742-71).

Гуминовая кислота, экстрагированная из бурого угля Экибастузского угольного месторождения.

Угольная зола, образующаяся при высокотемпературном сжигании Экибастузского угля, отобранная из золоуловителей Аксуской ГРЭС г. Экибастуз.

Ризобактерии, стимулирующие рост растений, выделенные из ризосферы припахтных территорий Экибастузского угольного месторождения.

Материалы. В работе были использованы следующие селективные и общие питательные среды для роста микроорганизмов:

1. Azospirillum Medium с 0,17% агара, используемый для выращивания видов рода *Azospirillum*.

2. Acetobacter agar (источник глюкозы, маннитола), используемый в качестве поддерживающей среды для глюкозы/маннитол-положительных бактерий *Acetobacter*.

3. LB среда (Luria-Bertani Medium) – для поддержания жизнедеятельности и получения биомассы *Pseudomonas*. Состав (г/л): триптон – 10,0, дрожжевой экстракт – 5,0, NaCl – 5,0.

4. Используется для выращивания, выделения и подсчета почвенных микроорганизмов, таких как *Rhizobium*.

Методы исследований. Определяли следующие характеристики: влажность (W), зольность (A), теплота сгорания (Q) и выход летучих веществ (V).

Элементный анализ. Содержание элементов угля определяли на автоматическом анализаторе vario EL cube (Германия).

Функциональный состав продуктов сжигания углей. Измерения аналитических линий элементов выполняли на волновом рентгеновском спектрометре S6 JAGUAR XRF (Bruker, Германия).

Рамановская спектрометрия. Для анализа структурного состава УЗ применялся Рамановский спектрометр Solver Spectrum (NT-MDT, Россия).

Микроструктурной анализ. Сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) Quanta 200i 3D (FEI, Голландия) при ускоряющем напряжении 10-30 кВ использовали для изучения топографии поверхности бурого угля/угольной золы и измерения микрообъектов.

Определение физических свойств УЗ. Получение дисперсных фракций осуществлялось методом аэродинамического разделения (центробежный лабораторный классификатор 50 АТР Hosokawa ALPINE, Германия) с последующей магнитной сепарацией, согласно [48].

Экстракция ГК солубилизации бурого угля (БУ). ГК была получена с помощью модифицированной методики [49]. 1 г измельченного в порошок БУ суспензировали в 50 мл 0,1 М NaOH и встряхивали при 20°C/24 часов, после чего центрифугировали при 11 200 G-force/15 мин. Супернатант фильтровали через бумажный Whatman No.1 фильтр и осаждали, доводя pH до 2,0 с помощью 11,6 М HCl. Раствор отстаивали в течение 12 ч, с последующим центрифугированием при 11 200 G-force/15 мин, затем 3 раза промывали dH_2O и сушили при 60°C. Получен-

ный продукт был определен как ГК (гуминовая кислота).

Выход гуминовой кислоты рассчитывали на воздушно-сухой основе по формуле [50]:

$$\varepsilon = \frac{M_{YM}(1-M_{ad})-M_{CY}}{M_{YM}(1-M_{ad})} \quad (1)$$

где: ε – выход ГК, %; M_{YM} = масса БУ, г; M_{CY} = масса остаточного БУ, г; M_{ad} = содержание воды в необработанном БУ, %.

Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (Фурье-спектроскопия) образцов ГК были проанализированы с использованием спектрометра Nicolet 6700 FT-IR. ИК-спектр регистрировали в диапазоне от 400 до 4.000 см^{-1} . Использовались следующие параметры сбора данных: количество выборочных сканов – 32; Разрешение – 4.000; Нулевое заполнение – 2; Частота He-Ne-лазера: 15798,0 см^{-1} ; Пиковое положение помехи – 8192; Функция аподизации – N-V сильная; Фоновые сканы – 32; Усиление фона – 1,0; Оптическое волокно – 100,00; Прирост выборки – 1,0; Фильтр верхних частот – 200,0000; Фильтр нижних частот – 20000,0000; Метод сбора данных – GC / IR; Окончательный формат -% передачи.

Флуоресцентный спектрометр FP-8500 (Jasco, Japan) использовали для измерения характеристик возбуждения (Em) – излучения (Ex) эмиссии образцов ГК, растворенных в буфере при концентрации 10 мг/л при 20°C.

Использование методов современной метагеномики с использованием технологии СНП Illumina. Общий подход подготовки библиотек для секвенирования нового поколения на платформе Illumina включает несколько этапов: 1. Выделение тотальной ДНК из образца; 2. Определение участков для секвенирования и скрининг праймеров для дальнейшей амплификации с помощью ПЦР; 3. Двойное баркодирование полученных библиотек для секвенирования; 4. Секвенирование; 5. Биоинформатический анализ и визуализация полученных данных. Каждый этап выполнялся по стандартным протоколам компании-производителя [51]. Секвенирование образцов проводилось на приборе HiSeq компании Illumina (США) согласно стандартным протоколам [52].

Определение адсорбции ГК на УЗ. В качестве сорбента для адсорбции ГК использовалась УЗ. Концентрацию ГК в растворе определяли спектрофотометрически, как описано ниже, и удержание адсорбата (ГК) на адсорбенте (УЗ) (мг г^{-1}) рассчитывали по следующему уравнению:

$$Q_e = \frac{C_0 - C_e}{m} V \quad (2)$$

где: Q_e – равновесная концентрация ГК на адсорбенте (мг г^{-1}), C_0 – начальная концентрация ГК в растворе (мг л^{-1}), C_e – равновесная концентрация ГК в растворе (мг л^{-1}), m – масса адсорбента (г) и V – объем раствора ГК (л).

Эксперименты по адсорбции также повторяли при 18, 35, 50, 65, и 80°C и при нескольких значениях pH (5, 6, 7, 8, 9, 10) для изучения влияния температуры и кислотности среды, соответственно. Влияние времени на удержание ГК исследовали в интервале от 2 до 180 мин.

Определение концентрации ГК. Экстракция ГК из бурого угля с использованием растворов КОН была произведена согласно [14]. Для определения концентрации ГК использовали спектрофотометр V-550 (Jasco, Япония). На основе экспериментальных данных была построена калибровочная кривая, которая представлена на рис. 1, в виде зависимости величины поглощения света на оси ординат от концентрации ГК на оси абсцисс. Технические характеристики процесса: кварцевая кювета (\varnothing 1 см) с фосфатным буфером (pH 7), длина волны наблюдения величины поглощения – 550 нм, спектры поглощения в диапазоне длин волн от 200 до 900 нм.

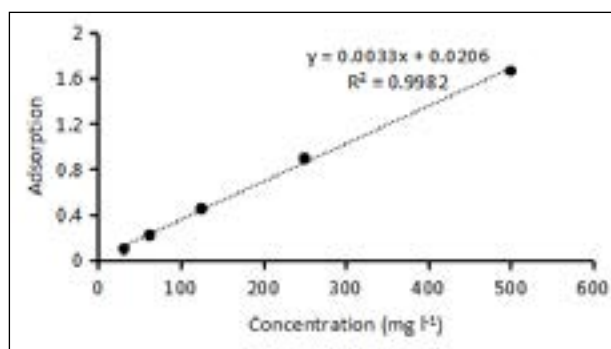


Рисунок 1 – Калибровочная кривая для определения концентрации ГК

Определение десорбции ГК. Эксперименты по десорбции проводили с ГК-УЗ (0,5 г) путем промывания дистиллированной водой (10 мл). Водный экстракт центрифугировали от УЗ и спектрофотометрически рассчитывали концентрацию выделившихся в среде ГК.

Эксперименты в микрокосмах. В опытах использовали темно-каштановую и илисто-глинистую почвы. Образцы почвы отбирались рандомизированным образом с глубины <20 см на рас-

стоянии не менее 5 м от ближайших деревьев. Затем почвы сушили на воздухе не менее 24 часов и просеивали через сеть с отверстиями размером 2 мм и хранили при 4°C не более чем 2 недели перед началом экспериментов. Физико-химические свойства почвы были охарактеризованы до и после внесения добавок/поправки (10, 30 и 60 дней). Измерения pH проводили на суспензиях с 5 г высушенных на воздухе образцов почвы в 25 мл дистиллированной H₂O с помощью pH-метра 781 (Metrohm AG, Германия).

В почву вносили композит УЗ-ГК (0.1, 0.5 и 1 г кг⁻¹), отдельно УЗ (0.1, 0.5 и 1 г кг⁻¹) и отдельно ГК (0.01, 0.05 и 0.1 г кг⁻¹), представляющие три вида обработки. Контролем являлась необработанная почва. В частности, поправки (по сухому весу) вносили в почву (6 л, n = 5) при интенсивном перемешивании. Дозы были определены в соответствии с характеристиками почвы для увеличения содержания питательных веществ в почве. Содержание влаги в почве было доведено до 40% от влагоемкости почвы. Образцы почвенных микрокосмов инкубировали в темноте при 25°C, и анализировали через 10, 30, и 60 дней после обработки.

Методы изучения биохимических свойств РСРР. Физиологические и функциональные профили исследуемых культур, оценивали с помощью системы BiologEcoPlate (BIOLOG, Inc., Калифорния, США) в соответствии с методологией [15]. Каждый планшет BiologEcoPlate содержит 31 вид источника углерода или воду в трех экземплярах (семь типов углеводов, девять карбоновых кислот, четыре полимера, шесть аминокислот, два амина / амида и три разных компонента) В лунки планшета вносили по 1 мл суспензии суточных культур бактерий (по стандарту мутности 0,5 по МакФарланду) и инкубировали при 35°C в течение 10 дней. Эксперимент проводился в трех повторностях. Микробную активность рассчитывали, как среднее проявление цвета лунки субстрата (SAWCD, substrate average well colour development) через 10 дней, согласно [16].

Определение способности изолятов к солибилизации фосфатов. Бактериальные изоляты на фосфатрастворяющую способность тестировали на среде Пиковской (РВК). Суточную колонию бактерий поместили на готовую питательную среду, инкубировали при 28°C и через 5 дней измеряли диаметр ореола вокруг колонии. Размер ореола рассчитывали путем вычитания диаметра колонии из общего диаметра вместе с ореолом. Состав среды РВК (г л⁻¹): глюкоза – 10,

Ca₃(PO₄)₂ – 5, (NH₄)₂SO₄ – 0.5, NaCl – 0.2, MgSO₄ • 7H₂O – 0.1, KCl – 0.2, дрожжевой экстракт – 0.5, MnSO₄ • H₂O – 0.002, FeSO₄ • 7H₂O – 0.002.

Определение способности культур к азотификации. Изучение азотфиксирующей способности культур проводили с использованием среды Дженсена следующего состава (г л⁻¹): сахара – 20, K₂HPO₄ – 1, MgSO₄ – 0.5, NaCl – 0.5, Fe₂SO₄ – 0.1, Na₂MoO₄ • 2H₂O – 0.005, CaCO₃ – 2, агар – 15.

Культивирование РСРР. Изоляты, стимулирующие рост растений хранились в питательном бульоне (ПБ) с 15% глицерином при -80°C и выращивались на питательном агаре (ПА). Одиночные колонии переносили в 500 мл колбы с NB, и инкубировали в аэробных условиях на вращающемся шейкере (150 об/мин) в течение 24 ч при 28°C [17, 18]. Затем бактериальную суспензию разбавляли стерильной водой и равномерно смешивали с почвой (1×10⁸ КОЕ кг⁻¹) в соотношении 1:50 (об./об.) с помощью ручного опрыскивателя.

Физико-химические анализы почвы. В опыте проводились следующие исследования почвы: влажность по [19]; твердость по [20]; объемную массу по [21]; водопроницаемость почвы оценивали по [22]. Химические исследования почвы в слое <15 см включали определение: обменной кислотности [22]; нитратного азота по [23]; подвижного фосфора [24] и обменного калия по [25].

Ферментативная активность почвы. Активность почвенных ферментов определяли с использованием 96-луночного планшета. Фенолоксидазу измеряли по методу [26], активность пероксидазы измеряли с 3,3',5,5'- тетраметилбензидин (ТМВ) [28], дегидрогеназу определяли с использованием в качестве субстрата 2,3,5-трифенилтетразолий хлорид (ТТС) [27].

Гетеротрофное дыхание CO₂. Микробное дыхание измеряли с помощью портативного почвенного респиратора (инфракрасный газоанализатор, Li-Cor, США). Вдыхаемый CO₂ улавливался в течение двух часов инкубации при 25°C. Образцы газа объемом 5 мл собирали в начале и конце инкубационного периода с помощью стеклянного шприца и вводили в газоанализатор. Поток CO₂ был рассчитан путем вычитания начальных концентраций из конечных. CO₂ в почве измеряли периодически в течение 90 дней инкубации.

Методы характеристики УЗ и УЗ-ГК. Функциональный состав продуктов по методу ДРСДВ. Измерения аналитических линий элементов вы-

полняли на волновом рентгеновском спектрометре S6 JAGUARXRF (Bruker, Германия); спектрометр укомплектован рентгеновской трубкой с Rh-анодом, номинальная мощность – 4 кВт.

Микроструктурной анализ. Сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) Quanta 200i 3D (FEI, Голландия) при ускоряющем напряжении 10-30 кВ использовали для изучения топографии поверхности УЗ и композита.

Рентгеноструктурный анализ (РСА). Рентгенофлуоресцентный анализ минеральной части материалов выполнялся на дифрактометре Empyrean X-ray Diffraction System (MalvernPanalytical, Голландия) способом разложения рентгеновского излучения.

Статистические анализы. Достоверность и надежность материалов исследований оценена статистическими методами. Анализ и обобщение физико-химических и микробиологических исследований выполнен с использованием про-

граммного обеспечения банка данных, а также пакета статистической обработки MicrosoftExcel и STATA. Все заявленные значения даны как среднее значение ± стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение

Пробы УЗ из золоуловителей Аксуской электростанции отбирали от каждого котлоагрегата в период работы на стабильном режиме. От каждого котлоагрегата отбирали отдельные пробы в количестве, необходимом для составления средней пробы в размере 100 кг.

Химический состав УЗ. Учитывая комплексный мульти-элементный состав УЗ, количественное определение проводили двумя методами:

1. Элементный анализ с использованием сканирующего электронного микроскопа, оборудованного EDAX GENESIS 2000 детектором (рис. 2).

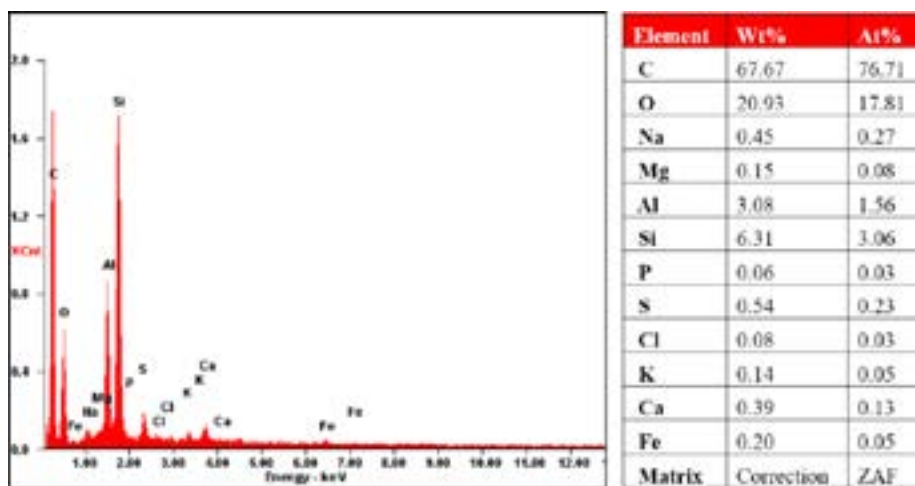


Рисунок 2 – Элементный анализ УЗ, в расчете на Wt% и At%

Как видно, в составе исследуемой УЗ тяжелые металлы отсутствуют. Однако присутствие в составе S, N, Mg, P, и Fe дает возможности для роста и пролиферации в нем перспективных микроорганизмов, которые используют эти элементы в качестве питательного субстрата.

2. Элементный анализ методом рентгенофлуоресценции (РФА). На данном этапе изучен процесс определения содержания в УЗ основных компонентов и микроэлементов методом РФА, результаты которых приведены в табл. 1.

Таблица 1 – Химический состав УЗ, Wt%

Компоненты	Доля	Компоненты	Доля
SiO ₂	59,74	MgO	0,55
Al ₂ O ₃	27,44	MnO	0,10
Fe ₂ O ₃	6,56	Na ₂ O	0,45
TiO ₂	1,45	P ₂ O ₅	0,82
K ₂ O	0,74	LOI*	1,02
CaO	1,13		

* потери при прокаливании

Полученные результаты показывают, что основу УЗ составляют оксиды кремния, алюминия и железа (93.74%). Модуль основности (M_O), калькулированный, как отношение сумм оксидов щелочноземельных металлов к сумме кислотных оксидов равен 0,019, что позволяет отнести УЗ к кислым золам ($M_O < 1$) (формула 3):

$$M_O = \frac{\text{CaO} + \text{MgO}}{\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3} \quad (3)$$

где: M_O – модуль основности.

Физические характеристики УЗ приведены в таблице 2. Кривые распределения частиц УЗ по размеру представлены на рис. 3 в кумулятивной и дифференциальной форме. Данные демонстрируют широкие диапазоны размеров частиц, характеризующиеся $d_{10} = 4,3 \mu\text{m}$, $d_{50} = 31,5 \mu\text{m}$ и $d_{90} = 86,0 \mu\text{m}$ (табл. 2).

Таким образом, УЗ характеризуется средней насыпной плотностью 1,04 г/см³, распределение частиц составляет d_{cp} μm .

Таблица 2 – Насыпная плотность, содержание магнитной фракции и характеристика распределения частиц по размеру УЗ

Насыпная плотность, г/см ³	Содержание магнитной фракции, мас. %	Распределение по размерам, μm			
		d_{cp}	d_{10}	d_{50}	d_{90}
1,04	6,1	39	4,3	31,5	86,0

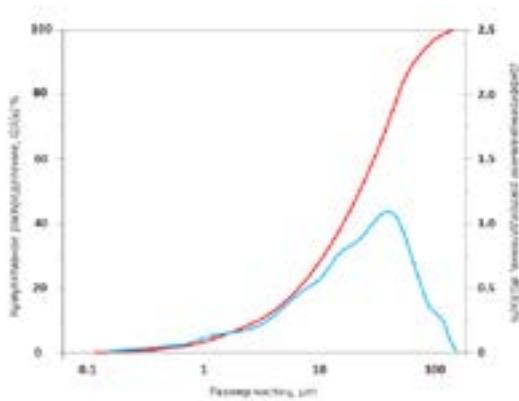


Рисунок 3 – Распределение частиц УЗ по размеру в кумулятивной (интегральной) $Q3(x)$ и дифференциальной $dQ3(x)$ форме

Охарактеризованные зольные фракции соответствуют требованиям к размеру частиц, фазовому и химическому составу, могут быть адресно использованы для получения гетерогенных материалов с уникальными и управляемыми свойствами, что приведет к снижению объемов отходов УЗ [53].

Рамановская спектроскопия. Спектроскопию использовали для изучения микроструктуры УЗ. Раманские спектры записывали в более широком (до 3500 см⁻¹) диапазоне. Рис. 4 демонстрирует полученные спектры УЗ. В основном все спектры представлены двумя характерными для аморфного углерода пиками, которые отно-

сятся к так называемым полосам D (diamond) и G (graphite).

На фоне полосы выявляются интенсивные линии с максимумами при ~1360 см⁻¹ (рассеяние на аморфных карбоновых группах) и ~1600 см⁻¹ (рассеяние на ароматических кольцах и сопряженных с ними С=О-связях).

Образцы имеют неоднородную структуру в зависимости от области на каждой отдельной частице. В основном, в пробах наблюдается наличие кварца и оксида железа (табл. 3).

Морфологические характеристики угольной золы. Для детального анализа структуры поверхности УЗ был применен метод СЭМ. На рисунке 5 представлены микроснимки образца исследуемого материала. На обзорных фотографиях (рис. 5а) видно, что частицы золы имеют неправильную форму, рельеф поверхности частиц имеет высокую степень шероховатости и большое количество пор различной геометрической формы. Наблюдаются отдельные сфероподобные формы. На поверхности присутствуют более мелкие частицы правильной сферической формы. На увеличенных снимках (рис. 5б) заметно, что мелкие сферы локализованы в порах, а более крупные располагаются на поверхности образца.

Результаты изучения химико-технических характеристик проб низкосортного бурого угля месторождения Экибастуза представлены в табл. 4.

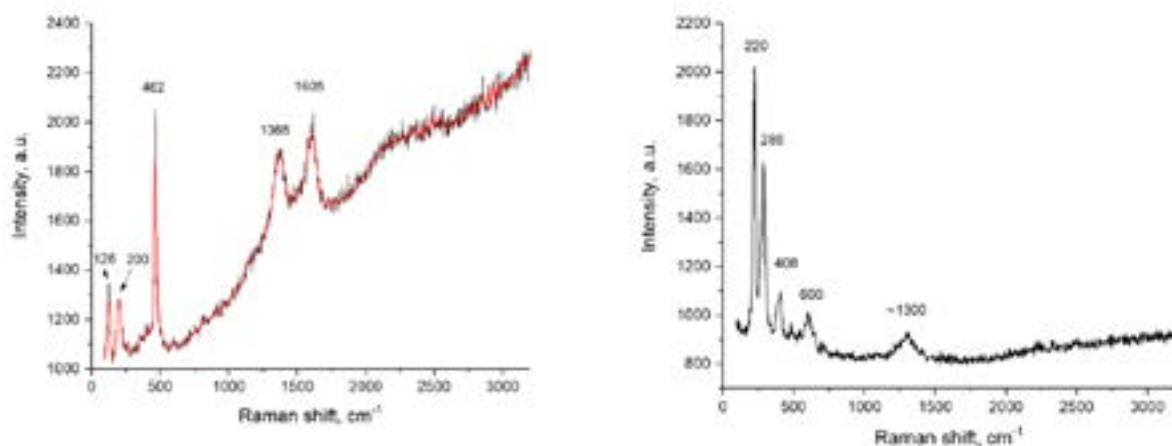
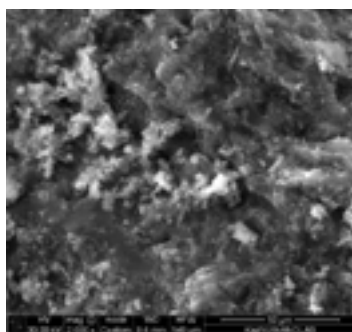


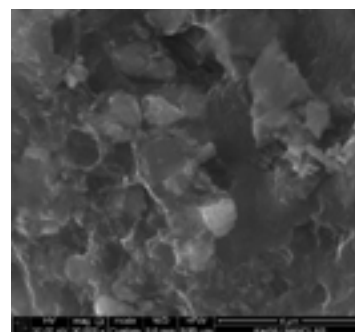
Рисунок 4 – Раман-спектры образцов УЗ

Таблица 3 – Назначения/описания рамановских диапазонов

Раманские спектры	Raman shift (волновое число), cm^{-1}	Назначение (виды)
Quartz	200	$\alpha\text{-SiO}_2$
Fe-oxides	220	$\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}_2\text{O}_4$
Magnetite, ferrites+glass	286	FeFe_2O_4
Hematite	408	O^- displacements
Quartz	462	$\alpha\text{-SiO}_2$
Fe-oxides	~600	$\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}_3\text{O}_4$



а



б

Рисунок 5 – СЭМ-изображения исследуемого образца.
а – обзорная фотография, б –увеличенная фотография

Таблица 4 – Химико-технические характеристики Екибастузского БУ, Wt%

Техническая характеристика				Элементный состав				
Влажность, W	Зольность, A	Выход летучих веществ, V	Теплота сгорания, МДж/кг, Q	C	H	N	S	O*
7,1	38,9	23	32	77,1	5,08	2,12	0,9	14,8

* по разнице

На основании проведенных данных можно заключить, что аналитическая проба БУ выборки 2020 г. из основного пласта месторождения Экибастуза относится к высококалорийному (32 МДж/кг), малосернистому (<1) топливу с высокой зольностью (38,9%) и средней влажностью (7,1%) класса СС.

ГК экстрагировали из УЗ щелочной экстракцией по модифицированному методу Nusulak-Mączka [49]. По мнению авторов, использование раствора NaOH для экстракции ГК из угля низкого ранга является эффективным и выход ГК составляет 51,6%. В нашем случае рассчитанный выход ГК составил 75,1%.

На следующем этапе, ГК как продукт БУ, исследовалась разными спектроскопическими методами.

ИК-спектры ГК содержат полосы поглощения, характерные для гуминовых веществ различного происхождения (рис. 6) [54]. ИК-спектр характеризуется интенсивной полосой между 2940-2900 см^{-1} , что указывает на присутствие значительного количества алифатических групп (C-H). Спектры также имеют среднюю полосу интенсивности в области 1590-1517 см^{-1} , вызванную группами COO^{-1} ; N-H и C=N.

Распределение интенсивных полос ГК в инфракрасном диапазоне приведено в табл. 5.

Элементный анализ. ГК была подвергнута элементному анализу (табл. 6). Примечательно, что генерация углевода и азота ГК составляет 54,72 и 2,55, соответственно. Атомное соотношение N/C указывает на степень ароматичности, так в ГК его значение среднее, что объясняется невысокой молекулярной массой и содержанием конденсированных ароматических структур [55, 56].

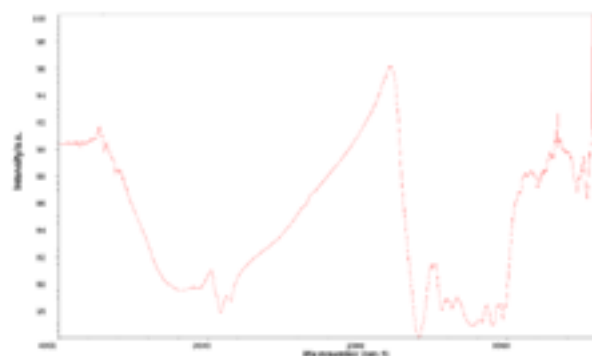


Рисунок 6 – ИК-спектры ГК

Таблица 5 – Назначения/описания диапазонов ИК-спектроскопии

Волновое число, см^{-1}	Назначение (группы)
3000-2800	Алифатические CH_2 и CH_3
2940-2900	Алифатический C-H
1250-1100	Угольные кислоты, фенольные или алифатические спирты
1580	COO^{-1}
1400-1310	COO^{-1}
1660-1630	C=O амида; хинон и/или C=O-H-связанных конъюгированных кетонов
1590-1517	COO^{-1} ; N-H и C=N
1280-1200	C-O и O-H COOH
1170-950	C-O полисахарида; Si-O силиката
Ниже 900	Вне плоскости ароматических C-H; Алифатический $-\text{CH}_2-$

Атомное соотношение O/C индексируется как показатель количества кислородсодержащих групп (таких как, углеводов и карбоксильных групп), его типичное значение для ГК составляет ~0,4. Более высокие значения указывают на более низкую степень ароматической конденса-

ции в ГК. Атомное соотношение N/C отражает количество азота в органических веществах, что в данном случае его значение высокое. Отношение N/O также указывает на повышенный состав азота в продукте БУ и более низкую молекулярную массу [57].

Таблица 6 – Элементный анализ образцов ГК

Элементы (Wt.%)						Атомное отношение			
C	H	N	S	O*	Зола	H/C	O/C	N/C	N/O
54,72	4,03	2,55	0,18	34,07	4,45	0,88	0,47	0,04	0,08

* по разнице

Элементный анализ и соотношение атомов показывают, что химический состав ГК характеризуется низкой молекулярной массой и содержанием конденсированных ароматических структур. Также был выявлен более высокий состав азота (значения атомных соотношений).

ЕЕМ флуоресцентная спектрометрия. В работе приведены результаты усовершенствованного анализа ЕЕМ флуоресценции для изучения природы и свойств ГК. На рис. 7 представлены ЕЕМ спектры ГК. Сильные флуорофоры в основном наблюдаются при возбуждении (Ex.) / испускании (Em.) около 270-275/440-445 нм, что соответствует гуминоподобным веществам.

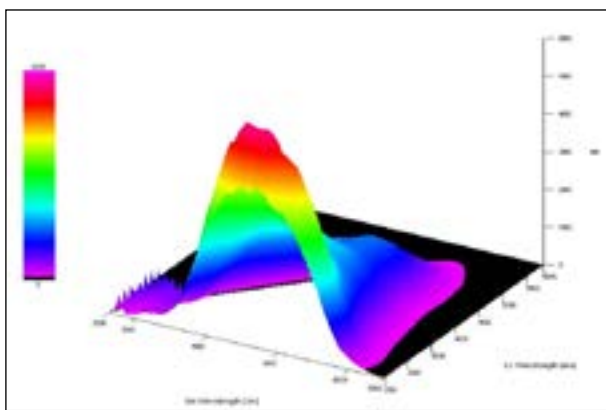


Рисунок 7 – ЕЕМ спектры проб ГК

Специфические индексы флуоресцентной спектрометрии. Три показателя флуориметрии (FI, BIX и HIX) были выбраны для изучения химической природы УК, их значения приведены в табл. 7.

Индекс флуоресценции (FI) рассчитывается как отношение интенсивности Em. на длине волны 450-500 нм при Ex. на 370 нм. Значение FI <1,3 соответствует органическим веществам, полученным из ископаемых источников/почв, а значения >1,9 соответствуют микробным источникам [58].

Биологический индекс (BIX) оценивает вклад автохтонной или биологической (микробной) активности в формировании гуминовых веществ. Если значение >1, то оно соответствует соединениям (гуминовым веществам) преимущественно биологического и микробного происхождения, тогда как <1 указывают на незначительный автохтонный (локальный) вклад исходного субстрата [59]. В данном случае значение BIX составило 0,12, вероятно, из-за преобладания гуминоподобных флуорофоров.

Индекс гумификации (HIX или индекс Zsolnay), используется для оценки ароматичности полученных продуктов БУ. Более высокие значения HIX (>10) соответствуют более высокой степени зрелости гуминовых веществ, в то время как низкие значения (<4) соответствуют их низкой степени [60].

Таблица 7 – Специфические индексы флуоресцентного анализа

Индексы флуориметрии	Длина волны	Значение	ГК
FI	Ex.370 nm, Em.470/520 nm	Источники гуминовых веществ	1.15 ± 0.02
BIX	Ex.370 nm, Em.380/430 nm	Происхождение гуминовых веществ	0.12 ± 0.01
HIX	Ex.255 nm, Em.435-480/300-345 nm	Степень зрелости гуминовых веществ	13.86 ± 0.13

Изоляцию микробных сообществ проводили из ризосферы дикорастущих растений, собранных в фазе созревания в умеренно засушливой зоне пришахтных территорий Экибастузского

угольного месторождения. Растения с корнями извлекали из грунта вместе с комом почвы и транспортировали в лабораторию в стерильных пакетах. Перспективными в идентифика-

ции и изучении большинства микроорганизмов являются молекулярные методы, позволяющие исследовать свойства микробных сообществ *in situ*. Метагеномика это анализ суммарного генетического материала, выделяемого из целой биологической системы. В метагеномных системах наиболее приоритетен 16S rRNA анализ, где на строении данной РНК основана современная филогенетическая классификация микроорганизмов. В рамках данного этапа исследования проведен метагеномный анализ ризосферы Эки-

бастузского угольного месторождения. Первичные данные по видовому богатству и индексы биоразнообразия проб приведены в табл. 8.

Выявленный в микробных сообществах уровень биоразнообразия, в целом, достигал высоких значений – около 776 видов. Повышенный уровень биоразнообразия проб может быть связан с его высокой степенью гумификации БУ, что является источником питательного и энергетического субстрата для роста и развития различных микроорганизмов.

Таблица 8 – Основные показатели биоразнообразия для ризосферы

Наблюдаемые виды	Индекс Shannon	Индекс Simpson	Chao1	ACE	Покрытие проб (Goods coverage)	Разнообразие всего филогенетического дерева
776	5.694	0.928	802.102	798.325	0.999	63.021

Интересным является тот факт, что проба ризосферы характеризуется высоким показателем индексов OUT и Shannon, что также указывает на наличие в объекте микробных сообществ климатского типа (рис.8).

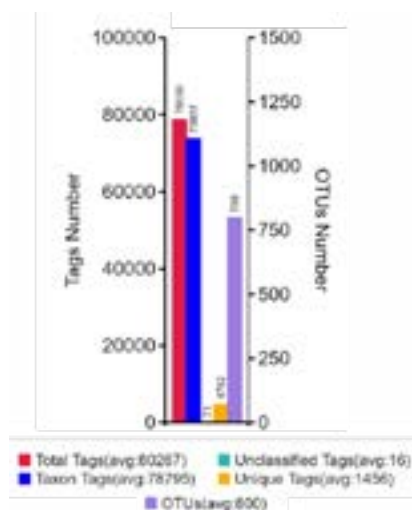


Рисунок 8 – Статистика кластеризации и аннотации по OUT

Бактериальные сообщества ризосферы сформированы преимущественно типами *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Firmicutes* и *Bacteroidetes* (рис. 11a). Наибольшую долю имеет *Proteobacteria*, часто занимающая доминантное положение в почвенной микробиоте.

При анализе таксономической структуры/последовательностей на уровне домена было обнаружено, что абсолютное большинство в микросообществе составляют бактерии (рис. 9). Так, доля архей составила всего 0,1 % (рис. 10).

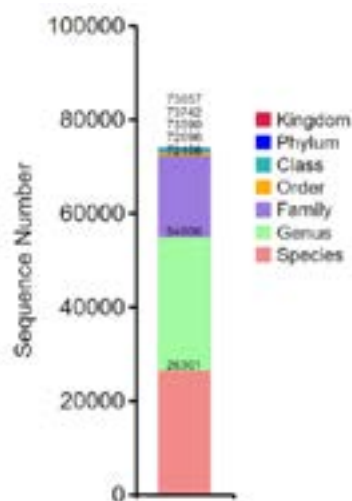


Рисунок 9 – Статистика последовательностей ризосферы на разных уровнях классификации

На уровне семейств в пробах были выявлены представители бактериальных групп *Micrococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroidaceae* и *Moraxellaceae*. Помимо бактерий с установленной систематической принадлежностью, пробы ризосферы со-

держали значимое количество неидентифицируемых на уровне семейства последовательностей, доля которых составляла 25% (рис. 11б).

Большая доля неопределенных последовательностей была выявлена не только на

уровне семейства, но и на уровне родов. Из рис. 10 видно, что доля этих последовательностей составляет 43%, что говорит о наличии в ризосфере богатого микро-биоразнообразия.

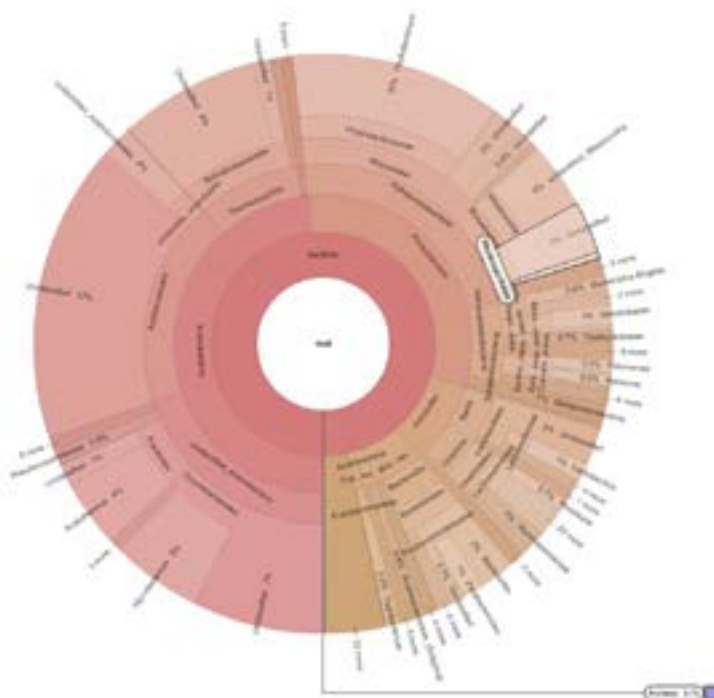


Рисунок 10 – Таксономическая классификация микробных сообществ ризосферы, визуализированная с помощью Krona

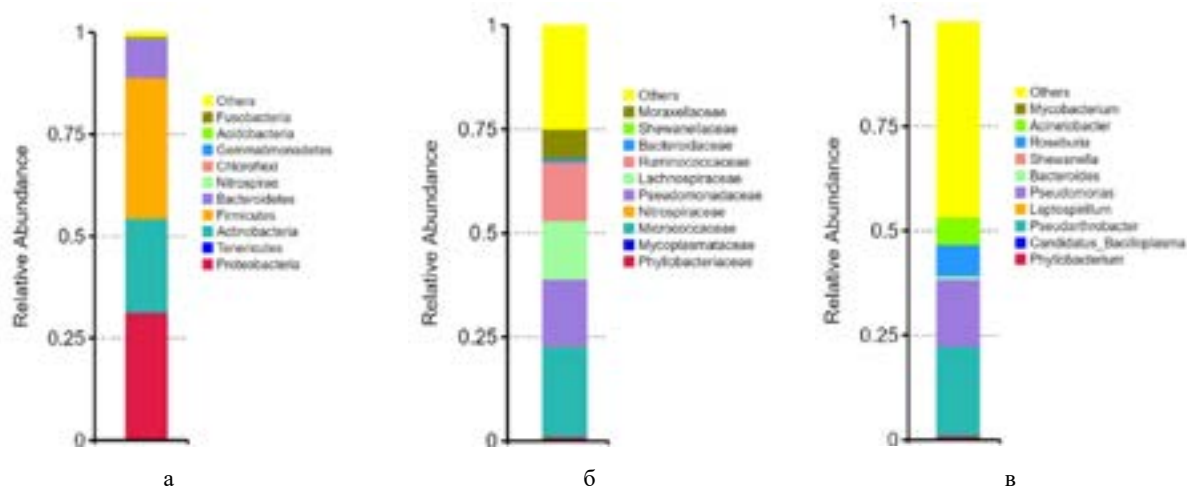


Рисунок 11 – Таксономическая структура прокариотов ризосферы (а – на уровне типа, б – на уровне семейства, в – на уровне рода)

Прокариотическое сообщество проб в основном состоит преимущественно из представителей родов *Pseudarthrobacter* (40,19%), *Bacteroides* (1,54%), *Roseburia* (14,05%), *Phyllobacterium* (1,85%), *Acinetobacter* (12,20%) и *Pseudomonas* (30,15%) (рис.12).

Для определения различных физиологических групп микроорганизмов ризосферы, были созданы селективные условия *in vi-*

tro, с применением селективных питательных сред, создающих более благоприятные условия для роста и развития определенного вида ризобактерий, стимулирующие рост растений (PCPP). Так, в результате проведенных исследований из проб ризосферы были выделены и идентифицированы до рода культуры бактерий, которые также были подтверждены методом *16S rRNA* (таб. 9).

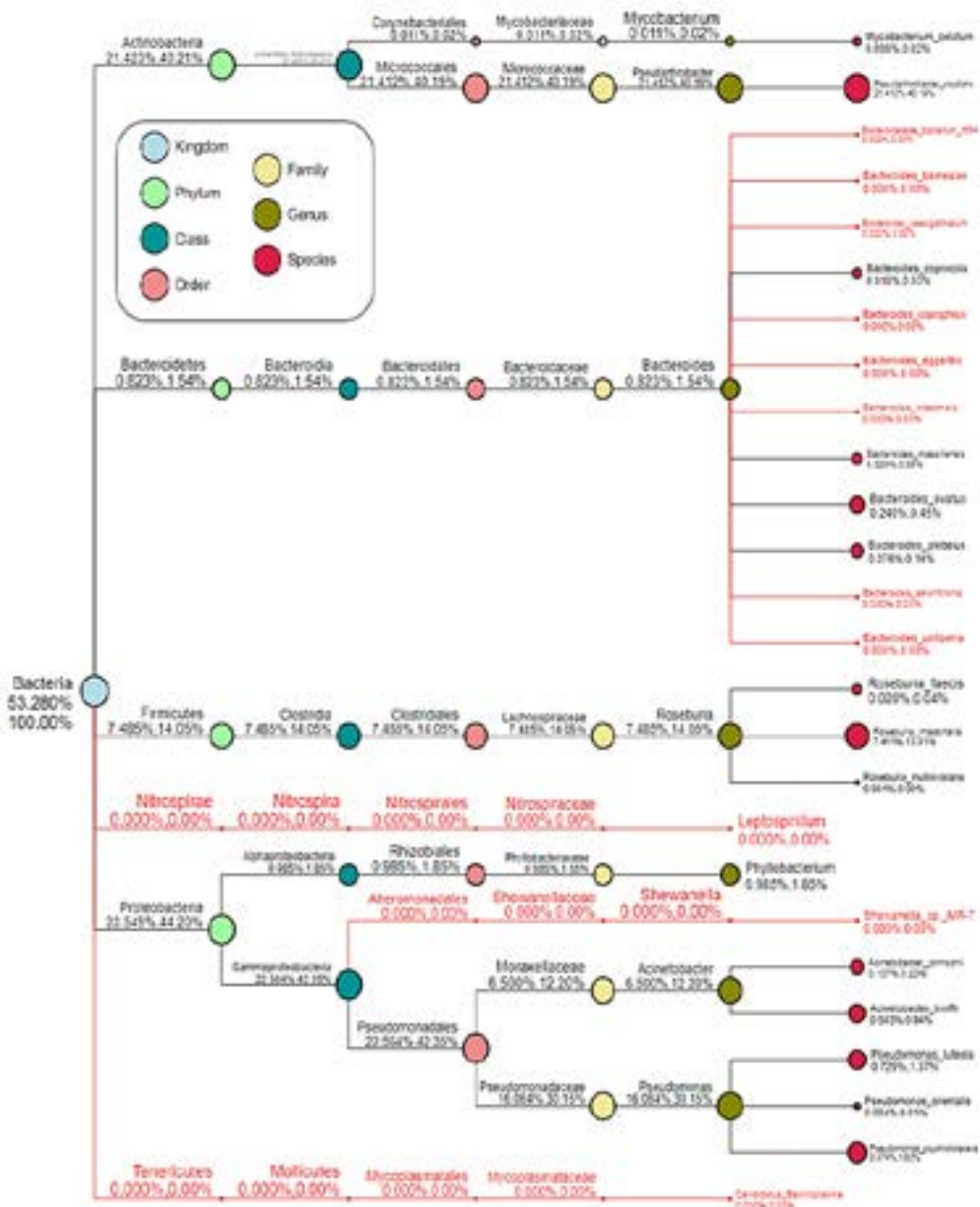


Рисунок 12 – Состав и соотношение отдельных видов ризосферы

Таблица 9 – Морфо-культуральные и физиолого-таксономические характеристики изолированных бактерий

Родовая принадлежность	Элективные среды	Микробиологические характеристики	Показатель 16S rRNA
<i>Azospirillum</i> sp.	<i>Azospirillum</i> medium	Грамотрицательные, не образуют спор, продолговатые палочки. Микроаэрофильные. Растут в присутствии солей органических кислот.	Рис. 10: порядок Rhodospirillales.
<i>Acetobacter</i> sp.	<i>Acetobacter</i> agar	Грамотрицательные, палочковидные, неподвижные. Эндоспор не образуют. Облигатные аэробы. Каталазоположительные	Рис. 13а: семейство Acetobacteraceae
<i>Bacillus</i> sp.	Питательная среда общего назначения	Грамположительные палочковидные, образуют внутриклеточные споры. Аэробы. Каталазная и оксидазная активности – положительные.	Рис. 13б: порядок Bacillales
<i>Pseudomonas</i> sp.	Luria-Bertani (LB) agar	Грамотрицательные, палочковидные, не образуют спор. Аэробы. Каталаза ⁺ , оксидаза ⁺	Рис. 13в: род <i>Pseudomonas</i> .
<i>Rhizobium</i> sp.	Yeast mannitol agar	Грамотрицательные, небольшие палочковидные аэробы. Среду с минеральными солями при росте подкисляют.	Рис. 13г: порядок Rhizobiales

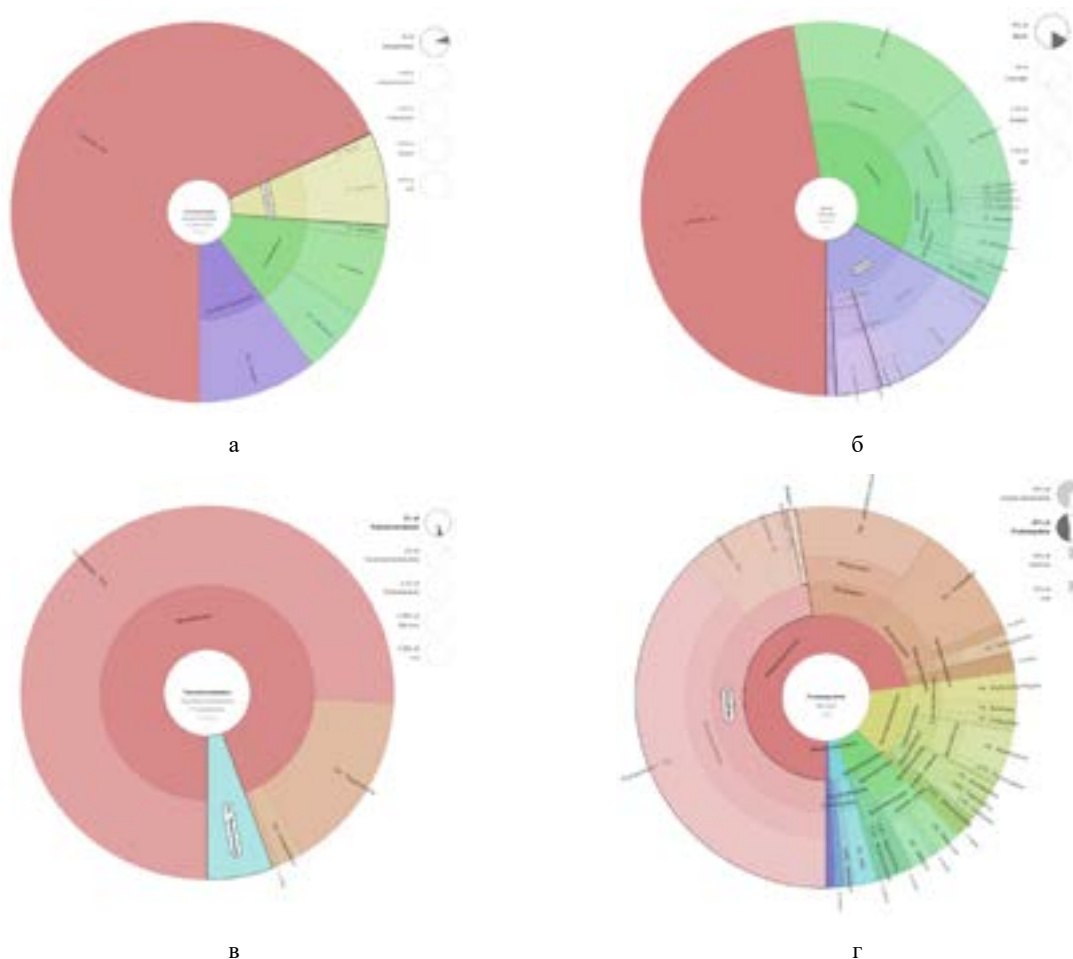


Рисунок 13 – Визуализация веб-таксономии Крона на примере:
 а – семейство *Acetobacteraceae*, б – порядок *Bacillales*, в – род *Pseudomonas*, г – порядок *Rhizobiales*

Проведенная работа позволяет связать особенности разнообразия и структуры микробных сообществ, изученные при помощи 16S rRNA и *in vitro*, с особенностями ризосферы как экологической ниши.

Два вида УЗ (УЗ-1: бедные углеродом (<80 мкм) и УЗ-2: богатые углеродом (> 80 мкм) были испытаны на модификацию с ГК. Результаты указывают на существенные различия в адсорбции ГК на обеих УЗ. В частности, УЗ-1 удерживает больше ГК ($2,1 \text{ мг г}^{-1}$) по сравнению с УЗ-2 ($1,7 \text{ мг г}^{-1}$), что напрямую связано с размером УЗ. Время взаимодействия адсорбент-адсорбата и кислотность раствора, которые эффективны при

разработке процесса адсорбции, имеют большое значение в феномене модификации. Удержание ГК в УЗ увеличивается в течение первых 30 мин, а затем остается практически константным; то есть достигает равновесного состояния. Кислотность раствора влияет как на поверхностный заряд адсорбента, так и на равновесие протонирования-депротонирования адсорбата. Рис. 14 показывает, что нейтральные рН в основном способствуют адсорбции ГК на УЗ. Повышение рН может привести к депротонированию как УЗ, так и ГК, в то время как при низких значениях рН и адсорбат, и адсорбент становятся положительно заряженными.

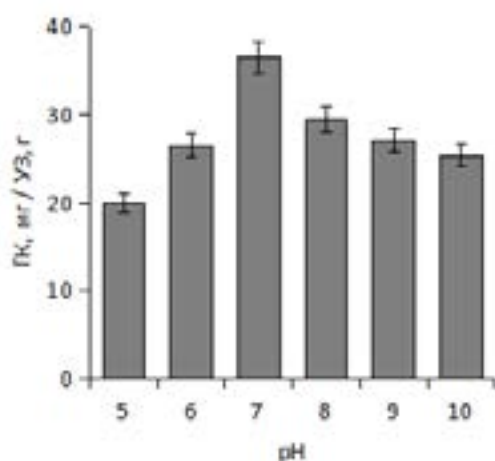


Рисунок 14 – Удержание ГК при изменении рН

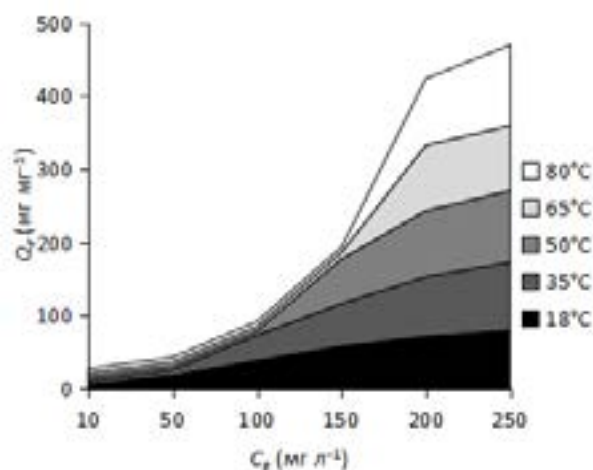


Рисунок 15 – Адсорбция ГК на УЗ с изменением температуры

Адсорбция равновесная. На рис.15 показаны значения равновесного ГК содержания Q_e в УЗ в зависимости от ГК в растворе C_e (равновесная концентрация) при температурах 18, 35, 50, 65, и 80°C. Как видно, все изотермы имеют сигмоидальную форму, соответствующую изотерме адсорбции по классификации Брунауэра-Деминга-Деминга-Теллера (БДДТ), которая становится более отчетливой с повышением температуры. Адсорбция ГК на УЗ составляет от 0,5 до 100 мгГК / г УЗ при температурах от 18 до 80 °С, соответственно. Адсорбционная способность увеличивается с повышением температуры от 1 до 50 мг ГК / г УЗ при температурах от 18 до 80 °С, соответственно.

Адсорбция сопровождается разными процессами, такими как, энергетическими барьерами,

конформационные изменения, множественные равновесия и механизмами удерживания, которые вносят вклад в эндотермический характер адсорбции [28]. Таким образом, «перегиб» на изотерме адсорбции представляет собой перезапуск адсорбции, возможно, из-за образования многослойности и/или начала другого подпроцесса адсорбции [29].

Изотермы адсорбции. Для выявления различных физико-химических свойств, характеризующих изотермы адсорбции, использовались действующие модели адсорбции (изотермы Фрейндлиха, Гаркинса-Юра, БЭТ (Брунауэр, Эммет, Теллер) и Дубинина-Радушкевича) (рис. 16).

Уравнение изотерма адсорбции Фрейндлиха [30] обеспечивает адекватную математиче-

скую модель для описания процесса адсорбции (табл.10), определяя неоднородно-распределенные сайты адсорбции. Доказано, что такое неравномерное расположение гетерогенно адсорбированных ГК способствует развитию локальных мультислоев и агрегатов адсорбата [31].

Уравнение изотермы адсорбции Гаркинса-Юра [32] в основном основано на предположе-

нии о неравномерном распределении сайтов адсорбции и неприменима, если не сформирован конденсированный слой. По сравнению с моделью БЭТ наличие линейной области намного шире, включая более высокие концентрации адсорбата. Однако совокупность мультислоев в случае адсорбции ГК, по-видимому, лучше соответствует требованиям БЭТ (табл. 10).

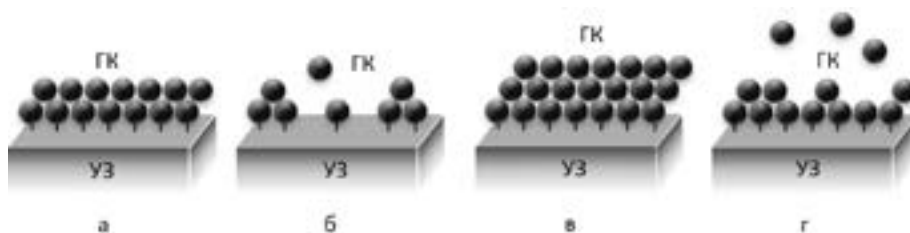


Рисунок 16 – Разные модели изотерм адсорбции: а – изотермы Фрейндлиха, б – Гаркинса-Юра, в – БЭТ, г – Дубинина-Радушкевича. ГК – гуминовая кислота, УЗ – угольная зола

Таблица 10 – Коэффициенты корреляции линейных уравнений адсорбции

Модели изотермы	Уравнение изотермы	Температура, °С	Значение, R ²
Фрейндлих	$\log Q_c = \log K_f + (1/n) \log C_c$	18	0.99
		35	0.98
		50	0.89
		65	0.81
		80	0.79
Гаркинс-Юра	$1/Q_c^2 = B/A - (1/A) \log C_c$	18	0.86
		35	0.98
		50	0.81
		65	0.53
		80	0.84
БЭТ	$C_c/Q_c(1-C_c) = 1/X_m K_B + ((K_B-1)/X_m K_B) C_c$	18	0.99
		35	0.94
		50	0.86
		65	0.89
		80	0.93
Дубинин-Радушкевич	$\ln Q_c = \ln X_m - \beta [RT \ln(1 + (1/C_c))]^2$	18	0.96
		35	0.86
		50	0.99
		65	0.81
		80	0.89

Уравнение изотермы адсорбции БЭТ [33] лучше описывает адсорбционное поведение ГК на частицах УЗ, хотя эта модель не учитывает однородную адсорбционную поверхность и дает линейную область только при более низких концентрациях адсорбата. Исходя из этого, применимость уравнения БЭТ является следствием существования различных участков однородной

поверхности, на которых адсорбция происходит последовательно [31, 34].

Уравнение изотермы адсорбции Дубинина-Радушкевича [35] предполагает распределение Гаусса, адсорбционного пространства по отношению к адсорбционному потенциалу. Считается, что адсорбция является результатом проникновения молекулы адсорбата в пору; процесс

описывается в соответствии с уравнением Поляни энергетики внутри пустого пространства твердых тел и применяется, скорее, к структурно однородным системам [36]. Данная модель вполне соответствует экспериментальным данным по адсорбции ГК (табл. 10).

Изучение процесса десорбции. Проведены эксперименты по десорбции для оценки способности УЗ «отдавать» адсорбированные ГК обратно, что полезно при потенциальном применении поверхностно модифицированной УЗ в качестве мелиоранта с медленным высвобождающим эффектом. Так как ГК медленнее освобождается в кислой или в нейтральной средах, эксперименты проводились в щелочной среде (рН = 8-10). Более высокие значения рН не эффективны поскольку не являются необходимыми для обработки почвы. Результаты, представленные на рис. 17,

демонстрируют, что большая часть ГК (80%) высвобождалась во время первых трех промываний; однако ГК были обнаружены и после шестого промывания УЗ. Эти тенденции явно указывают на тот факт, что ГК прочно связана с УЗ, что обеспечивает ее медленное высвобождение при многократном промывании в щелочных условиях.

УЗ-ГК готовили с различным соотношением ГК к УЗ. Бурый уголь Экибастузского угольного месторождения использовался в качестве сырья для получения как УЗ, так и ГК. Удерживание ГК на УЗ исследовали при 18, 35, 50, 65 и 80°C и при нескольких значениях рН (5-10). Было обнаружено, что адсорбционная способность увеличивается при нейтральном рН, а также при повышении температуры, т.е. с 760 до 1300 мг ГК / г УЗ при температурах от 18 до 80°C, соответственно.

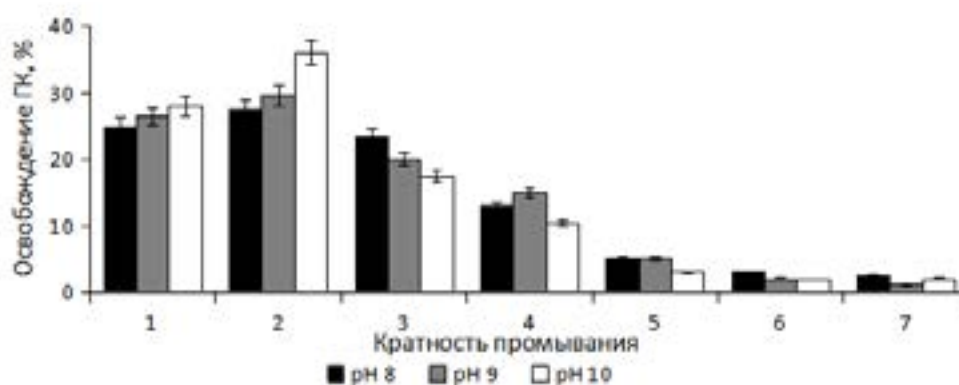


Рисунок 17 – Десорбция ГК из УЗ

УЗ продемонстрировала высокую способность к «кооперации» с ГК. Модели изотерм Фрейндлиха, Гаркинса-Юра, БЭТ и Дубинина-Радушкевича были использованы для интерпретации адсорбции и физико-химических свойств системы адсорбент-адсорбат. Медленное высвобождение адсорбированных ГК во время процесса десорбции может послужить эффективной биофункциональной стратегией для использования УЗ-ГК в сельском хозяйстве.

РСРР являются важной частью микробных сообществ почвы, функция которых заключается в модуляции естественных процессов для повышения усвоения и эффективности питательных веществ в почве, устойчивости к стрессовым факторам, а также производительности и качества растений. Цель данного этапа исследования

состояла в изучении биотехнологического потенциала (физиологические и функциональные свойства, активность солибилизации фосфатов, способность к биологической фиксации азота) выделенных культур.

Физиолого-функциональные свойства культур бактерий. Изучение функциональной роли выделенных культур является основанием для прикладных исследований при использовании изолятов, направленных, прежде всего, на развитие системы мелиорации [37]. Физиологическое и функциональное профилирование проводилось на основе мультисубстратного тестирования BiologEcoPlate™. После 10 дней обработки изоляты бактерий показали высокую тенденцию утилизации источников углерода (рис. 18).

Субстратами, которые утилизируются бактериями больше всего, были следующие карбоновые кислоты: D-глюкозаминовая кислота, D-галактон- γ -лактонная кислота, D-галакту-

роновая кислота, γ -аминомасляная кислота; углеводы: метиловый эфир пировиноградной кислоты, β -метил-D-гликозид; аминокислоты: L-треонин и L-аргинин; и полимер: гликоген.

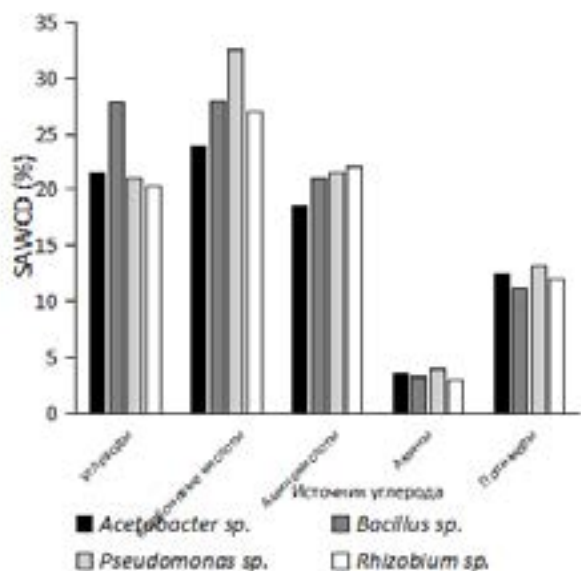


Рисунок 18 – Степень использования субстратов С, выраженная в процентах от SAWCD

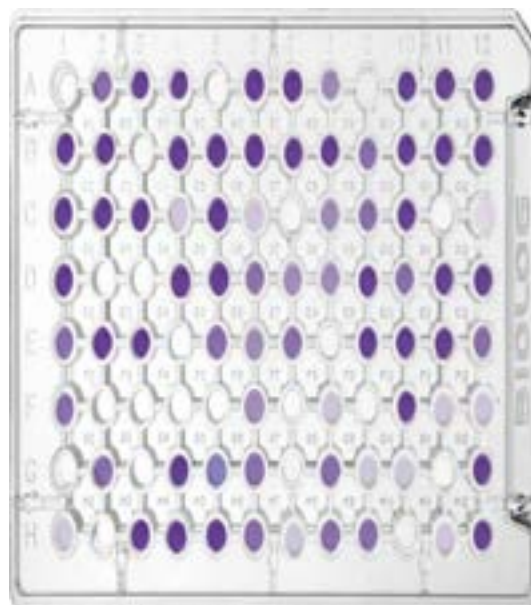


Рисунок 19 – BiologEcoPlates™ штамма *Pseudomonas sp.*

Субстратами с наименьшим расходом были карбоновые кислоты: итаконовая кислота, 4-гидроксибензойная кислота, D-яблочная кислота, 2-гидроксибензойная кислота, α -кетомасляная кислота; углеводы: глюкозо-1-фосфат, изо-эритрит, D-целлобиоза, D-ксилоза, α -D-лактоза, D-маннит, N-ацетил-D-глюкозамин; аминокислоты: L-фенилаланин, L-серин, глицил-L-глутаминовая кислота, L-аспарагин; полимеры: твин 80, твин 40, α -циклодекстрин; и амины: фенилэтиламин, путресцин. Высокая физиолого-функциональная активность изолята *Pseudomonas sp.* была отмечена в отношении D-галактонная кислота γ -лактон, β -метил-D-гликозид, D-ксилозы, α -D-лактозы, метиловый эфир пировиноградной кислоты (рис. 19). Таким образом, данная модель использования источников С может быть связана с наличием множества источников С на разных уровнях трансформации, которые доступны для микроорганизмов. Такое метаболическое разнообразие среди изолятов может способствовать реализации уникальных метаболических стратегий.

Фосфатрастворяющая активность культур бактерий. Эксперименты на PVK с культурами

бактерий показали высокие результаты при исследовании способности изолятов растворять фосфат (рис. 20, 21). Эффективность солиubilизации фосфатов культурой *Pseudomonas sp.* (морфология клеток показана на рис. 22). была значительно выше по сравнению с другими культурами. Способность этой культуры растворять фосфаты поддерживалась на более высоком уровне в течение 4 дней. Среди различных протестированных бактерий *Acetobacter sp.* образовала небольшой ореол на PVK.

Определение азотфиксирующей способности изолята *Rhizobium sp.* Бактерии, фиксирующие азот, являются свободноживущими и хорошо растут на безазотной среде. Эти микроорганизмы используют атмосферный азот для синтеза клеточного белка. Минерализуемый, таким образом в почве азот, становится более доступным для сельскохозяйственных культур.

Рост культур бактерий на среде Дженсена показывает их способность связывать азот. Было обнаружено, что изолят *Rhizobium sp.* способен расти на среде Дженсена, образуя полупрозрачные колонии (рис. 23).

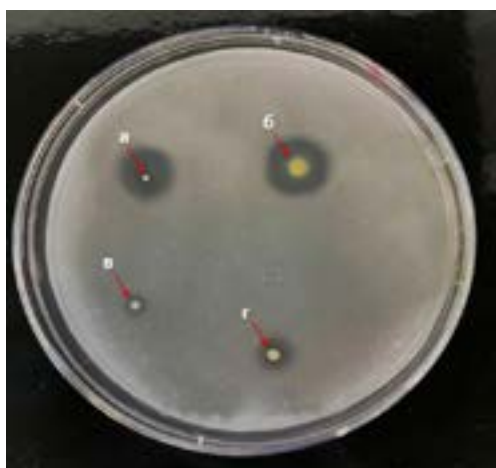


Рисунок 20 – Прозрачные ореолы культур на PVK: а-*Pseudomonas* sp., б-*Bacillus* sp., в-*Acetobacter* sp., г-*Rhizobium* sp.

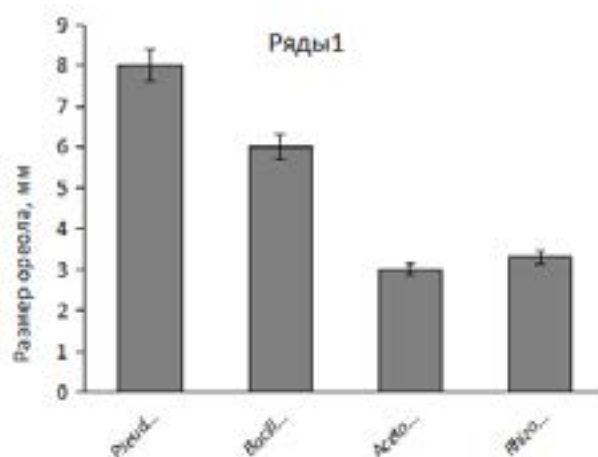


Рисунок 21 – Учет результатов по диаметру ореола на PVK

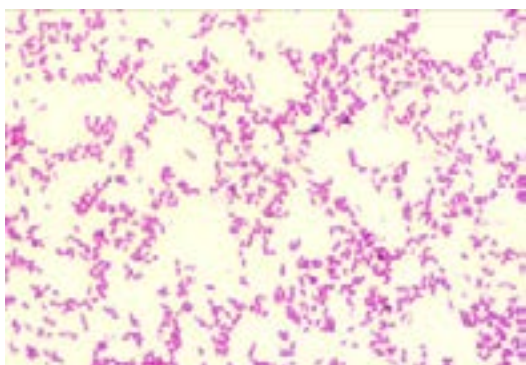


Рисунок 22 – *Pseudomonas* sp. (окраска по Граму)



Рисунок 23 – Колонии *Rhizobium* sp. на среде Дженсена

Химические и минералогические свойства компонентов/композиата на основе угля зависят от свойств и природы исходного состава субстрата. УЗ содержит большое количество гидроксидов, оксидов и сульфатов кальция и железа, и выщелачиваемых микроэлементов. Их содержание в УЗ-ГК после интеграции практически осталось неизменными. Наиболее важными составляющими УЗ и УЗ-ГК являлись SO_2 , Fe_2O_3 , Al_2O_3 , CaO , SiO_2 , K_2O , TiO_2 и MgO (табл. 11).

СЭМ-изображения УЗ и ее композита, заполненного ГК показаны на рис. 24. На снимках УЗ видны твердые и некоторые полые частицы различного размера, тогда как, на снимках УЗ-ГК можно увидеть несколько более крупных ча-

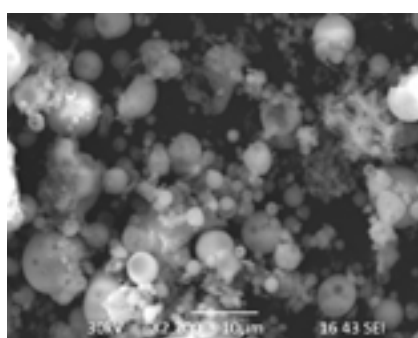
стиц, которые могут быть сформированы путем агломерации ГК.

На рис. 25 представлены рентгенограммы образцов УЗ и УЗ-ГК. Дифрактограммы содержат несколько отчетливых пиков с идентификацией минералов; кварц (quartz) и муллит (mullite) встречались преимущественно с примесями других минералов. О присутствии этих минералогических компонентов в образцах УЗ также сообщалось в литературе [4, 11].

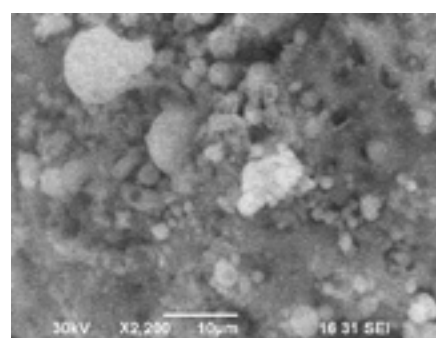
На дальнейшем этапе работы композит на основе УЗ-ГК был интегрирован с образцами из почвенного микроскопа для изучения его целостности и стабильности в качестве агро-мелиоранта.

Таблица 11 – Химический состав УЗ и композита

Соединение, %	УЗ	УЗ-ГК	Соединение, ppm	УЗ	УЗ-ГК
MgO	0,232	0,263	NiO	8,9	24,9
Al ₂ O ₃	13,297	13,436	CuO	88,9	93,9
SiO ₂	32,325	33,593	ZnO	56,1	67,5
P ₂ O ₅	0,277	0,290	Ga ₂ O ₃	38,9	41,5
SO ₃	0,186	0,159	As ₂ O ₃	19,5	21,4
K ₂ O	0,535	0,618	SeO ₂	22,2	3,6
CaO	1,665	1,797	Rb ₂ O	470,9	24,2
TiO ₂	1,011	1,011	SrO	57,5	467,7
Fe ₂ O ₃	4,859	4,713	Y ₂ O ₃	389,1	54,8
			ZrO ₂	14,1	380,9
			Nb ₂ O ₅	112,7	12,7
			Ag ₂ O	46,4	544,0
			V ₂ O ₅	282,9	266,1
			Cr ₂ O ₃	35,5	47,5
			MnO	824,0	810,6



а



б

Рисунок 24 – СЭМ-изображения образцов: а – УЗ; б – УЗ-ГК композита

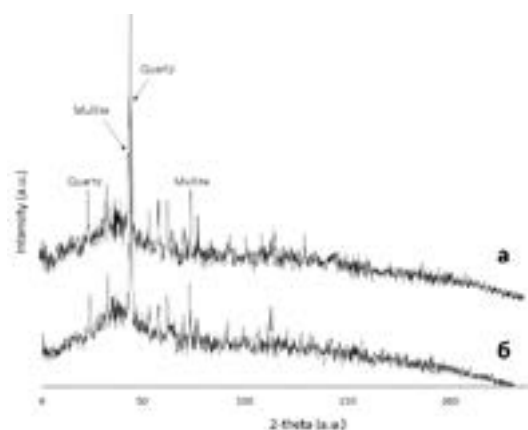


Рисунок 25 – Рентгенограммы образцов УЗ и УЗ-ГК

Сообщаемые концентрации обоих компонентов ГК и УЗ, используемые для обработки почвы, значительно различаются. Например, Chen и Aviad [38] оценили среднюю дозу для полевых применений в 75 кг ГК на га (10-250 кг га⁻¹). В отличие от коммерчески доступных ГК, которые были тщательно изучены в горшечных условиях, данные о ГК, полученных из бурого угля, немногочисленны. Применимая концентрация ГК на основе угля может сильно варьироваться, что затрудняет определение эффективных доз обработки. Кроме того, структура и содержание угольных ГК могут отличаться от почвенных ГК [39, 40]. Другие факторы, такие как технология экстракции, предварительной обработки и применения ГК, также могут иметь значительное влияние на общую продуктивность урожая [41, 42]. В случае УЗ, установленная доза составляет 1 г (в пересчете на сухой вес) на 1 кг почвы, что эквивалентно полевому внесению 1 т га⁻¹ [42].

В данной работе композит в дозе 1 г кг⁻¹ был выбран для дальнейших этапов анализа по следующим причинам: (1) уровни ГК в горшках могут быть выше, чем в полевых испытаниях, (2)

исследуемые почвы имели относительно низкое содержание органических веществ и обрабатывались только разовой дозой ГК на протяжении всего опыта, и (3) биодоступность ГК, полученных из бурого угля, может отличаться от таковых в почве и торфе. Соотношение 10 мг ГК: 1 г УЗ было выбрано как оптимальное для увеличения поступления органического углерода в почву и для поддержания наиболее динамического уровня НРК. Кроме того, интактные образцы почвы обрабатывались УЗ и ГК отдельно для изучения их единоличного действия. В качестве контроля подготовлены почвы без добавок. Каждый эксперимент имел не менее 5 повторностей.

Горшечные опыты проводились со следующими почвами, инокулированными РСРР:

1. Темно-каштановая почва была получена из Ботанического сада в г. Алматы, Казахстан (43°13'07.9» N 76°54'49.6»E).

2. Илесто-глинистая почва была взята на территории агробиостанции КазНУ им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан (43°27'57.4»N 76°58'32.5»E).

Физико-химические свойства образцов почв показаны в таблице 12.

Таблица 12 – Основные характеристики состава и свойств почв

Варианты почвы	Физический состав, %			Химические характеристики		
	Песок	Ил	Глина	pH	Соли, г кг ⁻¹	Орг. вещ., г кг ⁻¹
№ 1	20,3	33,9	45,8	6,8	0,02	1,6
№ 2	24,8	69,4	5,8	6,1	0,03	1,8

Пробы почвы отбирали после 10, 30 и 60 дней обработки в соответствии с действующими нормативными документами [20] для проведения физико-химических и биохимических анализов.

Внесение компонентов/композита обусловило изменение водно-физических свойств почв. Исследование показало, что УЗ-ГК позволяет повысить влажность почвы. В среднем, за период проведения эксперимента в слое <15 см влажность обеих почв в УЗ-ГК имела значения выше контроля на ~10%.

Объемная масса почвы является важным показателем ее физического состояния. В данным

опыте снижение данного показателя в слое <15 см наблюдалось в вариантах с УЗ-ГК по сравнению с контролем (табл. 13).

Внесение компонентов угля обусловило также снижение твердости почвы; в среднем за время исследования твердость почвы по сравнению с контролем снизилась на 10%. Максимальное снижение твердости было отмечено в варианте с УЗ-ГК.

Внесение компонентов обусловило и изменение водопроницаемости почвы от средней до хорошей оценки. При этом, в контроле водопроницаемость почвы была незначительной (рис. 26).

Таблица 13 – Водно-физические свойства почв при внесении угольных компонентов (60 дней)

Варианты	Влажность, % (d.w.)		Объемная масса, г см ⁻³		Твердость, г см ⁻³	
	Почва №1	Почва №2	Почва №1	Почва №2	Почва №1	Почва №2
Контроль	46,6	45,0	1,36	1,19	7,6	8,1
УЗ	55,5	51,3	1,24	1,13	6,8	7,3
ГК	49,2	47,1	1,31	1,18	7,2	7,8
УЗ-ГК	55,4	51,0	1,06	0,89	6,9	7,3

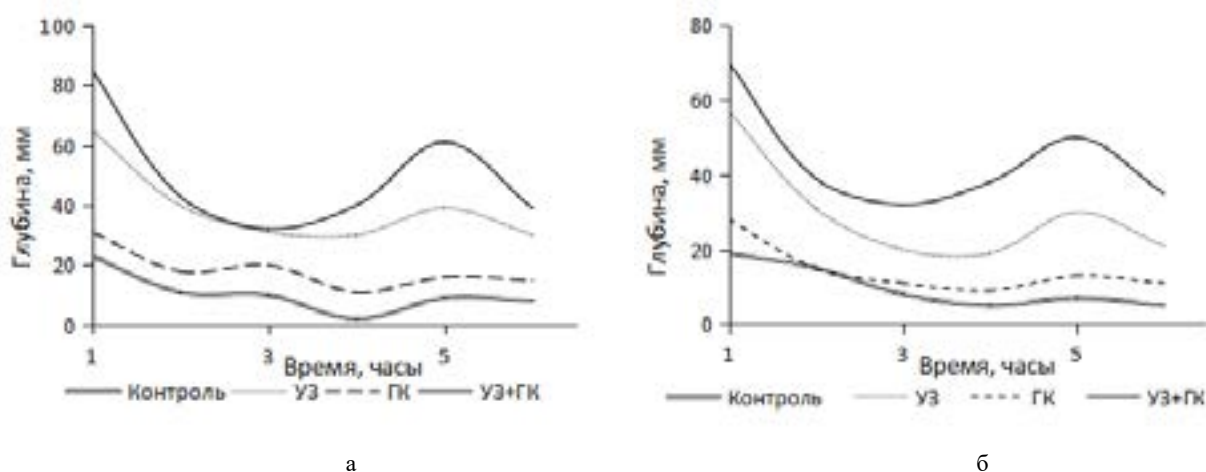


Рисунок 26 – Влияние компонентов угля на водопроницаемость почвы (напор воды Н=5 см): а – почва №1; б – почва №2

Наличие в почве достаточного количества питательных веществ (НРК) является одним из главных условий формирования урожаев. Например, N питание оказывает влияние на общее развитие и продуктивность агрокультуры; P стимулирует созревание плодов повышает устойчивость к заболеваниям, способствует здоровому развитию корневой системы и положительно

влияет на засухоустойчивость агрокультуры; K показывает существенное влияние на физиологические процессы и рост растений [5, 9].

В ходе работ, эффект от внесения угольных компонентов проявился также в снижении кислотности почвы. Внесение УЗ-ГК в почву обусловило снижение водной кислотности на <5% для почвы №1 и на ~10% для почвы №2 (табл. 14).

Таблица 14 – Изменение химических свойств почв при внесении угольных компонентов (60 дней)

Почва →	рН		NO ₃ , мг кг ⁻¹		P ₂ O ₅ , мг кг ⁻¹		K ₂ O, мг кг ⁻¹	
	№1	№2	№1	№2	№1	№2	№1	№2
Контроль	6.8	6.1	5.2±0.1	5.0±0.1	73±0.4	70±0.3	150±0.1	138±0.2
УЗ	7.0	6.5	5.3±0.2	5.1±0.3	76±0.2	75±0.2	184±0.3	177±0.6
ГК	6.8	6.2	5.1±0.1	5.0±0.3	73±0.2	71±0.3	153±0.5	141±0.3
УЗ-ГК	7.1	6.8	5.3±0.2	5.1±0.2	79±0.3	77±0.2	186±0.3	179±0.2

Внесение продуктов угля в почву привело к незначительному изменению содержания нитратного азота, однако содержание водорастворимого фосфора возросло на ~10% по сравнению с контролем. Внесение УЗ-ГК обусловило повышение содержания обменного калия в почве на 24-30% по сравнению с контролем.

Микробное дыхание и активность ферментов. Внесение мелиорантов в почву может сильно повлиять на микробное разнообразие почвы, ее численность и состав, что приведет к изменению динамики почвенного органического углерода (ПОУ) и увеличению выбросов CO_2 . Состав почвенного микробного сообщества по-разному реагирует на субстраты, различающиеся по химическим свойствам [43, 44]. Опыты проводились с илисто-глинистой почвой (№2) территории агробиостанции КазНУ им. аль-Фараби с целью подготовки биогеологической основы для дальнейших исследований в полевых условиях. В целом, эмиссия CO_2 проходила по схожей схеме во всех вариантах обработки; в течение первых дней внесение компонентов угля имело значительно более низкую частоту дыхания ($P < 0,05$). Увеличение дыхания почвы с УЗ-ГК было отражено как кумулятивное дыхание; на рис. 27 заметно, что УЗ повышает общее количество выдыхаемого почвой CO_2 за 90 дней как в отдельной, так и в комбинированной форме. Почва, обработанная ГК, имела более низкое

кумулятивное дыхание, чем УЗ. Это явление согласуется с предыдущими данными, показывающими, что применение продуктов угля стимулирует гетеротрофное дыхание. В результате, лабильные компоненты угля метаболизируются почвенными микроорганизмами или происходит естественный процесс минерализации [45, 46].

Активность ферментов является чувствительным индикатором экологического стресса во многих сельскохозяйственных системах, а окислительные ферменты, такие как пероксидаза и фенолоксидаза, играют ключевую роль в процессах биодegradации и детоксикации ароматических загрязнителей. Эти ферменты выделяются грибами и бактериями для разложения разных углей и стойких органических веществ [47].

Активность дегидрогеназы снижалась в течение инкубационного периода, но существенно не различалась между вариантами обработки (рис. 28). В течение первой недели активность фермента была относительно постоянной, после чего наблюдалось значительное снижение во всех вариантах обработки почвы. В конце инкубационного периода его активность составляла около 2 мг ТРФ (трифенилформазан) г^{-1} в сухой почве ч^{-1} . Компоненты угля (УЗ и ГК) не повлияли на активность этого фермента; однако у варианта с композитом УЗ-ГК наблюдалось увеличение активности фермента.

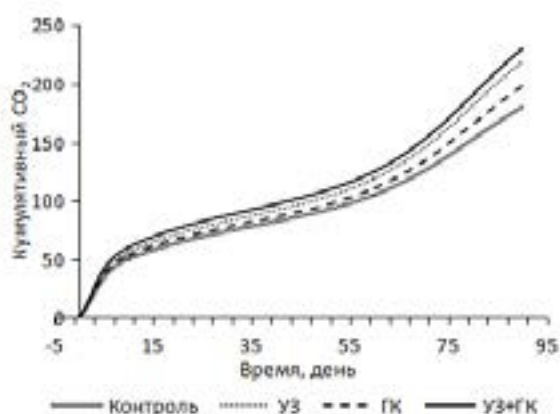


Рисунок 27 – Влияние компонентов угля на дыхание почвы

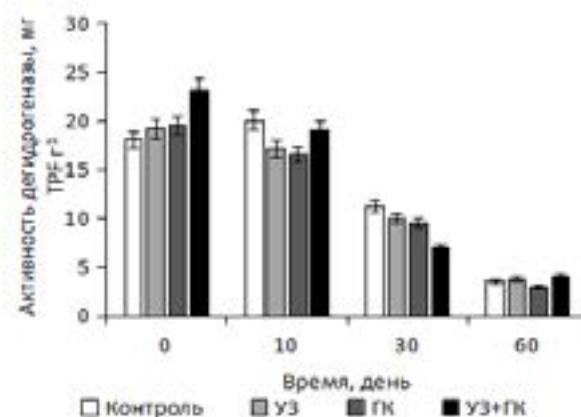


Рисунок 28 – Изменение активности дегидрогеназы при внесении компонентов угля

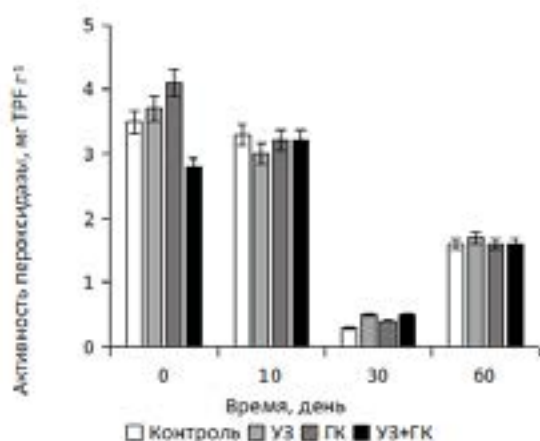


Рисунок 29 – Изменение активности пероксидазы при внесении компонентов угля

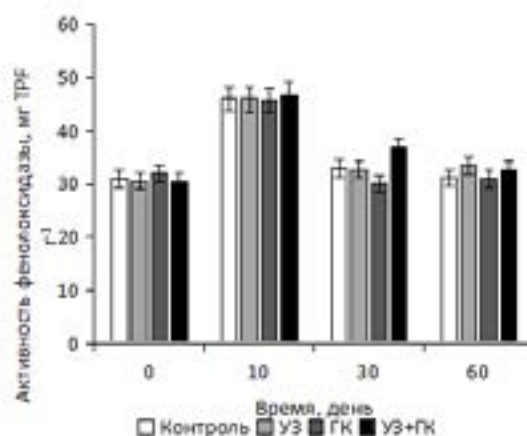


Рисунок 30 – Изменение активности фенолоксидазы при внесении компонентов угля

Активность пероксидазы оставалась высокой в течение первой недели до резкого снижения, измеренного через 30 дней (рис. 29). Увеличение активности этого фермента в почвах, обработанных компонентами угля, по сравнению с контролем при том же времени отбора проб наблюдалось через 60 дней после инкубации.

Активность фенолоксидазы была схожей во всех вариантах лечения (рис. 30); ее активность увеличивалась и достигала пика через 10 дней инкубации, после чего она снижалась и оставалась неизменной до конца инкубации. Активность этого фермента при обработках УЗ-ГК была выше, чем при обработках УЗ или ГК, и различия наблюдались на протяжении всего периода инкубации. Таким образом, было обнаружено, что применение композита УЗ-ГК имело незначительное влияние на активность ферментов почвы.

Заключение

В ходе проведения физико-химических анализов проб УЗ Аксуской электростанции установлены следующие качественные характеристики: содержание элементов (%) С – 67,67, О – 20,93, Si – 6,31, Al – 3,08 и другие 2,01. Установлено, что основными компонентами УЗ являются SiO_2 и Al_2O_3 , содержание которых равно 59,74% и 27,44%, соответственно. Раман-спектроскопией выявлено наличие в пробах УЗ кварца и оксида железа. Распределения частиц по размеру характеризуются значениями d_{10} – 4,3 мкм, d_{50} – 31,5 мкм и d_{90} – 86,0 мкм. Основными морфологи-

ческими типами частиц являются микросферы с непористой гладкой поверхностью.

По результатам физико-химических анализов проб БУ Экибастузского угольного месторождения установлены следующие качественные характеристики угля (%): W – 7,1%, А – 38,9, V – 23, а Q – 32 МДж/кг. Элементный анализ БУ показал следующие содержания (%): С – 77,1, Н – 5,08, N – 2,12, S – 0,9, О – 14,8. Из данного БУ модифицированным методом была экстрагирована ГК, ее выход составил 75,1%. Результаты ИК-спектроскопии показали, что в спектрах ГК присутствуют моды колебаний, относимые к основным С-Н, CH_2 , COO^{-1} , С-О группам. Значения спектров флуоресцентной ЕЕМ выявили автохтонную (FI – 1,15, ВIX – 0,12) природу гуминовых веществ, а индекс НИХ продемонстрировал более высокую гумификацию продуктов БУ (13,86).

Впервые на основе высокопроизводительного секвенирования нового поколения Illumina описаны таксономическая структура и биоразнообразии микробного сообщества проб ризосферы пришахтной территории Экибастузского угольного месторождения. По результатам были проанализированы группы бактерий, принадлежащие к *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. Выделены и идентифицированы PCPP родов *Azospirillum* sp., *Acetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. и *Rhizobium* sp. Изучены их морфолого-культуральные и физиологические особенности.

УЗ продемонстрировала более высокую аффинность в отношении ГК; было обнаружено, что адсорбционная способность УЗ увеличи-

вается при нейтральном рН, а также при повышении температуры с 1 до 50 мг ГК / г УЗ при температуре от 18 до 80 °С, соответственно. Модели изотермы Фрейндлиха, Гаркинса-Юра, БЭТ и Дубинина-Радушкевича были использованы для оценки продолжающейся адсорбции и выяснения физико-химических свойств системы адсорбент-адсорбат. Медленное высвобождение адсорбированных ГК из УЗ во время промывания считается эффективным для использования УЗ-ГК в биофункциональных сельскохозяйственных системах для корректировки почвы.

BiologEcoPlate™ анализ показал, что изоляты имеют более высокую эффективность использования источников углерода карбоновых кислот, аминокислот, аминов и полимеров. Аналогичную тенденцию выявил анализ SAWCD. По результатам измерений прозрачных ореол, из четырех изолятов штаммы *Pseudomonas* sp. и *Bacillus* sp. оказались наиболее активны в фосфатрастворении. Анализ азотфиксирующей способности *Rhizobium* sp. показал, что активность этого изолята высокая, что делает его перспективным для коллективного использования в РСРР.

В работе композит УЗ-ГК был использован в дозе 1 г кг⁻¹, что эквивалентно полевому внесению 1 т га⁻¹. Такая доза была выбрана как самая

эффективная на основе результатов анализов и как средняя на основе анализа литературных данных. Горшечные опыты проводились с использованием темно-каштановой и илисто-глинистой почв.

Внесение компонентов/композита угля способствовало улучшению физико-химических свойств почв: возросла влажность почвы в слое <15 см на ~10%. Несение УЗ-ГК снизило объемную массу почвы на ~20% и твердость почвы на 10%. Внесение продуктов угля снизило почвенную кислотность, увеличило содержание P₂O₅ и K₂O. Композит УЗ-ГК незначительно увеличивал активность ферментов в почвах. Кроме того, тот факт, что интенсивность дыхания почв, обработанных УЗ-ГК была выше, чем у обработанных отдельными компонентами угля (УЗ или ГК), подтверждает утверждение о том, что композит представляет собой стабильный органический мелиоранта с высоким потенциалом для использования в сельском хозяйстве и охране окружающей среды.

Финансирование











Данное исследование финансируется Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (грант № AP08855394).

Литература

- 1 Ram, L.C.; Masto, R.E. Fly ash for soil amelioration: A review on the influence of ash blending with inorganic and organic amendments. *Earth-Science Rev.* 2014, *128*, 52–74.
- 2 Li, M. *Peak oil, climate change, and the limits to China's economic growth*; New York : Routledge: New York, 2014; ISBN 1317820304.
- 3 Riazi, M.R.; Gupta, R. *Coal Production and Processing Technology*; 1st Editio.; CRC Press, 2015; ISBN 9780429161933.
- 4 Izquierdo, M.; Querol, X. Leaching behaviour of elements from coal combustion fly ash: An overview. *Int. J. Coal Geol.* 2012, *94*, 54–66.
- 5 Aradottir, A.L.; Hagen, D. Chapter Three – Ecological Restoration: Approaches and Impacts on Vegetation, Soils and Society. In: Sparks, D.L.B.T.-A. in A., Ed.; Academic Press, 2013; Vol. 120, pp. 173–222 ISBN 0065-2113.
- 6 Lowder, S.K.; Scoet, J.; Raney, T. The Number, Size, and Distribution of Farms, Smallholder Farms, and Family Farms Worldwide. *World Dev.* 2016, *87*, 16–29.
- 7 Ram, L.C.; Masto, R.E. An appraisal of the potential use of fly ash for reclaiming coal mine spoil. *J. Environ. Manage.* 2010, *91*, 603–617.
- 8 Ukwattage, N.L.; Ranjith, P.G.; Bouazza, M. The use of coal combustion fly ash as a soil amendment in agricultural lands (with comments on its potential to improve food security and sequester carbon). *Fuel* 2013, *109*, 400–408.
- 9 Usmani, Z.; Kumar, V.; Gupta, P.; Gupta, G.; Rani, R.; Chandra, A. Enhanced soil fertility, plant growth promotion and microbial enzymatic activities of vermicomposted fly ash. *Sci. Rep.* 2019, *9*, 10455.
- 10 Ahmad, G.; Khan, A.A.; Mohamed, H.I. Impact of the low and high concentrations of fly ash amended soil on growth, physiological response, and yield of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch. Ex Poiret L.). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2021, *28*, 17068–17083.
- 11 Belyaeva, O.N.; Haynes, R.J. Chemical, microbial and physical properties of manufactured soils produced by co-composting municipal green waste with coal fly ash. *Bioresour. Technol.* 2009, *100*, 5203–5209.
- 12 Yan, S.; Zhang, N.; Li, J.; Wang, Y.; Liu, Y.; Cao, M.; Yan, Q. Characterization of humic acids from original coal and its oxidization production. *Sci. Rep.* 2021, *11*, 15381.

- 13 Backer, R.; Rokem, J.S.; Ilangumaran, G.; Lamont, J.; Praslickova, D.; Ricci, E.; Subramanian, S.; Smith, D.L. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Front. Plant Sci.* 2018, 9, 1473.
- 14 Huculak-Mączka, M.; Hoffmann, J.; Hoffmann, K. Evaluation of the possibilities of using humic acids obtained from lignite in the production of commercial fertilizers. *J. Soils Sediments* 2018, 18, 2868–2880.
- 15 Insam, H. A New Set of Substrates Proposed for Community Characterization in Environmental Samples BT – Microbial Communities.; Insam, H., Rangger, A., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1997; pp. 259–260.
- 16 Siles, J.A.; Rachid, C.T.C.C.; Sampedro, I.; García-Romera, I.; Tiedje, J.M. Microbial diversity of a Mediterranean soil and its changes after biotransformed dry olive residue amendment. *PLoS One* 2014, 9, e103035.
- 17 Çakmakçı, R.; Kantar, F.; Sahin, F. Effect of N₂-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2001, 164, 527–531.
- 18 Çakmakçı, R.; Dönmez, F.; Aydın, A.; Şahin, F. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. *Soil Biol. Biochem.* 2006, 38, 1482–1487.
- 19 Water Content and Loss on Ignition BT – Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods. In; Pansu, M., Gautheyrou, J., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2006; pp. 3–13 ISBN 978-3-540-31211-6.
- 20 Wilke, B.-M. Determination of Chemical and Physical Soil Properties BT – Monitoring and Assessing Soil Bioremediation. In; Margesin, R., Schinner, F., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2005; pp. 47–95 ISBN 978-3-540-28904-3.
- 21 Arriaga, F.J.; Guzman, J.; Lowery, B. Chapter 5 – Conventional Agricultural Production Systems and Soil Functions. In; Al-Kaisi, M.M., Lowery, B.B.T.-S.H. and I. of A., Eds.; Academic Press, 2017; pp. 109–125 ISBN 978-0-12-805317-1.
- 22 pH Measurement BT – Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods. In; Pansu, M., Gautheyrou, J., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2006; pp. 551–579 ISBN 978-3-540-31211-6.
- 23 Sah, R.N. Nitrate-nitrogen determination—a critical review. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 1994, 25, 2841–2869.
- 24 Jakmunee, J.; Junsomboon, J. Determination of available phosphorus in soils by using a new extraction procedure and a flow injection amperometric system. *Talanta* 2009, 79, 1076–1080.
- 25 Liao, X.; Zhao, D.; Yan, X. Determination of potassium permanganate demand variation with depth for oxidation-remediation of soils from a PAHs-contaminated coking plant. *J. Hazard. Mater.* 2011, 193, 164–170.
- 26 Allison, S.D.; Jastrow, J.D. Activities of extracellular enzymes in physically isolated fractions of restored grassland soils. *Soil Biol. Biochem.* 2006, 38, 3245–3256.
- 27 Tabatabai, M.A. Soil Enzymes. *Methods Soil Anal.* 1994, 775–833.
- 28 Wang, S.; Zhu, Z.H. Humic acid adsorption on fly ash and its derived unburned carbon. *J. Colloid Interface Sci.* 2007, 315, 41–46.
- 29 Yang, S.; Huang, G.; An, C.; Li, H.; Shi, Y. Adsorption behaviours of sulfonated humic acid at fly ash-water interface: Investigation of equilibrium and kinetic characteristics. *Can. J. Chem. Eng.* 2015, 93, 2043–2050.
- 30 Sparks, D.L. 5 – Sorption Phenomena on Soils. In; Sparks, D.L.B.T.-E.S.C. (Second E., Ed.; Academic Press: Burlington, 2003; pp. 133–186 ISBN 978-0-12-656446-4.
- 31 Roulia, M.; Vassiliadis, A.A. Sorption characterization of a cationic dye retained by clays and perlite. *Microporous Mesoporous Mater.* 2008, 116, 732–740.
- 32 Erdogan, F.O. Freundlich, Langmuir, Temkin, DR and Harkins-Jura Isotherm Studies on the Adsorption of CO₂ on Various Porous Adsorbents. *Int. J. Chem. React. Eng.* 2019, 17.
- 33 Jaroniec, M.; Kruk, M.; Sayari, A. Adsorption methods for characterization of surface and structural properties of mesoporous molecular sieves. In *Mesoporous Molecular Sieves 1998*; Bonneviot, L., Béland, F., Danumah, C., Giasson, S., Kaliaguine, S.B.T.-S. in S.S. and C., Eds.; Elsevier, 1998; Vol. 117, pp. 325–332 ISBN 0167-2991.
- 34 Ansón, A.; Jagiello, J.; Parra, J.B.; Sanjuán, M.L.; Benito, A.M.; Maser, W.K.; Martínez, M.T. Porosity, Surface Area, Surface Energy, and Hydrogen Adsorption in Nanostructured Carbons. *J. Phys. Chem. B* 2004, 108, 15820–15826.
- 35 Palomba, V.; Frazzica, A. 15 – Modeling of sorption systems for thermal energy storage. In *Woodhead Publishing Series in Energy*; Cabeza, L.F.B.T.-A. in T.E.S.S. (Second E., Ed.; Woodhead Publishing, 2021; pp. 453–475 ISBN 978-0-12-819885-8.
- 36 Dąbrowski, A. Adsorption — from theory to practice. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2001, 93, 135–224.
- 37 Bhattacharyya, P.N.; Jha, D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2012, 28, 1327–1350.
- 38 Chen, Y.; Aviad, T. Effects of Humic Substances on Plant Growth. *Humic Subst. Soil Crop Sci. Sel. Readings* 1990, 161–186.
- 39 Zhou, L.; Yuan, L.; Zhao, B.; Li, Y.; Lin, Z. Structural characteristics of humic acids derived from Chinese weathered coal under different oxidizing conditions. *PLoS One* 2019, 14, e0217469.
- 40 Jin, J.; Sun, K.; Yang, Y.; Wang, Z.; Han, L.; Wang, X.; Wu, F.; Xing, B. Comparison between Soil- and Biochar-Derived Humic Acids: Composition, Conformation, and Phenanthrene Sorption. *Environ. Sci. Technol.* 2018, 52, 1880–1888.
- 41 Seyedbagheri, M.M.; He, Z.; Olk, D.C. Yields of Potato and Alternative Crops Impacted by Humic Product Application BT – Sustainable Potato Production: Global Case Studies. In; He, Z., Larkin, R., Honeycutt, W., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 2012; pp. 131–140 ISBN 978-94-007-4104-1.
- 42 Mosa, A.A. Effect of the Application of Humic Substances on Yield, Quality, and Nutrient Content of Potato Tubers in Egypt BT – Sustainable Potato Production: Global Case Studies. In; He, Z., Larkin, R., Honeycutt, W., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 2012; pp. 471–492 ISBN 978-94-007-4104-1.

- 43 Baumann, K.; Marschner, P.; Smernik, R.J.; Baldock, J.A. Residue chemistry and microbial community structure during decomposition of eucalypt, wheat and vetch residues. *Soil Biol. Biochem.* 2009, *41*, 1966–1975.
- 44 Paterson, E.; Sim, A. Soil-specific response functions of organic matter mineralization to the availability of labile carbon. *Glob. Chang. Biol.* 2013, *19*, 1562–1571.
- 45 González, M.; Gomez, E.; Comese, R.; Quesada, M.; Conti, M. Influence of organic amendments on soil quality potential indicators in an urban horticultural system. *Bioresour. Technol.* 2010, *101*, 8897–8901.
- 46 Smith, J.L.; Collins, H.P.; Bailey, V.L. The effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biol. Biochem.* 2010, *42*, 2345–2347.
- 47 Cycoń, M.; Piotrowska-Seget, Z.; Kozdrój, J. Dehydrogenase activity as an indicator of different microbial responses to pesticide-treated soils. *Chem. Ecol.* 2010, *26*, 243–250.
- 48 Kushnerova O. A., Akimochkina G.V., Fomenko E.V. Single-Stage Aerodynamic Separation of Fly Ash Produced after Pulverized Combustion of Coal from the Ekibastuz Basin // *Solid Fuel Chem.* – 2018. – V. 52. – I. 3. – P. 188–200.
- 49 Huculak-Mączka M., Hoffmann J., Hoffmann K. Evaluation of the possibilities of using humic acids obtained from lignite in the production of commercial fertilizers. *J. Soils Sediments* 2018, *18*, 2868–2880.
- 50 Cheng, G.; Niu, Z.; Zhang, C.; Zhang, X.; Li, X. Extraction of humic acid from lignite by KOH-hydrothermal method. *Appl. Sci.* 2019, *9*.
- 51 Delmont T.O., Robe P., Cecillon S., Clark I.M., Constancias F. Accessing the soil metagenome for studies of microbial diversity // *Appl Environ Microbiol.* – 2011. – № 77. – P. 1315-1324.
- 52 Oulas A., Pavludi C., Polymenakou P., Pavlopoulos G.A., Papanikolaou N., Kotoulas G. Metagenomics: tools and insights for analyzing next-generation sequencing data derived from biodiversity studies // *Bioinform Biol Insights.* – 2015. – № 9. – P.75-88.
- 53 Blissett R. S. A review of the multi-component utilisation of coal fly ash / R. S. Blissett, N. A. Rowson // *Fuel.* – 2012. – V.97. – P. 1–23.
- 54 Manzak A, Kurşun C, Yıldız Y. 2017. Characterization of humic acid extracted from aqueous solutions with polymer inclusion membranes. // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.* 81:14-20.
- 55 Gonzalez-Vila F.J., Martin F., Del Rio J.C., Fründ R. Structural characteristics and geochemical significance of humic acids isolated from three Spanish lignite deposits // *Sci. Total Environ.* 117–118 (1992) 335–343.
- 56 Nasir S., Sarfaraz T.B., Verheyen T.V., Chaffee A.L. Structural elucidation of humic acids extracted from Pakistani lignite using spectroscopic and thermal degradative techniques // *Fuel Process. Technol.* 92 (2011) 983–991.
- 57 Jiang F., Li Z., Lv Z., Gao T., Yang J., Qin Z., Yuan H. The biosolubilization of lignite by *Bacillus* sp. Y7 and characterization of the soluble products // *Fuel.* – 2013. – № 103. – P.639-645.
- 58 Zsolnay A., Baigar E., Jimenez M., Steinweg B., Saccomandi F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. // *Chemosphere.* 38 (1999) 45–50.
- 59 Fu P., Kawamura K., Chen J., Qin M., Ren L., Sun Y., Wang Z., Barrie L.A., Tachibana E., Ding A., Yamashita Y. Fluorescent water-soluble organic aerosols in the High Arctic atmosphere. // *Sci. Rep.* 5 (2015) 9845.
- 60 Doskočil L., Burdíková-Szewieczková J., Enev V., Kalina L., Wasserbauer J., Spectral characterization and comparison of humic acids isolated from some European lignites. // *Fuel.* 213 (2018) 123–132.

A.K. Daurova , D.V. Volkov , D.L. Daurov , K.K. Zhapar ,
Z.B. Sapakhova , D.A. Gritsenko , A. Pozharskiy , A. Abdrachmanova ,
M.Kh. Shamekova , K.Zh. Zhambakin* 

Institute of Plant Biology and Biotechnology, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: zhambakin@gmail.com

PRODUCTION MUTANT LINES OF TURNIP RAPE (*BRASSICA RAPA*) AND ITS INTERSPECIFIC HYBRIDS IN THE ISOLATED MICROSPORE CULTURE

This article presents the results of research on the production of mutant doubled haploids of turnip rape (*Brassica rapa* L.ssp.*Oleifera*), as well as its interspecies hybrids with rapeseed (*Brassica napus*). An immature embryo culture was used to increase the productivity of inter-specific hybridization. Studies have obtained interspecific hybrids of turnip rape with rapeseed. The largest number of plants was observed in hybrids where the mother plant was rapeseed. Furthermore, chemical mutagenesis was used to increase the genetic diversity of studied materials. Ethyl methanesulfonate (EMS) has been applied to the treatment of embryos produced in the isolated microspores culture of turnip rape and its interspecies hybrids. Results of embryo regeneration against mutagen on a nutrient medium B5 with gibberellic acid showed that the concentration of 8 mM EMS stimulated the regeneration process in turnip rape cultivars (Zolotistaya – 72% and Yantarnaya – 88%) and showed superior results compared to a low concentration (4 mM). For hybrids compared to high concentration (8mM), a low concentration of 4mM EMS showed superior results. New mutant lines have been obtained as the starting material for selection in the creation of new domestic canola cultivars.

Key words: turnip rape, rapeseed, interspecific hybridization, mutagenesis, isolated microspore culture.

А. Даурова, Д. Волков, Д. Дауров, К. Жапар, З. Сапахова,
Д. Гриценко, А. Пожарский, А. Абдрахманова,
М. Шамекова, К. Жамбакин*

Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Қазақстан, Алматы қ.

*e-mail: zhambakin@gmail.com

Оқшауланған микроспора дақылында қышабас (*Brassica rapa*) және оның тұраралық будандарының мутантты линияларын алу

Бұл зерттеуде қышабастың (*Brassica rapa* L.ssp.*Oleifera*), және де оның рапс (*Brassica napus*) өсімдігімен тұраралық будандарының екі еселенген мутанттарын алу барысындағы нәтижелер көрсетілген. Тұраралық будандардың өнімділігін арттыру үшін оқшауланған жетілмеген ұрық дақылы қолданылды. Зерттеу нәтижесінде қышабас пен рапстың тұраралық будандары алынды. Алынған нәтижелер көрсеткендей, аналық форма ретінде рапс өсімдігі болған қиыстыруларда, будандардың саны айтарлықтай көп болды. Сонымен қатар, зерттеліген өсімдік материалдардың генетикалық түрлілігін арттыру мақсатында химиялық мутагенез әдісі қолданылды. Қышабас және оның рапс өсімдігімен тұраралық будандарының оқшауланған микроспора дақылында алынған эмбриодтарды өңдеу үшін Этиленметилсульфонат (EMS) мутагені пайдаланылды. Мутагенмен өңделген эмбриодтардың гибберелин қышқылы қосылған B5 қоректік ортасындағы регенерациясы (Золотистая – 72% и Янтарная- 88%) арттырып, төмен концентрацияға (4 мМ) қарағанда жоғары нәтиже көрсеткені анықталды. Тұраралық будандар үшін, жоғары концентрациямен (8мМ) салыстырғанда, EMS мутагенінің 4мМ төмен концентрациясы жақсы нәтиже көрсеткені анықталды. Каноланың отандық сорттарын жасау мақсатында, селекция үшін бастапқы материал болатын жаңа мутантты линиялары алынған.

Түйін сөздер: қышабас, рапс, алшақ будандастыру, мутагенез, оқшауланған микроспора дақылы.

А. Даурова, Д. Волков, Д. Дауров, К. Жапар, З. Сапахова,
Д. Гриценко, А. Пожарский, А. Абдрахманова,
М. Шамекова, К. Жамбакин*

Институт биологии и биотехнологии растений, Казахстан, г. Алматы
*e-mail: zhambakin@gmail.com

Получение мутантных линий сурепицы (*Brassica rapa*) и ее отдаленных гибридов в культуре изолированных микроспор

В данной статье представлены результаты исследования по получению мутантных удвоенных гаплоидов сурепицы (*Brassica rapa* L.ssp.*Oleifera*), а также ее межвидовых гибридов с рапсом (*Brassica napus*). Для увеличения продуктивности межвидовой гибридизации была использована культура изолированных незрелых зародышей. В результате исследований были получены межвидовые гибриды сурепицы с рапсом. Наибольшее количество полученных растений наблюдалось у гибридов, где материнской формой являлся рапс. Более того с целью увеличения генетического разнообразия изучаемого материала использовался химический мутагенез. Этиленметилсульфонат (EMS) был применен для обработки эмбриодов полученных в культуре изолированных микроспор сурепицы и межвидовых гибридов сурепицы с рапсом. Результаты регенерации эмбриодов на фоне мутагена на питательной среде В5 с гибберелловой кислотой показали, что концентрация в 8 мМ EMS стимулировала процесс регенерации у сортов сурепицы (Золотистая – 72% и Янтарная- 88%), и показала лучший результат по сравнению с низкой концентрацией (4 мМ). Для гибридов по сравнению с высокой концентрацией (8мМ), низкая концентрация 4мМ EMS показала лучший результат. Получены новые мутантные линии, как исходный материал для селекции в создании новых отечественных сортов канолы.

Ключевые слова: сурепица, рапс, отдаленная гибридизация, мутагенез, культура изолированных микроспор.

Introduction

Canola is the trade name of rapeseed (*Brassica napus*) and turnip rape (*Brassica rapa* L. ssp. *Oleifera*) cultivars which seed oil is used for food purposes. In the last decade, a demand on canola oil from rapeseed (*Brassica napus*) and turnip rape (*Brassica rapa* L. ssp. *Oleifera*) raised dramatically worldwide. In Kazakhstan, where almost all produced rapeseed have been exclusively exported, there is an increasing trend for internal consumption.

Turnip rape has the AA genome where haploid number of chromosomes is 10 ($n = 10$), unlike rapeseed, which genome AACC ($n=19$). Turnip rape has shorter growing season and it is more productive in harsh climates and poor soil. We consider that the demand on turnip rape among farmers will rise in nearest future due to climate change, since there are more dry years in Kazakhstan now.

Interest in turnip rape in different countries is definitely linked to its resistance to abiotic environmental stress factors compared to rapeseed [1]. At the same time, turnip rape yield is significantly lower compared to rapeseed in good climatic conditions. As a solution for this issue, hybrids and/or synthetic hybrids may be created. In this case, a significant improvement in yield can be achieved [2].

In order to get the highest productivity (heterosis) in hybrids and synthetic hybrids, homozygous lines are used as parents, since such lines are more convenient for studying their combining ability [3]. Therefore, one of the most important steps in breeding is a quick production of homozygous lines with valuable qualitative and quantitative traits and resistance to stress factors.

However, conventional oilseed crop breeding is a labor-intensive and very long process. In addition, creating homozygous lines also requires long time for self-pollination. The most effective method for that is the method of isolated microspore culture.

Isolated microspore culture has been used for a while to produce doubled haploids in *Brassica* species. However, despite widespread application of this method in breeding, its application in obtaining doubled haploids requires certain improvements [4], especially for turnip rape, as its embryogenesis depends strongly on plant genotype [5].

In addition to increasing demand on canola oil, special attention is paid to its quality. Canola oil is considered to be one of the healthiest vegetable oils [6]. Particularly, cultivars with high oleic acid content are the most valuable ones [7]. Therefore, developing cultivars with this particular trait is a perspective direction in oilseed crop breeding. One

of the ways to increase its efficacy is expanding genetic diversity of the plant material. This can be achieved using mutagenesis.

The efficacy of mutagenesis can be significantly increased using cell culture. Furthermore, isolated microspore culture increases it even more due to identical chromosome set. As a result, recessive mutations are not hidden by the dominance effect. Various mutagens are used to treat anthers and microspores in the culture. EMS is the most common chemical mutagenesis, however, sodium azide (NaN₃) [8] and gamma UV radiation [9] are used instead in many studies. However, EMS is considered the most effective and convenient chemical mutagen [10]. At the same time, chemical mutagenesis in isolated microspore culture may lower embryogenesis rate, thereby causing difficulties in growing plants from embryos. For that reason, researchers [11] used secondary callus embryos, as well as embryo callus to clone embryogenic material obtained in isolated microspore culture.

The aim of this work was to use the culture of isolated microspores to obtain homozygous mutant doubled haploids of turnip rape and its interspecific hybrids.

Materials and Methods

The research materials were cultivars and lines of turnip rape (*Brassica rapa*) and rapeseed (*Brassica napus*).

Method of *Brassica* hybridization.

Castration is performed on buds of 3-4 mm and an insulator close to the readiness of the pistil for pollination. Then pistil pollinated by paternal form pollen and close the insulator onto which the date of castration and pollination.

Extracting immature germs of *Brassica* hybrids and growing to plants *in vitro*.

Pods obtained at day 15-17 after hybridization are sterilized in 50% sodium hypochlorite solution for 10 min, in 70% alcohol for 3-5 sec and washed in distilled water. After sterilization, the germs are extracted under laminar flow and transferred in MS medium with 1 mg/l of kinetin, IAA 0.1 mg/l, gibberellic acid 1 mg/l, casein hydrolysate 10 mg/l, pH 5.8. 10-15 days later, regenerants derived from the germs are transferred in MS medium with half of the salt content, no hormones and grown until complete formation of roots and shoots.

Isolation of a microspore culture.

Buds (2-3 mm in size) were collected in field conditions early in the morning at the single-nucleus microspore stage during hours of intense pollen

division. The pretreatment of buds was carried out in a 10 mg/l silver nitrate solution at + 4°C for 2 days. Subsequently, the buds were sterilised with 5% sodium hypochlorite for 7-10 min and 70% alcohol for 3-5 sec, followed by three washes with distilled water. The buds were then placed in a cool micromixer (10°C) using 30-40 ml of cooled B5 medium [12] without hormones (10-12°C) and homogenised for 7-9 sec at high speed. The resulting suspension was passed through a filter (80 µm), and the filtrate was centrifuged (Eppendorf, Germany) at 100 g for 5 min. The supernatant was decanted, and 15 ml of the B5 medium were added to the precipitate, followed by centrifugation for 5 min. After repeating the previous step, the precipitate was poured into Petri dishes. Subsequently, NLN medium with 0.05 mg/l benzylaminopurine (BA) was added for microspore cultivation. The concentration of microspores in the NLN medium was adjusted to 35,000-50,000 microspores per ml. Petri dishes were placed in a temperature controller with a shaker at 25°C. As soon as torpedo-like embryoids appeared, the Petri dishes were exposed to light at the same temperature [13]. Embryoids derived from the isolated microspore culture were transplanted onto Gamborg B5 solid nutrient medium supplemented with 1 mg/l gibberellic acid. As regeneration proceeded, the plants were transplanted onto Murashige-Skoog hormone-free medium with half salt composition, one plant per tube, and placed into a room with controlled light and temperature.

Mutagen treatment of somatic embryoids.

Upon reaching 1.5-2.5 mm in size, the embryoids were treated with EMS (Sigma Aldrich, US) mutagen. EMS was added to the Petri dishes in three concentrations: 4 mM, 8 mM, and 12 mM. The dishes were then placed on a shaker (40-50 rpm) in a temperature controller (TSO-1/80-SPU, Russian) at 25°C for 1 h. After the treatment, the embryoids were dried on a sterile paper sheet for 5 seconds. Thereafter, they were transplanted onto solid B5 medium with 0.8% agar and 2% sucrose and incubated for 24 hours in a thermostat at 10°C. After the incubation, the tubes with embryoids were placed under light at 25°C. Following two weeks of cultivation, the embryoids were transplanted onto fresh B5 medium for regeneration.

Colchicine treatment.

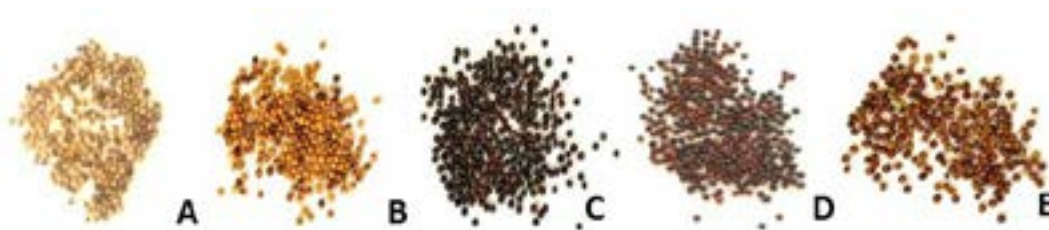
After *in vitro* regenerants were obtained, they were cut into three equal pieces and cloned. Two of the three pieces were cloned on B5 medium and one was frozen and kept in storage. The clones were grown up to the five-leaf stage and treated with 0.05

% colchicine (AppliChem, Germany) at 4°C for 16 h. Treated plantlets were then washed three times with distilled water. Next, they were planted into soil and grown to obtain seeds of doubled haploid plants [14].

Results and Discussion

Turnip rape is more resistant to abiotic stresses than rapeseed [1]. However, Kazakhstan does not have its own cultivars of turnip rape [15] and grows it on small areas, apparently due to low yields compared to rapeseed. Therefore, there is a need to create cultivars adapted to local soil and climatic conditions. During the period of our previous studies (2018-2021), mutant and hybrid turnip rape lines were obtained, which were distinguished by qualitative and quantitative characteristics [16].

Thus, the working collection of turnip rape was selected according to various useful signs corresponding to the food direction (the content of erucic acid and glucosinolates), high yield and seed quality. The collection consisted of cultivars of Russian (2 cultivars) and German/Germanic selection (5 cultivars), as well as lines of doubled haploids obtained by us from cultivars of Russian selection. The seeds of the Russian and German/German breeding had yellow seeds (Figure 1 A and B). The seeds of the doubled haploids of interspecific hybrids differed in black, brown and light brown colors of seeds (Figure 1 C, D and E). Cultivars with yellow seeds have a number of advantages due to a higher percentage of oil in them, a higher protein content and a low fiber content [16]. There are a number of studies aimed at creating hybrids and mutants of the *Brassica* family with yellow seeds [17].



A) seeds of the Zolotistaya cultivar; B) seeds of mutant DHZ4-1 lines; C) D) E) seeds of doubled haploids

Figure 1 – Seeds of collectible cultivars and lines

The main way to obtain a new source material is hybridization (intervarietal and interspecific). Using methods of interspecific hybridization of the *Brassica* family, high-oleic lines were obtained, as well as lines resistant to environmental stress factors [18;19;20]. In our experiment, a culture of isolated embryos was used to increase the productivity of interspecific hybridization.

The initial material for hybridization was the lines of doubled haploids (DH) of the food direction of the turnip rape (*Brassica campestris*). All DH lines are homozygous and have a low content of erucic acid and glucosinolates corresponding to the nutritional direction, as well as high yield and good seed quality.

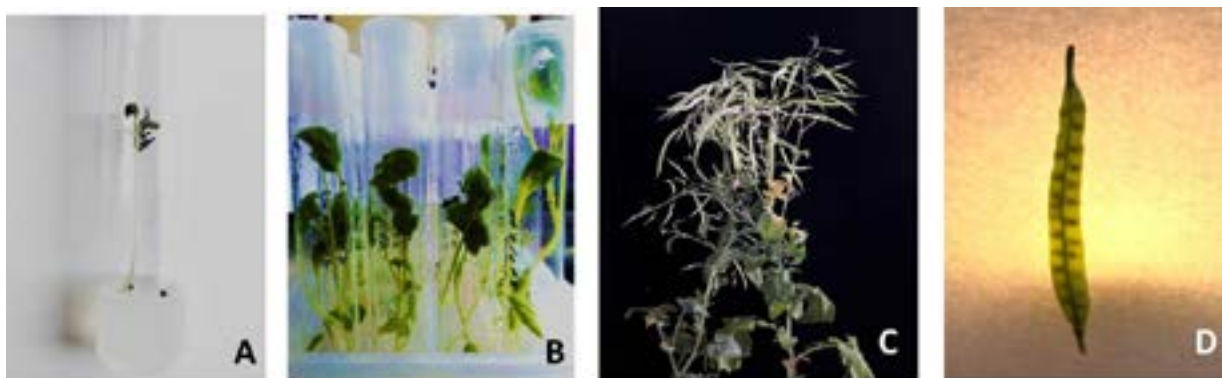
The selection of combinations for hybridization was determined by qualitative and quantitative characteristics. In our experiments, 524 immature embryos from ten combinations were introduced into the culture *in vitro*. Not all immature embryos

germinated into plants, the largest number of plants obtained was observed in hybrids where rapeseed was the maternal form (Galant x Yantarnaya and Kris x Zolotistaya). In total, we obtained 205 plants *in vitro* from eight hybrid combinations (Table 2). The resulting plants were cloned 3 clones of each line, for further transplantation into the ground (Figure 2). Despite the fact that visually hybrid plants grew and developed normally, not all of them turned out to be fertile.

In our study, chemical mutagenesis was used in the isolated microspores culture in order to expand the genetic variability of the studied genotypes. EMS is a widely used chemical mutagen that is used to generate important recessive and dominant genomic mutations at a high rate. This creates the basis for the selection of useful genetic variations necessary for plant breeding [21]. The use of EMS is widely practiced in the *Brassicaceae* family as a mutagen.

Table 1 – Obtaining plants *in vitro* from interspecific hybrid immature embryos

Name of hybrid combinations	Number of pollinated plants	Number of castrated buds	Number of immature embryos planted	The number of plants obtained <i>in vitro</i>
Galant x Yantarnaya	20	100	180	91
Kris x Zolotistaya	20	100	76	38
Zolotistaya x Yantarnaya	20	80	71	33
Yantarnaya x Zolotistaya	20	80	55	26
Galant x CR 307	20	100	45	12
Kris x CR 307	20	100	51	5
Zolotistaya x CR 2186	20	80	21	-
Yantarnaya x CR 2186	20	80	25	-
Total	160	720	524	205

**Figure 2** – Sequential cultivation of immature embryos to produce interspecific hybrids of rapeseed with turnip rape. (A) germinated germs; (B) cloned hybrid plantlets; (C) fertile hybrid plant; (D) pod with seeds

To obtain mutant plants, secondary embryos of interspecific hybrids and cultivars of turnip rape were treated with the EMS mutagen, which were obtained in the isolated microspores culture (Figure 2). The concentration and time of treatment of embryos with the EMS mutagen was established by us in previous studies [22]. A week after the mutagen treatment, changes in color were noticed on the embryos. Such processes were mainly observed during processing with a concentration of 8mM EMS. After 14 days, some embryos acquired a green color and then regenerated. At the same time, in some cases, darkening of embryos was observed, which later died. The results of regeneration of embryos against the background of mutagen on a nutrient medium in 5 with gibberellic acid showed that a concentration of 8 mM EMS stimulated the regeneration process

in the cultivars of turnip rape (Zolotistaya – 72% and Yantarnaya- 88%), and showed a better result compared to a low concentration (4 mM) (Figure 4). The results obtained during these studies are consistent with the data M. Tavakoli and m. E. Shariatpanahi [23] and He et al. [24], that the average mutagen concentration promotes the regeneration of embryos and embryonic callus. At the same time, for hybrids, compared with a high concentration (8 mM), a low concentration of 4mM EMS showed the best result (47.2% for isGxY and 64.8% for isKxZ). As is known, mutagenesis in the isolated microspores culture educes embryogenesis and regeneration of plants [25; 26]. Our results confirmed this phenomenon, since at high concentrations; the results of regenerations of secondary embryos in hybrids were lower than in cultivars.

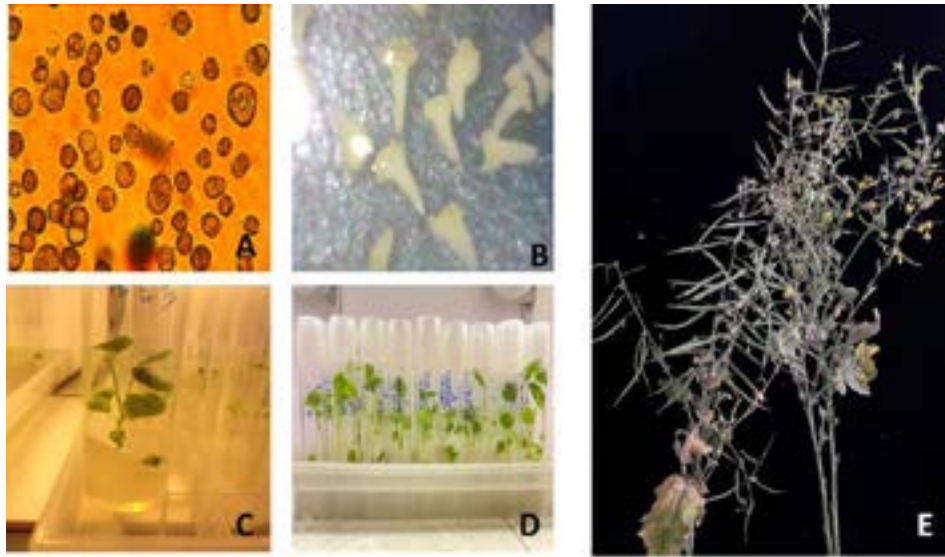


Figure 3 – Production of doubled haploid mutants of *B. rapa* and their hybrids in isolated microspores culture and regeneration of plants from embryos treated with EMS mutagen. (A) The process of formation of embryos from microspores and (B) mutagen treatment; (C) (D) the resulting mutant plantlets; (E) mutant fertile plant

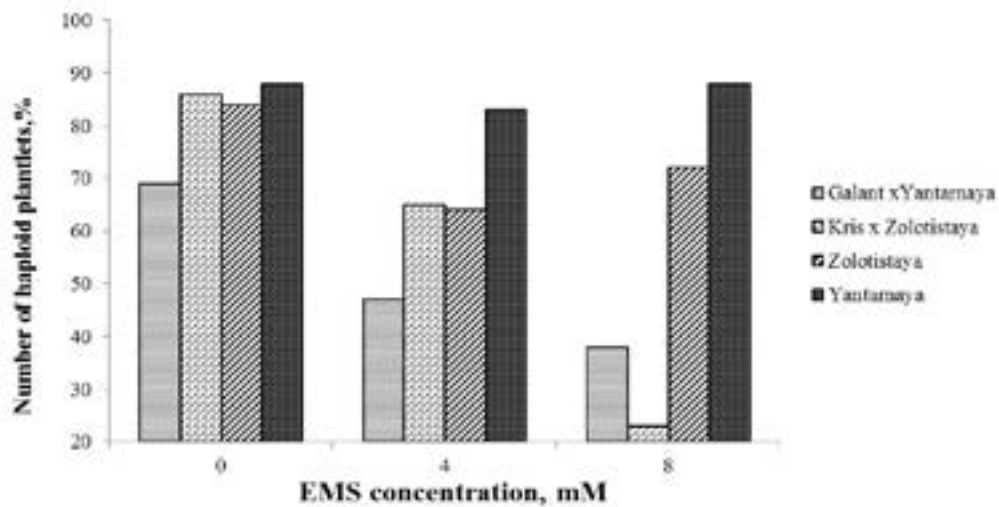


Figure 4 – Number of haploid plantlets from embryos

The production of fertile plants occurred due to the treatment of haploid plantlets with 0.05 % aqueous solution of colchicine. As a result, M1 seeds of turnip rape cultivars and their interspecific hybrids were obtained under controlled conditions (Table 2). Table 2 shows the lines with the highest seed productivity.

Chemical mutagen treatment has a certain effect on plant fertility [27]. As a result of our research, some mutant turnip rape lines and their interspecific hybrids turned out to be sterile when treated with the EMS mutagen at a concentration of 8 mM EMS, while at 4 mM EMS all plants were fertile.

Table 2 – The obtained seed material of mutant lines (M1) from the culture of androgen embryos against the background of mutagen

Mutant lines of turnip rape and interspecific hybrids		EMS Mutagen Concentration (mM)	Weight of seeds from one plant, g.
Galant x Yantarnaya	DHGY	0	5,1±0.2
	MDHGY-2	4	4,3±0.8
	MDHGY-2	8	2,5±1.0
Kris x Zolotistaya	DHKZ	0	4,8±0.3
	MDHKZ-1	4	4,0±0.9
	MDHKZ-2	8	3,1±0.8
Yantarnaya	DHY	0	3,8±0.3
	MDHY-1	4	3.1±0.4
	MDHY-1	8	3,9±0.3
Zolotistaya (сурепица)	DHZ	0	3,5±0.3
	MDHZ-2	4	3,6±0,2
	MDHZ-1	8	4,2±0.4

Note: DHNC- n , doubled haploid name of cultivars – number of line; MDHNC- n, mutant doubled haploid name of cultivars – number of line.

Conclusion

The conducted studies have shown that the use of culture of isolated embryos significantly increases the efficiency of obtaining interspecific hybrids of turnip rape and rapeseed. The use of *in vitro* mutagenesis at the level of androgen embryoids is very convenient for the creation of new lines in the *Brassicaceae* family. It has been shown that the ethylmethanesulfonate (EMS) mutagen during the treatment of androgenic embryoids for one hour significantly affects the regeneration of the embryoids of the turnip rape and its hybrids with rapeseed. Studies have shown that the chemical mutagen EMS can be effectively used to produce fertile lines. The obtained new

mutant lines will be further studied by qualitative and quantitative characteristics to determine their breeding value.

Conflict of interest

The author declares no conflicts of interest.

Funding

The work was carried out with grant funding support for the project AP08856576 “Creating source material of turnip rape (*Brassica rapa*) to create new cultivars for Northern Kazakhstan” from the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan.

References

- 1 Peltonen-Sainio P, Hakala K, Jauhiainen L, Ruostenoja Kimmo (2009) Comparing regional risks in producing turnip rape and oilseed rape Impacts of climate change and breeding. Acta Agriculturae Scandinavica. Section B – Soil and Plant Science 59:129-138.
- 2 Fu Y B and Gugel Richard K (2009) Genetic variability of Canadian elite cultivars of summer turnip rape (*Brassica rapa* L.) revealed by simple sequence repeat markers. Can. J. Plant Sci. pp 865-874.
- 3 Qian W, Sass O, Meng J, Li M, Frauen M, Jung C (2007) Heterotic patterns in rapeseed (*Brassica napus* L.): I. Crosses between spring and Chinese semi-winter lines. Theor. Appl. Genet. 115:27–34.
- 4 Mahasuk P, Kullik AS, Iqbal MC, et al. (2017) Effect of boron on microspore embryogenesis and direct embryo to plant conversion in *Brassica napus* (L.). Plant Cell Tiss. Organ. Cult. 130: 443–447. doi:10.1007/s11240-017-1232-5.
- 5 Takahashi Y, Yokoi S, Takahata Y (2012) Effects of genotypes and culture conditions on microspore embryogenesis and plant regeneration in several subspecies of *Brassica rapa* L. Plant Biotechnol. Rep.6: 297–304. doi:10.1007/s11816-012-0224-5.
- 6 Liu X, Garban J, Jones PJ, Heuvel J, Lamarche B, Jenkins D, Connelly P, Couture P, Pu S, Fleming J, West S, Kris-Etherton P (2018) Diets low in saturated fat with different unsaturated fatty acid profiles similarly increase serum-mediated cholesterol efflux

from THP-1 macrophages in a population with or at risk for metabolic syndrome: The canola oil multicenter intervention trial. *The Journal of Nutrition* 148:721–728. doi: 10.1093/jn/nxy040.

7 Loganés C, Ballalí S, Minto C (2016) Main properties of canola oil components: A descriptive review of current knowledge. *The Open Agriculture Journal* 10:9–74. doi: 10.2174/1874331501610010069.

8 Castillo AM, Cistue L, Valle's MP, Sanz JM, Romagosa I, Molina-Cano JL (2001) Efficient production of androgenic doubled-haploid mutants in barley by the application of sodium azide to anther and microspore cultures. *Plant Cell Rep.* 20: 105–111.

9 Barro F, Fernández-Escobar J, De la Vega M, Martín A (2002) Modification of glucosinolate and erucic acid contents in doubled haploid lines of *Brassica carinata* by UV treatment of isolated microspores. *Euphytica* 129: 1–6.

10 Ali I and Ahmad M (2004) In vitro mutagenesis in oil seed brassica. *Pakistan Journal of Biotechnology* 1(1): 1–5. DOI: <https://pjbtor.org/index.php/pjbtor/article/view/123>

11 Newsholme DM, MacDonald MV, Ingram DS (1989) Studies of selection in vitro for novel resistance to phytotoxic products of *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. & De Not in secondary embryogenic lines of *Brassica napus* ssp. *oleifera* (Metzg.) Sinsk., winter oilseed rape. *New Phytol.* 113: 117–126. doi:10.1111/j.1469-8137.1989.tb04697.x.

12 Gamborg OL, Eveleigh D (1968). Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 46: 417–421. doi: 10.1139/o68-063

13 Swanson EB (1990). Microspore culture in Brassica. *Methods in Molecular Biology* 6: 159–169. doi: 10.1385/0-89603-161-6:159

14 Gland A (1981). Doubling chromosomes in interspecific hybrids by colchicine treatment. *Eucarpia. Cruciferae Newsletter* 6: 20–22.

15 Gosudarstvennyj reestr selekcionnyh dostizhenij, rekomenduemyh k ispol'zovaniyu v Respublike Kazahstan. URL: http://adilet.zan.kz/rus/docs/V090005759_ (accessed: 1.02.2022)

16 Daurova A, Daurov D, Volkov D, Karimov A, Abai Z, Raimbek D, Zhapar K, Zhambakin K, Shamekova M (2020) Mutagenic treatment of microspore-derived embryos of turnip rape (*Brassica rapa*) to increase oleic acid content. *Plant Breeding* 00:1–7. DOI: 10.1111/pbr.12830

17 Facciotti D. Production of Improved Rapeseed Exhibiting Yellow-Seed Coat. US Patent 006547711B2, 15 April 2003.

18 Rahman MH (2001) Production of yellow-seeded *Brassica napus* through interspecific crosses. *Plant Breeding* 120: 463–472.

19 Karim MM, Siddika A, Tonu NN, Hossain DM, Meah MB, Kawanabe T, Fujimoto R, Okazaki K (2014) Production of high yield short duration *Brassica napus* by interspecific hybridization between *B. oleracea* and *B. rapa*. *Breeding Science* 63: 495–502.

20 Iqbal MCM, Weerakoon SR, Peiris PKD (2006) Variability of fatty acid composition in interspecific hybrids of mustard *Brassica juncea* and *Brassica napus*. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)* 35(1): 17–23.

21 Spasibionek S (2006) New mutants of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) with changed fatty acid composition. *Plant Breeding* 125: 259–267. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01213.x>

22 Zhambakin KZh, Zatybekov AK, Volkov DV, Shamekova M Kh (2015) Mutagenesis in microspore culture of *Brassica napus*. *Biotechnology. Theory and Practice* 3: 20-32 DOI: 10.11134/btp.3.2015.3

23 Tavakoli M and Shariatpanahi ME (2013) Effect of EMS on Microspore Embryogenesis Induction and Haploid Plant Regeneration in Rapeseed (*Brassica napus* L.). *Crop Biotech. Spring & Summer* 4: 61-68

24 He Y, Wan G, Chen Sh, Jin Z, Xu L, Tang G, Zhou W (2007) Effects of mutagenic treatments of isolated microspores and microspore-derived embryos on embryogenesis and plant regeneration in oilseed rape. 12th IRC, Wuhan, China, March 2:26-30.

25 Mizuno Y, Okamoto Sh, Hara M, Mizoguchi T (2014) EMS mutagenesis and characterization of *Brassica rapa* Mutants. *Plant Biotechnology* 31: 185–190. DOI: 10.5511/plantbiotechnology.14.0109b

26 Gu HH, Zhang DQ, Zhang GQ, Zhou WJ (2003) Advance on in vitro microspore technology for mutation breeding in rapeseed. *Acta Agricultura Zhejiangensis* 15: 318-322.

27 Zhang GQ, Zhang DQ, Tang GX, He Y, Zhou WJ (2006) Plant development from microspore-derived embryos in oilseed rape as affected by chilling, desiccation and cotyledon excision. *Biologia Plantarum* 50: 180-186.

References

1 Ali I and Ahmad M (2004) In vitro mutagenesis in oil seed brassica. *Pakistan Journal of Biotechnology* 1(1): 1–5. DOI: <https://pjbtor.org/index.php/pjbtor/article/view/123>

2 Barro F, Fernández-Escobar J, De la Vega M, Martín A (2002) Modification of glucosinolate and erucic acid contents in doubled haploid lines of *Brassica carinata* by UV treatment of isolated microspores. *Euphytica* 129: 1–6.

3 Castillo AM, Cistue L, Valle's MP, Sanz JM, Romagosa I, Molina-Cano JL (2001) Efficient production of androgenic doubled-haploid mutants in barley by the application of sodium azide to anther and microspore cultures. *Plant Cell Rep.* 20: 105–111.

4 Daurova A, Daurov D, Volkov D, Karimov A, Abai Z, Raimbek D, Zhapar K, Zhambakin K, Shamekova M (2020) Mutagenic treatment of microspore-derived embryos of turnip rape (*Brassica rapa*) to increase oleic acid content. *Plant Breeding* 00:1–7. DOI: 10.1111/pbr.12830

5 Facciotti D. Production of Improved Rapeseed Exhibiting Yellow-Seed Coat. US Patent 006547711B2, 15 April 2003.

6 Fu Y B and Gugel Richard K (2009) Genetic variability of Canadian elite cultivars of summer turnip rape (*Brassica rapa* L.) revealed by simple sequence repeat markers. *Can. J. Plant Sci.* pp 865-874.

- 7 Gamborg OL, Eveleigh D (1968). Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 46: 417–421. doi: 10.1139/o68-063
- 8 Gland A (1981). Doubling chromosomes in interspecific hybrids by colchicine treatment. *Eucarpia. Cruciferae Newsletter* 6: 20–22.
- 9 Gosudarstvennyj reestr selekcionnyh dostizhenij, rekomenduemyh k ispol'zovaniyu v Respublike Kazahstan. URL: http://adilet.zan.kz/rus/docs/V090005759_ (accessed: 1.02.2022)
- 10 Gu HH, Zhang DQ, Zhang GQ, Zhou WJ (2003) Advance on in vitro microspore technology for mutation breeding in rapeseed. *Acta Agricultura Zhejiangensis* 15: 318-322.
- 11 He Y, Wan G, Chen Sh, Jin Z, Xu L, Tang G, Zhou W (2007) Effects of mutagenic treatments of isolated microspores and microspore-derived embryos on embryogenesis and plant regeneration in oilseed rape. 12th IRC, Wuhan, China, March 2:26-30.
- 12 Iqbal MCM, Weerakoon SR, Peiris PKD (2006) Variability of fatty acid composition in interspecific hybrids of mustard *Brassica juncea* and *Brassica napus*. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)* 35(1): 17–23.
- 13 Karim MM, Siddika A, Tonu NN, Hossain DM, Meah MB, Kawanabe T, Fujimoto R, Okazaki K (2014) Production of high yield short duration *Brassica napus* by interspecific hybridization between *B. oleracea* and *B. rapa*. *Breeding Science* 63: 495–502.
- 14 Liu X, Garban J, Jones PJ, Heuvel J, Lamarche B, Jenkins D, Connelly P, Couture P, Pu S, Fleming J, West S, Kris-Etherton P (2018) Diets low in saturated fat with different unsaturated fatty acid profiles similarly increase serum-mediated cholesterol efflux from THP-1 macrophages in a population with or at risk for metabolic syndrome: The canola oil multicenter intervention trial. *The Journal of Nutrition* 148:721–728. doi: 10.1093/jn/nxy040.
- 15 Loganés C, Ballalí S, Minto C (2016) Main properties of canola oil components: A descriptive review of current knowledge. *The Open Agriculture Journal* 10:9–74. doi: 10.2174/1874331501610010069.
- 16 Mahasuk P, Kullik AS, Iqbal MC, et al. (2017) Effect of boron on microspore embryogenesis and direct embryo to plant conversion in *Brassica napus* (L.). *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 130: 443–447. doi:10.1007/s11240-017-1232-5.
- 17 Mizuno Y, Okamoto Sh, Hara M, Mizoguchi T (2014) EMS mutagenesis and characterization of *Brassica rapa* Mutants. *Plant Biotechnology* 31: 185–190. DOI: 10.5511/plantbiotechnology.14.0109b
- 18 Newsholme DM, MacDonald MV, Ingram DS (1989) Studies of selection in vitro for novel resistance to phytotoxic products of *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. & De Not in secondary embryogenic lines of *Brassica napus* ssp. *oleifera* (Metzg.) Sinsk., winter oilseed rape. *New Phytol.* 113: 117–126. doi:10.1111/j.1469-8137.1989.tb04697.x.
- 19 Peltonen-Sainio P, Hakala K, Jauhiainen L, Ruosteenoja Kimmo (2009) Comparing regional risks in producing turnip rape and oilseed rape Impacts of climate change and breeding. *Acta Agriculturae Scandinavica. Section B – Soil and Plant Science* 59:129-138.
- 20 Qian W, Sass O, Meng J, Li M, Frauen M, Jung C (2007) Heterotic patterns in rapeseed (*Brassica napus* L.): I. Crosses between spring and Chinese semi-winter lines. *Theor. Appl. Genet.* 115:27–34.
- 21 Rahman MH (2001) Production of yellow-seeded *Brassica napus* through interspecific crosses. *Plant Breeding* 120: 463-472.
- 22 Spasibionek S (2006) New mutants of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) with changed fatty acid composition. *Plant Breeding* 125: 259–267. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01213.x>
- 23 Swanson EB (1990). Microspore culture in *Brassica*. *Methods in Molecular Biology* 6: 159–169. doi: 10.1385/0-89603-161-6:159
- 24 Takahashi Y, Yokoi S, Takahata Y (2012) Effects of genotypes and culture conditions on microspore embryogenesis and plant regeneration in several subspecies of *Brassica rapa* L. *Plant Biotechnol. Rep.*6: 297–304. doi:10.1007/s11816-012-0224-5.
- 25 Tavakoli M and Shariatpanahi ME (2013) Effect of EMS on Microspore Embryogenesis Induction and Haploid Plant Regeneration in Rapeseed (*Brassica napus* L.). *Crop Biotech. Spring & Summer* 4: 61-68
- 26 Zhambakin KZh, Zatybekov AK, Volkov DV, Shamekova M Kh (2015) Mutagenesis in microspore culture of *Brassica napus*. *Biotechnology. Theory and Practice* 3: 20-32 DOI: 10.11134/btp.3.2015.3
- 27 Zhang GQ, Zhang DQ, Tang GX, He Y, Zhou WJ (2006) Plant development from microspore-derived embryos in oilseed rape as affected by chilling, desiccation and cotyledon excision. *Biologia Plantarum* 50: 180-186.

3-бөлім
ЗООЛОГИЯ

Section 3
ZOOLOGY

Раздел 3
ЗООЛОГИЯ

Н.Э. Бижанова^{1,2,3*} , Ю.А. Грачев¹ 

¹РГП на ПХВ «Институт зоологии» КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы

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

³ОФ Wildlife Without Borders, Казахстан, г. Алматы

*e-mail: nazerke.bizhanova@gmail.com

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЗАМЕТКИ ПО ПОЛОВОМУ ДИМОРФИЗМУ ПО ЧЕРЕПАМ ОБЫКНОВЕННОЙ РЫСИ (*LYNX LYNX* LINNAEUS, 1758)

Были проведены морфометрические исследования 27 черепов четырех подвидов обыкновенной рыси (*Lynx lynx* Linnaeus, 1758): европейской (*L. l. lynx* L., 1758) ($n = 2$), байкальской (*L. l. kozlovi* Fetisov, 1950) ($n = 2$), алтайской (*L. l. wardi* Lydekker, 1904) ($n = 5$) и туркестанской (*L. l. isabellina* Blyth, 1847) ($n = 16$) из девяти различных популяций. В результате возрастного анализа, из рассмотренных черепов 3 черепа были отнесены к группе сеголеток, 8 – к молодой группе (до 2-3 лет), 16 – к взрослой группе. При статистической обработке данных были использованы 10 переменных для сравнения двух полов. Черепа сеголеток для этого не использовались ввиду их недоразвитости. Применялся *t*-критерий Стьюдента для сравнения средних значений переменных, обработанные данные являются статистически значимыми при < 0.05 . Габаритные размеры черепов различались, и самцы были сравнительно крупнее самок. Общая длина черепа самцов и самок, в среднем, была 153,8 мм и 145,6 мм, соответственно, в то время как скуловая ширина черепа у самцов, в среднем, была 108,6 мм, а у самок – 102,8 мм. Схожие отличия по размерам отмечены и по другим 8 переменным. Отмечена значительная вариация размеров черепов рысей из различных популяций, что, предположительно, связано с размерами их тела. Так, черепа европейской и алтайской рысей были несколько больше черепов туркестанской. В дальнейшем планируется рассмотреть больше черепов из других популяций и использовать большее количество показателей черепов для изучения отличий между популяциями и подвидами.

Ключевые слова: обыкновенная рысь, *Lynx lynx*, краниология, морфометрия, популяция, подвид, половой диморфизм, таксономический статус, статистический анализ.

N.A. Bizhanova^{1,2,3*}, Yu.A. Grachev¹

¹Institute of Zoology of the Republic of Kazakhstan, Kazakhstan, Almaty

²Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

³PF Wildlife Without Borders, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: nazerke.bizhanova@gmail.com

Morphometric characteristics and notes on sexual dimorphism of the skulls of the Eurasian lynx (*Lynx lynx* Linnaeus, 1758)

Twenty-seven skulls of four subspecies of the Eurasian lynx (*Lynx lynx* Linnaeus, 1758): European (*L. l. lynx* L., 1758) ($n = 2$), Baikal (*L. l. kozlovi* Fetisov, 1950) ($n = 2$), Altai (*L. l. wardi* Lydekker, 1904) ($n = 5$) and Turkestan (*L. l. isabellina* Blyth, 1847) ($n = 16$) lynxes from nine different populations were studied. As a result of age analysis, among the skulls obtained, three were classified as juveniles, eight as subadult (up to 2-3 years), and 16 as adults. Ten variables were examined in the statistical data processing to compare the two sexes. The skulls of juveniles were not considered for statistical treatment due to their underdevelopment. We used Student *t*-test for comparing the means of variables; the data analyzed were statistically significant at < 0.05 . The overall dimensions of the skulls varied, and the males were comparatively larger than the females. The total length of the skull of males and females averaged 153.8 mm and 145.6 mm, respectively, while the zygomatic width of the skull in males averaged 108.6 mm and in females 102.8 mm. Similar differences in size were noted for the other 8 variables. A significant variation in the lynxes' skulls size from different populations was noteworthy, which is presumably related to their body sizes. Thus, the skulls of the European and Altai lynx were larger than the skulls of the Turkestan to some degree. In the near future, we will need to look at more skulls from other populations and use more skull variables to study differences between populations and subspecies.

Key words: Eurasian lynx, *Lynx lynx*, craniology, morphometry, population, subspecies, sexual dimorphism, taxonomic status, statistical analysis.

Н.Ә. Бижанова^{1,2,3*}, Ю.А. Грачев¹

¹ҚР БҒМ ҒК «Зоология институты» ШЖҚ РМК, Қазақстан, Алматы қ.

²Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

³Wildlife Without Borders ҚК, Қазақстан, Алматы қ.

*e-mail: nazerke.bizhanova@gmail.com

Кәдімгі сілеусін (*Lynx lynx* Linnaeus, 1758) бас сүйегінің морфометриялық сипаттамалары және жыныстық диморфизмі

Морфометриялық зерттеулер кәдімгі сілеусіннің (*Lynx lynx* Linnaeus, 1758) тоғыз түрлі популяциядан қарастырылған төрт түр тармағының: еуропалық (*L. l. lynx* L., 1758) ($n = 2$), Байкал (*L. l. kozlovi* Fetisov, 1950) ($n = 2$), Алтай (*L. l. wardi* Lydekker, 1904) ($n = 5$) және Түркістан (*L. l. isabellina* Blyth, 1847) ($n = 16$) сілеусінінің 27 бас сүйегінде жүргізілді. Жас ерекшеліктерін сараптау нәтижесінде зерттелген бас сүйектердің үшеуі бір жылдық жас даралар тобына, сегізі 2-3 жасқа дейінгі жас даралар тобына, он алтысы ересектер тобына жатқызылды. Аталық пен аналықтарды салыстыру үшін деректерді статистикалық өңдеуде 10 айнымалы қолданылды. Бір жылдық жас топтың бас сүйектері олардың дамымағандығынан пайдаланылмады. Айнымалылардың орташа мәндерін салыстыру үшін Студенттің t -тесті қолданылды, өңделген деректер $< 0,05$ көрсеткішімен статистикалық маңызды болып келеді. Бас сүйектердің жалпы өлшемдері әртүрлі, аталықтар аналықтарға қарағанда салыстырмалы түрде үлкен болды. Екі жыныс бас сүйектерінің жалпы ұзындығы, орта есеппен, аталықтарда 153,8 мм және аналықтарда 145,6 мм болды, ал бас сүйегінің зигоматикалық ені, орта есеппен, аталықтарда 108,6 мм және аналықтарда 102,8 мм болды. Өлшемдегі ұқсас айырмашылықтар қалған 8 айнымалы үшін де байқалды. Әртүрлі популяциялардағы сілеусін бас сүйектерінің өлшемдерінде айтарлықтай өзгерістер байқалды, бұл олардың денелерінің өлшеміне байланысты болуы мүмкін. Осылай, Еуропалық және Алтай сілеусінінің бас сүйектері Түркістан сілеусінінің бас сүйектерінен біршама үлкен болды. Алдағы уақытта басқа популяциялар сілеусіндерінің бас сүйектерін қарастыру және популяциялар және түр тармақтары арасындағы айырмашылықтарды зерттеу үшін көбірек айнымалыларды пайдалану жоспарлануда.

Түйін сөздер: кәдімгі сілеусін, *Lynx lynx*, краниология, морфометрия, популяция, түр тармағы, жыныстық диморфизм, таксономиялық статус, статистикалық талдау.

Сокращения и обозначения

АДВРЗ – альвеолярная длина верхнего ряда зубов; АДНРЗ – альвеолярная длина нижнего ряда зубов; ВНЧ – высота нижней челюсти; ВЧ – высота черепа; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; КазНУ – Казахский национальный университет; КДЧ – кондиллобазальная длина черепа; КН МОН РК – Комитет науки Министерства образования и науки Республики Казахстан; МГУ – Московский государственный университет; МШЧ – межглазничная ширина черепа; ОДЧ – общая длина черепа; СИТЕС (CITES) – Конвенция о международной торговле видами дикой фауны и флоры, находящимися под угрозой исчезновения (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora); СШЧ – скуловая ширина черепа; ШМОЧ – ширина мозгового отдела черепа; ШНОЧ – ширина носового отдела черепа.

Введение

Обыкновенная рысь (*Lynx lynx* Linnaeus, 1758) – вид из семейства кошачьих (*Felidae*), распространенный в лесных и горных массивах

Азии и Европы [1, 2]. В Казахстане и сопредельных регионах обитают подвиды рыси, границы морфологических признаков которых расплывчаты и нуждаются в рассмотрении [3-5]. Одним из способов определения различий между популяциями рыси является использование морфометрии – метода изучения формоизменения организма. Морфометрия на основе признаков черепа, в дополнение к другим методам дифференцирования (изучение по постнатальному скелету, окраске шкуры, митохондриальной ДНК), дает возможность рассмотреть отличия между и внутри популяций, и даже привести к обособлению определенных подвидов посредством математического выражения измерений ширины, длины и углов между двумя конкретными точками черепа [6-8].

На сегодняшний день морфометрических измерений черепов обыкновенной рыси, обитающей на территории Казахстана и близлежащих регионов, сравнительно мало. С.У. Строганов [9] в своей работе подробно описал морфологию обыкновенной рыси, привел измерения по черепам вида. А.А. Аристов и Г.Ф. Барышников [10] привели данные по верхнему и нижнему рядам зубов рыси. Измерения по отдельным подвидам

рыси, а также некоторые заметки по отличиям черепов самок и самцов были приведены в работе В.Г. Гептнера и А.А. Слудского [11].

Из всех образцов, рассмотренных нами в данной статье, 78% были собраны в Казахстане. При этом, более 40% из них являются сравнительно новыми, полученными в период с 2001 по 2021 гг. Используемые в данном исследовании методы измерения и критерии определения пола направлены на сравнение черепов самок и самцов различных популяций обыкновенной рыси. Учитывая фрагментарность современных данных по морфометрии и таксономии рыси в Евразии и, в частности, в Казахстане, актуальным являлось предоставить предварительные данные по краниальной морфометрии и биометрии обыкновенной рыси. Полученные данные перспективны для дальнейшего сравнения популяций рыси в Казахстане и в Евразии в целом.

Материалы и методы исследований

Были рассмотрены и измерены 27 образцов костного каркаса (25 цельных черепов и 2 – без нижней челюсти) обыкновенной рыси (*Lynx lynx*) из коллекционных фондов Института зоологии КН МОН РК, Биологического музея КазНУ им. аль-Фараби, Научно-исследовательского Зоологического музея при МГУ им. Ломоносова, а также частных коллекций таксидермистов. Коллекционирование черепов рысей в фондах датируется с середины 1920-х годов по конец 2021 г. и были рассмотрены 4 подвида рыси: европейская (*L. l. lynx* L., 1758) (n = 2), байкальская (*L. l. kozlovi* Fetisov, 1950) (n = 2), алтайская (*L. l. wardi* Lydekker, 1904) (n = 5) и туркестанская (*L. l. isabellina* Blyth, 1847) (n = 16). Среди остальных 2 черепов 1 образец был изначально предоставлен Алматинским зоопарком и другой был добыт в Казахстане (точнее не определено). В Рисунке 1 представлены регионы добычи рыси, черепа которых были рассмотрены нами в данном исследовании.

Череп рыси в первую очередь были разделены на возрастные группы – сеголетки (Juvenile), молодые особи или годовики (Subadult) и взрослые особи (Adult) [12]. Показателями, использованными для определения приблизительного возраста рысей по черепам (в том случае, когда возраст не был ранее указан в записях коллекционных фондов) были выраженность венечного шва, развитость стреловидного и затылочного гребней. Более точно о возрасте рыси можно было судить по открытости апикального отвер-

стия в корне клыка [13], в случае, если один из клыков был ранее подломлен. Так, на основе изучения 27 черепов рыси, 3 черепа отнесены к группе сеголеток, 8 – к молодой группе (до 2-3 лет), 16 – к взрослой группе.

Было измерено 10 стандартных параметров с каждого черепа по Кузнецову [14] и применяемых до настоящего времени [15, 16] (Рисунок 2). Измерения были выполнены с помощью штангенциркуля с точностью в 0,1 мм.

Был известен пол 16 образцов; предположительный пол рысей по 8 образцам был определен на основе ряда критериев, использованных Г.А. Клевезалем [12] и Garcia-Perea et al. [13]. Сеголетки (3 черепа) при статистической обработке данных для сравнения двух полов не использовались ввиду недоразвитости их черепа. Так, отмечена следующая корреляция между самками и самцами (Диаграмма 1).

Статистическая обработка данных выполнена на базе Excel. Использовался t-критерий Стьюдента, обработанные нами данные являются статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Отмечено соответствие между особями двух полов при использовании критерия Garcia-Perea et al. [13] (Диаграмма 1), примененного ими для сравнения самок и самцов иберийской рыси (*Lynx pardinus* Temminck 1827). Полученные данные подтверждают достоверность этого критерия половой дифференциации для рыси обыкновенной.

Средние значения переменных (в данном случае, ОДЧ и СПЧ), сравненные при помощи t-критерия Стьюдента, показывают отличия между самцами и самками (n = 24). Все 10 переменных были статистически обработаны и представлены в Таблице 1.

Отмечено, что габаритные размеры черепов значительно различались, и самцы были сравнительно крупнее самок. Так, общая длина черепа самцов и самок, в среднем, была 153,8 мм и 145,6 мм, соответственно, в то время как скуловая ширина черепа у самцов, в среднем, была 108,6 мм, а у самок – 102,8 мм. Схожие отличия по размерам отмечены и по другим показателям. Неоднородность образцов (разные размеры переменных) самок и самцов, предположительно, связана с большим ареалом выборки образцов, – соответственно, различными габаритными размерами рысей в разных, часто изолированных популяциях.



Рисунок 1 – Места и регионы обитания рассмотренных образцов обыкновенной рыси.

Европейская рысь: 1) Кокшетау и северная часть ареала (n = 2); Байкальская рысь: 2) Тункинская долина, вблизи Иркутска (n = 2); Алтайская рысь: 3) Горный Алтай (n = 3), 4) Катон (n = 2); Туркестанская рысь: 5) горный хребет Саур (n = 1), 6) Жетысуйский Алатау (n = 2), 7) Илейский Алатау (n = 10), 8) Кунгей Алатау (n = 2), 9) Терскей Алатау (n = 1)

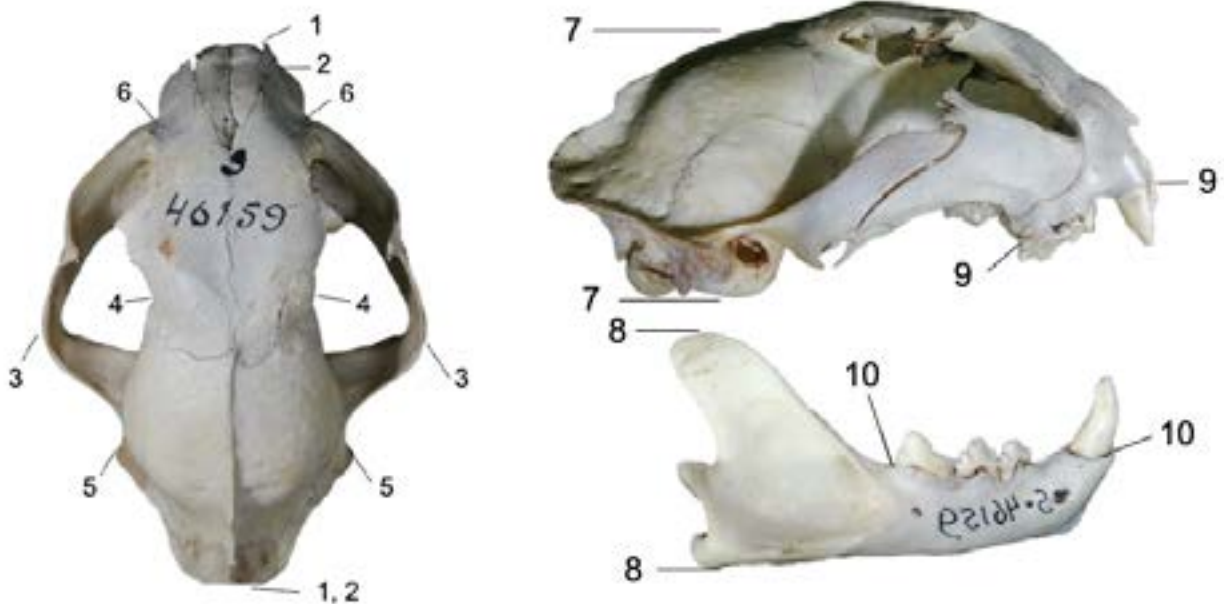


Рисунок 2 – Измерения черепов по Кузнецову [14].

1 – общая длина черепа (ОДЧ); 2 – кондилобазальная длина черепа (КДЧ);
3 – скуловая ширина черепа (СШЧ); 4 – межглазничная ширина черепа (МШЧ);
5 – ширина мозгового отдела черепа (ШМОЧ); 6 – ширина носового отдела черепа (ШНОЧ);
7 – высота черепа (ВЧ); 8 – высота нижней челюсти (ВНЧ); 9 – альвеолярная длина верхнего ряда зубов (АДВРЗ);
10 – альвеолярная длина нижнего ряда зубов (АДНРЗ)

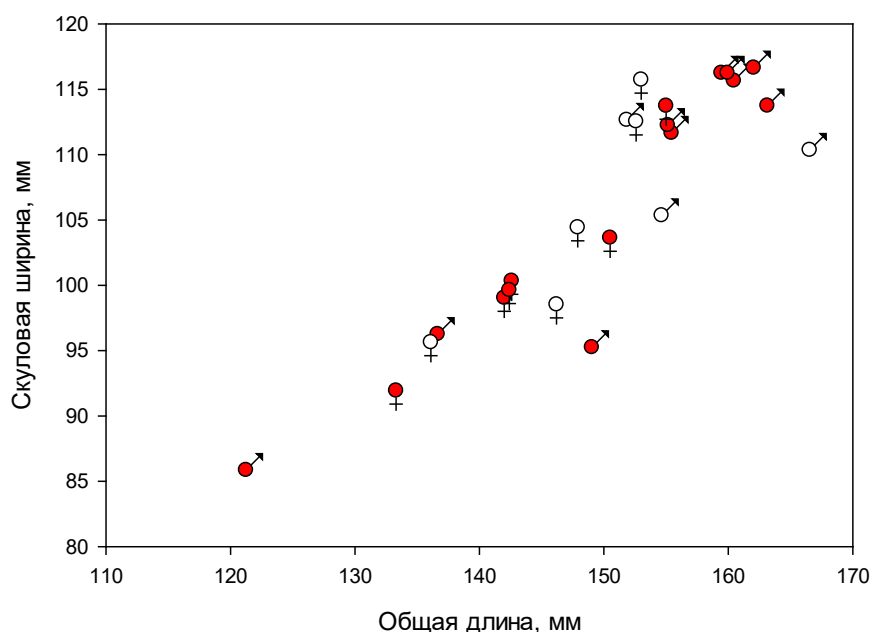


Диаграмма 1 – Корреляция между общей длиной черепа (ОДЧ) и скуловой шириной черепа (СШЧ).
Красные круги: образцы с известным полом. Белые круги: образцы с предположительным полом

Таблица 1 – Статистические данные краниальных переменных взрослой и молодой групп самцов и самок

Пол	Самцы ♂					Самки ♀					Т	Р
	Пар-ы	\bar{x}	σ	SE	L_1-L_2	$L'-L''$	\bar{x}	σ	SE	L_1-L_2		
ОДЧ	153,8	12,3	3,41	147,1-160,5	121,6-166,9	145,6	7,04	2,12	141,4-149,7	133,3-155	2,441	0.01
КДЧ	147,4	13,26	3,67	140,2-154,6	114,8-166,9	139,74	7,15	2,15	135,5-143,9	126,5-147,5	2,441	0.01
СШЧ	108,6	9,8	2,7	103,3-114,01	86,2-117	102,86	7,75	2,34	98,3-107,4	91,6-115,4	2,441	0.01
МШЧ	35,5	5,77	1,6	32,3-38,6	24,5-48,9	31,17	3,13	0,94	29,3-33,02	26,6-36,5	2,441	0.01
ШМОЧ	65,9	4,37	1,21	63,5-68,2	55,5-70,1	62,97	2,49	0,75	61,5-64,4	57,9-66,1	2,441	0.01
ШНОЧ	45,6	3,11	0,86	43,9-47,3	37,9-48,9	43,86	2,55	0,77	42,3-45,3	40,6-47,9	2,441	0.01
ВЧ	64,04	4,88	1,35	61,4-66,7	52,3-70,9	61,14	5,29	1,59	58,02-64,2	51,5-70	2,441	0.01
ВНЧ	47,4	5,78	1,6	44,3-50,6	34,2-54,5	43,49	3,37	1,06	41,4-45,6	38,5-50,3	2,377	0.01
АДВРЗ	60,1	4,35	1,2	57,7-62,5	50,7-67,4	57,53	2,73	0,82	55,9-59,1	53,9-61,1	2,441	0.01
АДНРЗ	57,6	3,71	1,03	55,6-59,6	50,1-61,7	56,18	1,69	0,53	55,1-57,2	53,7-58,6	2,377	0.01

Примечание: \bar{x} – среднее значение; σ – стандартное отклонение; SE – стандартная ошибка среднего значения; L_1-L_2 – 95%-ный доверительный интервал для среднего значения; $L'-L''$ – нижняя и верхняя границы переменных; t – t-критерий Стьюдента для каждой переменной, используемой для сравнения самцов и самок; P – значение, указывающее на статистическую достоверность данных. При значении $p < 0.05$, данные статистически значимы.

У сеголеток венечный шов был значительно выражен, а стреловидный и затылочный гребни не были развиты; в верхнем ряду зубов третий премоляр P^3 не образован, нижний моляр M_1 начинал расти. У молодых особей венечный шов сравнительно менее выражен, чем у сеголеток. Стреловидный гребень у самцов этой группы также бывает недоразвитым, что также харак-

терно для некоторых взрослых самок [17]. У взрослых рысей (в большинстве случаев, самцов) стреловидный и затылочный гребни бывают развиты; венечный шов закрыт как у самцов, так и у самок.

Стандартные измерения по Кузнецову [14] позволили получить необходимые переменные, которые в следствии показали отличия между

самцами и самками обыкновенной рыси. Полученные данные по корреляции между самцами и самками по ОДЧ и СШЧ в некоторой степени отличались от результатов Garcia-Perea et al. [13], ввиду того, что рассмотренными ими образцы иберийской рыси были получены из популяций, расположенных в сравнительно незначительном друг от друга расстоянии.

Так, в Диаграмме 1 отмечено некоторое перекрытие самок с самцами по показателям ОДЧ и СШЧ, что может быть связано с внесением в статистическую обработку молодых образцов самцов и отличий в размерах подвидов и изолированных популяций рыси. В частности, отмечено, что особи европейской и алтайской рысей по размерам преобладают особей туркестанской рыси. С другой стороны, два черепа, по морфологическим признакам которых пол рысей был предположен как самки, могли на самом деле принадлежать самцам с недоразвитыми гребнями в затылочной кости. В таком случае, критерий сравнения по ОДЧ и СШЧ, использованный Garcia-Perea et al. [13], может быть использован как дополнительный вариант определения пола рассматриваемых образцов. Значительного полового диморфизма на основе сравнения клыков не отмечено. Это может быть связано с тем, что отличия по клыкам между самками и самцами связаны с системой размножения – в частности, диморфизм по клыкам отмечается у групповых животных, где имеется один самец и несколько самок [18], и не заметен у такого генетически моногамного вида, как обыкновенная рысь.

При попытке сравнения переменных черепов туркестанской ($n = 17$) и алтайской ($n = 5$) рысей, p -значение несколько превышало 0.05, что указывало на статистическую незначительность данных. Это, по всей видимости, было связано с незначительным количеством образцов алтайской рыси. Попытка сравнения показателей черепов по двум подвидам была совершена в целях определения таксономического положения редкой туркестанской рыси. Вопрос по систематической обособленности этих двух подвидов рыси был рассмотрен еще с того времени, как алтайская рысь была впервые описана Р. Лиддекером в 1904 году по шкуре из Алтая [19]. Обособленность алтайской рыси как подвида подвергалась сомнению [20, 21], однако сообщалось и о значительных отличиях в строении черепов алтайской рыси от других, и эта рысь указывалась как отдельный подвид [9]. На сегодняшний день также известно, что у 12% алтайской рыси отсутствует метаконид на нижнем моляре M_1 , в

то время как этот бугорок отсутствует у 75% туркестанской рыси [22]. Тем не менее, статус двух подвидов продолжался находится под вопросом. Так, В.Г. Гептнер и А.А. Слудский [11] считали, что туркестанская и алтайская рыси либо очень близки, либо идентичны. С того времени исследований по сравнительной морфометрии этих двух групп было проведено сравнительно мало. До настоящего момента алтайская рысь не признается отдельным подвидом рядом ученых [5, 22, 23]. В целом, таксономический статус рыси во всей Азии до сих пор слабо изучен, и граница между двумя подвидами до сих пор не ясна. Неясность в положении алтайской рыси в таксоне в некоторой степени усложняет и установление природоохранного статуса туркестанской рыси, занесенной в Красную книгу Казахстана и Приложение II Международной Конвенции СИТЕС.

В таксономических и природоохранных целях необходимо продолжить эти исследования по уточнению таксономического статуса туркестанской и алтайской рысей. Для этого в будущем планируется провести поиск и измерение большего количества черепов из Южного Алтая, а также использование методов измерений, использованными Sicuro and Oliveira [24] и Gomerčić et al. [25] для более основательного морфометрического анализа черепов туркестанской и алтайской рысей.

Заключение

Метод измерения по Кузнецову [14], хоть и имеет только 10 показателей, тем не менее, является подходящим критерием для сравнения двух полов обыкновенной рыси. Сравнение по ОДЧ и СШЧ по Garcia-Perea et al. [13] также было полезно для этой задачи.

Статистический анализ 10 переменных был эффективен и наглядно показал половой диморфизм у обыкновенной рыси, в частности, что самцы этого вида имеют сравнительно более крупные размеры, чем самки. Тем не менее, размеры изученных образцов значительно варьируют, что может указывать на отличия в размерах рысей из разных популяций. В частности, европейская и алтайская рыси были крупнее, чем туркестанская рысь.

Необходимо продолжить эти исследования, в частности, 1) провести поиск большего количества черепов алтайской рыси для сравнения с черепами туркестанской рыси в целях изучения их положения в таксоне; 2) использовать показатели черепов только взрослых особей ввиду наи-

более точных показателей для статистического анализа; 3) применить другие методы измерений с большим количеством переменных для более подробного морфометрического изучения черепов обыкновенной рыси.

Благодарности

Авторы сердечно благодарят за организацию и помощь по работе с коллекционным материалом: заместителя генерального директора Института зоологии Чирикову Марину Александровну, заведующего Лаборатории териологии института Грачева Алексея Александровича, старшего научного сотрудника лаборатории Байдавлетова Ерлика Рыспековича, младшего научного сотрудника лаборатории Кантарбаева Санжара Сакеновича и старшего лабораторного ассистента Беспалов Максима Владиславовича; научного сотрудника Сектора териологии Научно-исследовательского Зоологического музея МГУ им. М.В. Ломоносова Лебедева Владимира Святославовича; заведующего таксидермической реставрационной мастерской Биологического музея КазНУ им. аль-Фараби Жуйко Бориса Петровича; биолога-таксидермиста Сафронова Сергея. Авторы также признательны научному сотруднику От-

дела фондов и Хранителю коллекции млекопитающих Государственного Дарвиновского музея Красных Наталье Александровне за поиск черепов в фонде музея. Авторы благодарят докторанта Назарбаев Университета Карибаева Мирата Маликулы за помощь в статистическом анализе данных.

Источник финансирования и заметки

В работе использовались черепа с коллекционных фондов Института зоологии КН МОН РК (Регистр. № 7/11809; 8/13075; 5/11136; 14544; 6/11137; 4/11135), Сектора териологии Научно-исследовательского Зоологического музея при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова (Регистр. № S-94178; S-46158; S-46159; S-46160), Биологического музея (Регистр. № 55; 56; 483; 497; 525; 628; 629; 650; 659; 695; 718; 798; 879), личной коллекции таксидермиста (Регистр. № 1/143).

Исследования выполнены в рамках проекта Института зоологии КН МОН РК – OR11465437 «Разработка национального электронного банка данных по научной зоологической коллекции Республики Казахстан, обеспечивающего их эффективное использование в науке и образовании», 2021-2022 гг.

Литература

- 1 Sunquist M., Sunquist F. Wild Cats of the World. Chicago, "University of Chicago Press", 2002. – 452 p. ISBN 0-226-77999-8.
- 2 Aulagnier S., Mitchell-Jones A.J., Zima J., Haffner P., Moutou F., Chevalier J. Mammals of Europe, North Africa and the Middle East. London, UK, "Bloomsbury Publishing", 2018. – 272 p. ISBN 9781472960993.
- 3 von Arx M., Breitenmoser-Würsten Ch., Zimmermann F., Breitenmoser U. Status and Conservation of the Eurasian Lynx (*Lynx lynx*) in Europe in 2001. Muri, Switzerland: "KORA", 2004. – 330 p. ISSN 1422-5123.
- 4 Breitenmoser U., Breitenmoser-Würsten Ch. Der Luchs: Ein Grossraubtier in der Kulturlandschaft. Salm Verlag, Wohlen/Bern, Schweiz, 2008. – 584 p.
- 5 Breitenmoser U., Breitenmoser-Würsten Ch., Lanz T., von Arx M., Antonevich A., Bao W., Avgan B. *Lynx lynx* (errata version published in 2017) // The IUCN Red List of Threatened Species, 2015: e.T12519A121707666. Accessed on 30 January 2022
- 6 Rohlf F.J., Marcus L.F. A revolution in morphometrics // Trends Ecol. E., Vol. 8, 1993. – 129-132 pp. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(93\)90024-J](https://doi.org/10.1016/0169-5347(93)90024-J)
- 7 Dayan M.O., Gürbüz I., Demiraslan Y., Özgel Ö. Craniometric Measurements of the Male Eurasian Lynx from Turkey // Animal and Veterinary Sciences, Issue 5, No. 1, 2017. – 15-20 pp. doi: 10.11648/j.av.s.20170501.13
- 8 Матюшкин Е.Н. Рыси мировой фауны: биологическое разнообразие, география и эволюция // Рысь. Региональные особенности экологии, использования и охраны. Москва, «Наука», 2003. – С. 12-30. ISBN 5-02-002789-8
- 9 Строганов С.У. Звери Сибири. Хищные / под ред. В.Г. Гептнера. Москва, Издательство Академии Наук СССР, 1962. – 458 с.
- 10 Аристов А.А., Барышников Г.Ф. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Хищные и ластоногие. Санкт-Петербург, «СПбГУ», 2001. – 560 с.
- 11 Гептнер В.Г., Слудский А.А. Млекопитающие Советского Союза. Т. II., Ч. II. Хищные (Гиены и Кошки). Москва, «Высшая школа», 1972. – 552 с.
- 12 Клевезаль Г.А. Принципы и методы определения возраста млекопитающих, Москва, «КМК», 2007. – 283 с. ISBN 978-5-87317-355-6

- 13 Garcia-Perea R., Gisbert J., Palacois F. Review of the Biometrical and Morphological Features of the Skulls of the Iberian Lynx, *Lynx pardine* (Temminck, 1824) // *Säugetierkundliche Mitteilungen*, Issue 32, 1985: 249-259 pp.
- 14 Кузнецов Б.А. Определитель позвоночных животных фауны СССР. Ч. 3. Млекопитающие. Москва, «Просвещение», 1975. – 208 с.
- 15 Коросов А.В., Хейкинен А.С. Новый принцип определителя млекопитающих // *Принципы экологии*. Вып. 3., No.4., 2015. – С. 4-17. ISSN 2304-6465
- 16 Левых Ю.А., Токарь О.Е., Гашев С.Н., Козлов О.В., Аршевский С.В. Летние полевые практики по ботанике и зоологии. Учебное пособие для ВУЗов / под ред. Левых А.Ю. Москва, «Юрайт», 2021. – 321 с.
- 17 Kvam T. Age determination in European lynx *Lynx lynx lynx* (L.) based on cranial development // *Fauna Norv. Ser. A.*, Issue 4, 1983. – 31-36 pp.
- 18 Gittleman J.L. Sexual dimorphism in the canines and skulls of carnivores: effects of size, phylogeny, and behavioural ecology // *J. Zool., Lond.*, Issue 242, 1997. – 97-117 pp.
- 19 Lydekker R. The coloration of the lynxes // *The Field*, 104, 1904. – 576 pp.
- 20 Сатуниин К.А. Определитель млекопитающих Российской Империи. Рукокрылые, Насекомоядные и Хищные. Тифлис, 1914. – 184 с.
- 21 Огнев С.И. Звери Восточной Европы и Северной Азии. Т. 3. Хищные и Ластоногие, Москва-Ленинград, «Государственное издательство биологической и медицинской литературы», 1935. – 752 с.
- 22 Kitchener A.C., Breitenmoser-Würsten Ch., Eizirik E., Gentry A., Werdelin L., Wilting A., Yamaguchi N., Abramov A.V., Christiansen P., Driscoll C., Duckworth J.W., Johnson W., Luo S.-J., Meijaard E., O'Donoghue P., Sanderson J., Seymour K., Bruford M., Groves C., Hoffmann M., Nowell K., Timmons Z., Tobe S. A revised taxonomy of the Felidae. The final report of the Cat Classification Task Force of the IUCN Cat Specialist Group // *Cat News, Special Issue 11*, 2017. – 80 p. ISSN 1027-2992.
- 23 Nowell K., Jackson P. *Wild Cats: Status Survey and Conservation Action Plan*. IUCN/SSC Cat Specialist Group, Gland, Switzerland, 1996. – 421 p. ISBN Z-8317-0045-0.
- 24 Sicuro, F. & Oliveira, L. Skull morphology and functionality of extant Felidae (Mammalia: Carnivora): A phylogenetic and evolutionary perspective // *Zoological Journal of the Linnean Society*, Issue 161, 2011. – Pp. 414-462. doi 10.1111/j.1096-3642.2010.00636.x.
- 25 Gomerčić, T., Sindičić, M., Gomerčić, Đ.M., Goran, G., Frković, A.F., Pavlović, D., Kusak, J., Galov, A., Huber, Đ. Cranial morphometry of the Eurasian lynx (*Lynx lynx* L.) from Croatia // *Veterinarski Arhiv.*, Issue 80, No. 3, 2010. – Pp. 393-410.

References

- 1 Aristov, A.A. and Baryshnikov, G.F. *Mlekopitayushchie fauny Rossii i sopredel'nykh territoriy. Khishnyye i lastonogie* [Mammals of the fauna of Russia and adjacent territories. Carnivores and pinnipeds]. St. Petersburg, Russia: Publ. house "Saint Petersburg State University", 2001. 560 p. (In Russian)
- 2 Aulagnier, S., Mitchell-Jones, A.J., Zima, J., Haffner, P., Moutou, F., and Chevalier, J. *Mammals of Europe, North Africa and the Middle East*. London, UK: Bloomsbury Publishing, 2018. 272 p. ISBN 9781472960993.
- 3 Breitenmoser, U. and Breitenmoser-Würsten, Ch. *Der Luchs: Ein Grossraubtier in der Kulturlandschaft*. Salm Verlag, Wohlen/Bern. Schweiz, 2008. 584 p. (In German)
- 4 Breitenmoser, U., Breitenmoser-Würsten, Ch., Lanz, T., von Arx, M., Antonevich, A., Bao, W., and Avgan, B. (2015) *Lynx lynx* (errata version published in 2017). The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T12519A121707666. Accessed on 30 January 2022
- 5 Dayan, M.O., Gürbüz, I., Demiraslan, Y., and Özgel, Ö. (2017) *Craniometric Measurements of the Male Eurasian Lynx from Turkey*. *Animal and Veterinary Sciences* 5(1): 15-20. doi: 10.11648/j.avs.20170501.13
- 6 Heptner, V.G. and Sludskiy, A.A. *Mlekopitayushchie Sovetskogo Soyuzu*. Vol. 2, Ch. 2. *Hishnyye (Gieny i Koshki)* [Mammals of the Soviet Union. V. 2, Ch. 2. Carnivores (Hyenas and Felids)] / eds. Heptner V.G. and Naumov N.P. Moscow, Russia: Publ. house "Vysshaja shkola", 1972. 552 p. (In Russian)
- 7 Garcia-Perea, R., Gisbert, J., and Palacois, F. (1985) Review of the Biometrical and Morphological Features of the Skulls of the Iberian Lynx, *Lynx pardine* (Temminck, 1824). *Säugetierkundliche Mitteilungen* 32: 249-259.
- 8 Gittleman J.L. (1997) Sexual dimorphism in the canines and skulls of carnivores: effects of size, phylogeny, and behavioural ecology. *J. Zool., Lond.* 242: 97-117.
- 9 Gomerčić, T., Sindičić, M., Gomerčić, Đ.M., Goran, G., Frković, A.F., Pavlović, D., Kusak, J., Galov, A., and Huber, Đ. (2010) Cranial morphometry of the Eurasian lynx (*Lynx lynx* L.) from Croatia. *Veterinarski Arhiv.* 80(3): 393-410.
- 10 Kitchener, A.C., Breitenmoser-Würsten, Ch., Eizirik, E., Gentry, A., Werdelin, L., Wilting, A., Yamaguchi, N., Abramov, A.V., Christiansen, P., Driscoll, C., Duckworth, J.W., Johnson, W., Luo, S.-J., Meijaard, E., O'Donoghue, P., Sanderson, J., Seymour, K., Bruford, M., Groves, C., Hoffmann, M., Nowell, K., Timmons, Z., and Tobe, S. (2017) A revised taxonomy of the Felidae. The final report of the Cat Classification Task Force of the IUCN Cat Specialist Group. *CATNews Special Issue 11*, 80 pp. ISSN 1027-2992.
- 11 Klevezal, G.A. *Printsipy i metody opredeleniya vozrasta mlekopitayuschikh* [Principles and methods for determining the age of mammals], Moscow, Russia: Publ. house "KMK", 2007. 283 p. ISBN 978-5-87317-355-6 (In Russian)
- 12 Korosov, A.V. and Heikinen, A.S. (2015) *Novyy printsip opredelatelya mlekopitayuschikh* [A new principle of the determinant of mammals], *Principy ekologii* 3(4): 4-17. ISSN 2304-6465 (In Russian)

- 13 Kuznetsov, B.A. *Opredelitel' pozvonochnykh zhyvotnykh fauny SSSR. Ch. 3. Mlekopitayushchie* [Determinant of vertebrate fauna of the USSR. Part 3. Mammals]. Moscow, Russia: Publ. house "Prosvetshenie", 1975, 208 p. (In Russian)
- 14 Kvam, T. (1983): Age determination in European lynx *Lynx lynx lynx* (L.) based on cranial development. *Fauna Norv. Ser. A. 4*: 31-36.
- 15 Levykh, Yu.A., Tokar, O.E., Gashev, S.N., Kozlov, O.V., and Arshevsky, S.V. *Letnie polevye praktiki po botanike i zoologii. Uchebnoe posobie dlya VUZov* [Summer field practices in botany and zoology. Textbook for universities] / ed. Levykh, A.Yu. Moscow, Russia: "Urait", 2021. 321 p. (In Russian)
- 16 Lydekker, R. (1904) The coloration of the lynxes. *The Field* 104, 576.
- 17 Matyushkin, Ye.N. (2003) Lynx in the World fauna: Biological diversity, geography and evolution of the group // In: *The Lynx. Regional features of ecology, use and protection*. Moscow, Russia: Nauka: Pp. 12-30. ISBN 5-02-002789-8
- 18 Nowell, K. and Jackson P. *Wild Cats: Status Survey and Conservation Action Plan*. IUCN/SSC Cat Specialist Group, Gland, Switzerland, 1996. 421 pp. ISBN Z-8317-0045-0.
- 19 Ognev, S.I. *Zveri Vostochnoy Evropy i Severnoy Azii. T. 3. Khishchnye i Lastonogie* [Animals of Eastern Europe and Northern Asia. Vol. 3. Carnivores and Pinnipeds]. Moscow-Leningrad, Russia: "State Publishing House of Biological and Medical Literature", 1935, 752 p. (In Russian)
- 20 Rohlf, F.J. and Marcus, L.F. (1993) A revolution in morphometrics. *Trends Ecol. E. Vol. 8*: 129-132. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(93\)90024-J](https://doi.org/10.1016/0169-5347(93)90024-J)
- 21 Satunin, K.A. *Opredelitel' mlekopitayuschikh Rossiyskoy Imperii. Rukokrylye, Nasekomoyadnye i Khishchnye* [Guide to mammals of the Russian Empire. Bats, Insectivores and Carnivores]. Tiflis (Tbilisi), Georgia, 1914. 184 p. (In Russian)
- 22 Sicuro, F. and Oliveira, L. (2011) Skull morphology and functionality of extant Felidae (Mammalia: Carnivora): A phylogenetic and evolutionary perspective. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 161: 414-462. doi 10.1111/j.1096-3642.2010.00636.x.
- 23 Stroganov, S.U. *Zveri Sibiri. Khishchnye* [Animals of Siberia. Carnivores] / ed. V.G. Heptner. Moscow, Russia: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR, 1962, 458 pp. (In Russian)
- 24 Sunquist, M. and Sunquist, F. *Wild Cats of the World*. University of Chicago Press, 2002. 452 p. ISBN 0-226-77999-8.
- 25 von Arx, M., Breitenmoser-Wursten, Ch., Zimmermann, F., and Breitenmoser, U. Status and Conservation of the Eurasian Lynx (*Lynx lynx*) in Europe in 2001. Muri, Switzerland: KORA, 2004. 330 p. ISSN 1422-5123.

С.В. Ялышева^{1*} , А.М. Абдыбекова² 

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

² Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт, Казахстан, г. Алматы

*e-mail: yalyshevasofiya@gmail.com

О РАСПРОСТРАНЕНИИ ЭХИНОКОККОЗА В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН

Эхинококкоз – зоонозный гельминтоз человека и животных, вызываемый ленточными червями *Echinococcus granulosus*. Эхинококкоз представляет серьезную проблему, поскольку лечение людей предполагает обширное хирургическое вмешательство или длительное применение противопаразитарных лекарственных препаратов и имеет ограниченную эффективность. Кроме того, ежегодно эхинококкоз наносит серьезный ущерб животноводству. На каждый конкретный момент времени в мире эхинококкозом поражено более 1 миллиона человек. Казахстан входит в число стран неблагоприятных по эхинококкозу. Целью данного исследования является установить зараженность овец цистным эхинококкозом на территории наиболее эндемичных областей на юге и западе страны. Кроме того, проанализировать статистические данные по заболеваемости людей эхинококкозом в Республике Казахстан за 2020–2021 гг. для оценки нынешней ситуации по эхинококкозу. Ситуация по эхинококкозу в настоящее время остается сложной. Эхинококкоз встречается во всех областях республики, однако наиболее эндемичным регионом является юг Казахстана, который является крупным животноводческим центром. Наиболее высокие показатели зараженности овец выявлены в Западно-Казахстанской и Алматинской областях – 16.7% и 12.52%. По заболеваемости людей в республике за полтора года выявлено 557 случаев ларвального эхинококкоза. Самые высокие показатели наблюдаются в Туркестанской, Жамбылской, Алматинской областях и в г.Шымкент. Реже всего эхинококкоз встречается в Павлодарской, Костанайской областях и в г.Нур-Султан. Существующая система учета больных эхинококкозом и статистические данные не вполне отражают реальное число людей, зараженных эхинококкозом, поскольку учитываются только хирургические случаи. Мониторинг за природными очагами эхинококкоза необходим, особенно на юге, для принятия скоординированных мер по борьбе с болезнями.

Ключевые слова: эхинококкоз, показатель заболеваемости, мелкий рогатый скот, цестода, паразиты, гельминтоз

S.V. Yalysheva^{1*}, A.M. Abdymbekova²

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Kazakh Research Veterinary Institute, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: yalyshevasofiya@gmail.com

On the distribution of echinococcosis in the Republic of Kazakhstan

Echinococcosis is a zoonotic helminthiasis of humans and animals, caused by *Echinococcus granulosus* tapeworms. Treatment of echinococcosis is often expensive and complex and may require extensive surgery or long-term drug therapy. In addition, echinococcosis causes serious damage to livestock every year. At any given time in the world, more than 1 million people are affected by echinococcosis. Kazakhstan is among the countries unfavorable for echinococcosis. The purpose of this study is to establish the infection of sheep with cystic echinococcosis in the most endemic regions in the south and west of the country. In addition, to analyze statistical data on the incidence of human echinococcosis in the Republic of Kazakhstan for 2020–2021 to assess the current situation on echinococcosis. The situation with echinococcosis currently remains difficult. Echinococcosis is found in all regions of the republic, but the most endemic region is the south of Kazakhstan, which is a large livestock center. The highest rates of infection in sheep were found in the West Kazakhstan region and Almaty region – 16.7% and 12.52%. In terms of the incidence of people in the republic for a year and a half, 557 cases of larval echinococcosis have been identified. The highest rates are observed in Turkestan, Zhambyl, Almaty regions and in Shymkent. Echinococcosis is least common in Pavlodar, Kostanay regions and in the city of Nur-Sultan. The existing system of registration of patients with echinococcosis and statistical data do not fully reflect the real number of people infected with echinococcosis, since only surgical cases are taken into account.

Monitoring of natural foci of echinococcosis is necessary, especially in the south, for coordinated disease control measures.

Key words: echinococcosis, morbidity, sheep, cestoda, parasites, helminthiasis

С.В. Ялышева^{1*}, А.М. Абдыбекова²

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

²Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты, Қазақстан, Алматы қ.

*e-mail: yalyshevasofiya@gmail.com

Қазақстан Республикасында эхинококкоздың таралуы

Эхинококкоз – адамдар мен жануарлардың зоонозды гельминтозы, *Echinococcus granulosus* таспа құрттарынан туындаған. Эхинококкозды емдеу көбінесе қымбат және күрделі болып табылады және кең хирургиялық араласуды немесе ұзақ мерзімді дәрілік терапияны қажет етуі мүмкін. Сонымен қатар эхинококкоз жыл сайын мал шаруашылығына ауыр зиян келтіреді. Әлемнің кез келген уақытында 1 миллионнан астам адам эхинококкозбен ауырады. Қазақстан эхинококкозға қолайсыз елдердің қатарында. Бұл зерттеудің мақсаты – республиканың оңтүстігі мен батысындағы эндемиялық аймақтарда қойлардың кистозды эхинококкозбен инфекциясын анықтау. Сонымен қатар, Қазақстан Республикасында личинкалық эхинококкозбен ауыратындардың 2020-2021 жылдарға арналған статистикалық мәліметтерін талдау, елдегі эхинококкоз бойынша қазіргі жағдайды бағалау. Эхинококкозбен байланысты жағдай қазіргі уақытта күрделі күйінде қалып отыр. Эхинококкоз республиканың барлық аймақтарында кездеседі, бірақ ең эндемиялық аймақ – Қазақстанның оңтүстігі, ол ірі мал шаруашылығы орталығы болып табылады. Қойларды жұқтырудың ең жоғары деңгейі Батыс Қазақстан мен Алматы облыстарында анықталды – 16,7% және 12,52%. Бір жарым жыл ішінде республикадағы адамдардың сырқаттанушылық көрсеткіші бойынша личинкалық эхинококкоздың 557 жағдайы анықталды. Ең жоғары көрсеткіш Түркістан, Жамбыл, Алматы облыстары мен Шымкентте байқалады. Эхинококкоз Павлодар, Қостанай облыстары мен Нұр-Сұлтан қаласында сирек кездеседі. Эхинококкозбен ауыратын науқастарды тіркеудің қолданыстағы жүйесі мен статистикалық мәліметтер эхинококкозды жұқтырған адамдардың нақты санын толық көрсетпейді, өйткені тек хирургиялық жағдайлар ескеріледі. Эхинококкоздың табиғи ошақтарының мониторингі, әсіресе оңтүстікте, ауруларды бақылаудың үйлестірілген шаралары үшін қажет.

Түйін сөздер: эхинококкоз, науқастық, қой-ешкі, цестода, паразиты, гельминтоз

Введение

Эхинококкоз – зоонозный гельминтоз, вызываемый личиночной формой цестоды *Echinococcus granulosus*. Эхинококкоз представляет серьезную проблему, поскольку лечение людей предполагает обширное хирургическое вмешательство или длительное применение противопаразитарных лекарственных препаратов и имеет ограниченную эффективность. Кроме того, ежегодно эхинококкоз наносит серьезный ущерб животноводству. На каждый конкретный момент времени в мире более 1 миллиона человек заражено эхинококкозом [1]. По классификации МЭБ эхинококкоз внесен в список наиболее распространенных болезней. В некоторых странах, неблагополучных по эхинококкозу, существуют национальные программы по ликвидации болезни. Эхинококкоз приносит большие экономические убытки. По оценкам, ежегодно на лечение пациентов и убытки в животноводстве тратится около 3 миллиардов долларов США

[2]. У окончательных хозяев, которыми являются собаки, лисы, волки и другие псовые, после поедания зараженных органов, в кишечнике развивается половозрелые особи гельминта, которые в большом количестве продуцируют яйца. Промежуточными хозяевами *Echinococcus granulosus* являются жвачные. В их организме в печени и легких после случайного заглатывания яиц развиваются цисты, содержащие личинки гельминта. Человек является случайным хозяином паразита [3].

Казахстан является эндемичным регионом по эхинококкозу. Наиболее неблагополучным является юг республики, чему способствует развитое овцеводство в регионе, наряду с климатическими особенностями [4]. Домашние овцы и приотарные собаки составляют основной цикл развития *Echinococcus granulosus* и являются главным источником заражения людей. Скармливание зараженных органов собакам поддерживает жизненный цикл *Echinococcus granulosus* и способствует дальнейшему распространению болезни.

Согласно результатам исследований, проводившимся ранее, зараженность овец эхинококкозом в 2003г. в трех наиболее эндемичных областях республики – Алматинской, Жамбылской и Южно-Казахстанской областях – составляет от 30 до 50%, крупного рогатого скота – 7%, сельских собак – от 5 до 10%, приотарных собак свыше 20%. [5]. По данным, опубликованным в 2010 г, в Южно-Казахстанской области зараженность мелкого рогатого скота колеблется от 24% до 32%, крупного рогатого скота – 16,9% до 44,4, у свиней зараженность достигает 27,2%. В Алматинской области зараженность овец составляла – 7,7-69%, верблюдов 20-64% [6].

По данным другого исследования на убойных пунктах Алматинской области в период 2010-2011 гг., средняя зараженность овец эхинококкозом составляет 9,1% [7].

Резкий рост заболеваемости в конце 1990-х связан с ухудшением социально-экономических условий жизни населения и ветеринарно-санитарного надзора вследствие распада СССР. [8] Отчасти он может объясняться усовершенствованием методов диагностики населения в последние годы. [9]

По опубликованным данным в 2015 году заболеваемость людей эхинококкозом составляет 5 на 100 000 населения в год, 5949 случаев заболевания людей зарегистрировано в стране с 2007 по 2013 годы [10].

Согласно анализу статистических данных по заболеваемости населения, опубликованному в 2020 г., число больных, подвергшихся хирургическому лечению эхинококкоза с 2007 по 2016 гг. снизилось с 5.6 до 4.7 случаев на 100 тысяч населения. В южных регионах за указанный период заболеваемость составила от 7.0 до 10.0 случаев на 100 тысяч населения. Несмотря на общее снижение по республике, наблюдается тенденция к росту в южных регионах. [9]

Тяжесть заболевания зависит от интенсивности и обширности заражения, локализации цист. Наиболее часто поражаются печень и легкие, хотя другие органы также могут быть поражены.

В мировой практике существуют примеры успешных стратегий контроля по распространению цистного эхинококкоза: государственные программы, реализованные в Исландии, Новой Зеландии, Тасмании, Фолклендских островах и на Кипре позволили полностью элиминировать эхинококкоз. [11]

Цель данного исследования – установить зараженность овец цистным эхинококкозом на территории наиболее неблагополучных по

эхинококкозу областей – Алматинской, Жамбылской, Туркестанской, Актюбинской, Атырауской и Западно-Казахстанской. Эти данные необходимы, поскольку являются индикатором заболеваемости овец как основного источника заражения собак. Кроме того, проанализировать статистические данные по заболеваемости людей ларвальным эхинококкозом в Республике Казахстан для оценки актуальной ситуации по эхинококкозу в стране.

Материалы и методы

Исследование зараженности овец ларвальным эхинококкозом проводилось на базе убойного пункта рынка «Алтын Орда» Алматинской области в период с марта по июнь 2021г. В г.Тараз и Жамбылской области исследования сельскохозяйственных животных проводили в убойных цехах «Сункар» и «Рустам». В Туркестанской области на убойных пунктах «Дархан», ТОО «МаратKZ» и ТОО «Дос Братья» Сайрамского района. В г.Актобе и Актюбинской области на убойных пунктах ТОО «Есік», СПК (союз потребительских кооперативов) «Айбек», ТОО «Тандем-W» и ИП «Касымов». В Атырауской области на убойных пунктах ТОО «Тума «Асыл-агро». В Западно-Казахстанской области исследование проводилось на убойных площадках «К/Х Ергалиев», ИП «Сымбат», ТОО «Суық Булак», ТОО «Агрофирма Акас» (Жангалинский, Сырымский, Тайпакский, Казталовский районы). Органы овец подвергались визуальному осмотру. Печень и легкие, в которых были обнаружены эхинококковые цисты, подвергались полному гельминтологическому вскрытию.

Органы исследовались по методу полного гельминтологического вскрытия по К. И. Скрябину. [12]

На основании статистических данных анализ заболеваемости людей проводился «Научно-практического центра санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга» РГП на ПХВ «НЦОЗ» МЗ РК за 2020 г. и 6 месяцев 2021 г.

Результаты и обсуждение

Зараженность овец в южных и западных областях Казахстана

Результаты исследований по зараженности овец в разных областях представлены в Таблице 1.

В Алматинской области всего было осмотрено 1198 туш овец, из них зараженных эхи-

нококкозом выявлено 150 (12,52%). Печеночная локализация цист выявлена у 127 животных (84,66%), легочная у 15 (10%), печеночная и легочная одновременно – у 8 (5,33%). Распределение цист по органам показано в таблице 2. Интенсивность инвазии составила от 1 до 12 цист на одно животное.

В Жамбылской области исследованию подверглась 1901 туша овец, из них зараженных эхинококкозом 18. Экстенсивность инвазии составила 0,94%. Интенсивность инвазии от 2 до 4 цист у одного животного.

В Туркестанской области исследовано 704 туши овец, эхинококковые цисты обнаружены у

3. Экстенсивность инвазии составила 0,43%. Интенсивность инвазии 3-6.

В Актюбинской области исследованию подверглась 298 туш овец, из них зараженных эхинококкозом 5, что составляет 1,67%. Интенсивность инвазии от 2 до 6 цист у одного животного.

В Атырауской области из 95 обследованных выявлено только 2 зараженные туши овец – 2,1%. Интенсивность инвазии от 3 до 6 цист.

В Западно-Казахстанской области общее число исследованных туш овец составило 850. Зараженных цистами эхинококкоза выявлено 142, что составляет 16,7%. Интенсивность инвазии 3-8 цист на одно животное.

Таблица 1 – Показатели зараженности мелкого рогатого скота (овец) эхинококкозом в южных и западных регионах Республики Казахстан в 2021г.

Область	Исследовано	Заражено	ЭИ, %	ИИ	Место локализации
Алматинская	1198	150	12,52	1-12	печень, легкие
Жамбылская	1901	18	0,94	2-4	печень, легкие
Туркестанская	704	3	0,43	3-6	печень, легкие
Актюбинская	298	5	1,67	2-6	печень, легкие
Атырауская	95	2	2,10	3-6	печень
Западно-Казахстанская	850	142	16,70	3-8	печень, легкие

В подавляющем большинстве случаев цисты у зараженных овец имели печеночную локализацию, реже встречалась легочная локализация.

Эхинококковых цист в других органах выявлено не было. Сравнительные данные по частоте локализаций представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Локализация эхинококковых цист у зараженных овец в Алматинской области

Локализация	Количество больных овец	%
Печень	127	84,66
Легкие	15	10
Ко-инфекция (печень + легкие)	8	5,33

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значительном снижении заболеваемости овец ларвальным эхинококкозом в Жамбылской, Туркестанской, Актюбинской и Атырауской областях. Однако показатели зараженности в Алматинской и Западно-Казахстанской области остаются на высоком уровне, что указывает на активную циркуляцию возбудителя в цикле «овца-собака» и

низкую эффективность предпринимаемых мер по борьбе распространением эхинококкоза. Также следует учитывать, что широкая вариативность показателей зараженности в разных регионах может быть связана с особенностями забоя овец, поскольку при забое молодых овец, заразившихся незадолго перед забоем, патологоанатомические признаки заболевания могут отсутствовать.

Заболеемость людей в Республике Казахстан

По данным статистики «Научно-практического центра санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга» РГП на ПХВ за 2020 и первое полугодие 2021 гг. по Республике Казахстан установлен прирост заболеваемости эхинококкозом среди людей в разных возрастных категориях.

Из таблицы 3 видно, что в 2020 г. в республике было выявлено 272 случая ларвального эхинококкоза, а за 6 мес. 2021 г. – 285 новых случаев. Наибольшее число больных за 2020-

2021. гг. установлено в Туркестанской области – 191 случай, Алматинской области – 98 случаев, г.Шымкент – 56 случаев и в Жамбылской области – 49 случаев.

Наиболее благополучными по эхинококкозу являются г.Нур-Султан – 0 случаев, Павлодарская – 2 случая, Акмолинская, Северо-Казахстанская – по 7 случаев и Костанайская область – 8 случаев за 2020-2021 гг.

Максимальный прирост заболевших наблюдается в Западно-Казахстанской, Туркестанской и Восточно-Казахстанской областях.

Таблица 3 – Заболеваемость людей эхинококкозом в Республике Казахстан за 2020 год и первое полугодие 2021 гг.

Регион	2020 г.	2021 г.	2021 к 2020 (+,-)	Всего за 2020-2021гг.
Республика Казахстан	272	285	+13	557
Акмолинская	4	3	-1	7
Актюбинская	8	10	+2	18
Алматинская	51	38	-13	89
Атырауская	6	5	-1	11
Восточно-Казахстанская	6	10	+4	16
Жамбылская	23	26	+3	49
Западно-Казахстанская	6	16	+10	22
Карагандинская	8	9	+1	17
Костанайская	3	5	+2	8
Кызылординская	10	12	+2	22
Мангистауская	16	13	-3	29
Павлодарская	1	1	0	2
Северо-Казахстанская	2	5	+3	7
Туркестанская	93	98	+5	191
г.Нур-Султан	0	0	0	0
г.Алматы	7	6	-1	13
г.Шымкент	28	28	0	56

Таблица 4 – Заболеваемость детей эхинококкозом в Республике Казахстан за 2020-2021 гг.

Возраст детей	2020 г.	1 полугодие 2021 г.
0 -14 лет включительно	61	66
15 – 17 лет включительно	22	12

За указанный период увеличилось количество заболевших среди детей в возрасте от 0 до 14 лет – выявлено на 5 случаев больше. Однако в возрастной группе подростков (15-17 лет) за 6 месяцев 2021 г. выявлено на 10 случаев меньше, чем в 2020 г. (таблица 4).

Исходя из данных статистики «Научно-практического центра санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга» РГП на ПХВ за 2020 и первое полугодие 2021 гг. по Республике Казахстан в большинстве регионов отмечается рост числа больных эхинококкозом. Только за

первое полугодие 2021г. было зарегистрировано больше случаев, чем за весь 2020г. Эхинококкоз распространен в Казахстане повсеместно, но в регионах, где традиционно скотоводство более развито, отмечаются высокие показатели заболеваемости и людей и сельскохозяйственных животных. Система учета больных несовершенна, поскольку учитываются только хирургические случаи. Большинство случаев эхинококкоза остаются не диагностированными.

Заключение

Таким образом, обобщая полученные данные, на основании проведенных гельминтологических исследований на убойных пунктах в 6 наиболее эндемичных областях Казахстана в 2021г. можно сделать вывод о том, что показатели зараженности овец значительно варьируются. Анализируя статистические данные «Научно-практического центра санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга» РГП на ПХВ «НЦОЗ» МЗ РК по заболеваемости населения за 2020 г. и 6 месяцев 2021 г. по областям, отмечаем, что показатели заболеваемости людей эхинококкозом по республике растут и остаются высокими в южных и западных регионах страны.

Наиболее высокий уровень зараженности установлен в Западно-Казахстанской и Алматинской области. Средняя инвазированность овец в Алматинской области за 3 месяца исследований составила 12,5%. В 2020 г. в республике было выявлено 272 случая ларвального эхинококкоза, а за 6 мес. 2021 г. – 285 новых случаев. Наибольшее число больных за 2020-2021.

гг. установлено в Туркестанской области – 191 случай, что составляет 4,9 случаев на 100000 населения в 2021г.

В большинстве областей и в целом по республике зафиксирован прирост числа заболевших по сравнению с прошлым годом. В детской возрастной группе также наблюдается рост заболеваемости. Наиболее неблагополучными остаются южные регионы страны.

Следует отметить, существующая система учета больных эхинококкозом и статистические данные не вполне отражают реальное число людей, зараженных эхинококкозом, поскольку учитываются только хирургические случаи.

Полученные данные свидетельствуют о том, что существующие ныне меры контроля распространения эхинококкоза не дают желаемых результатов. Поскольку эхинококкоз – хроническое заболевание, которое в течение многих лет может протекать бессимптомно, считаем необходимым проведение скрининг-исследований населения из группы риска (сельские жители, люди, занимающиеся животноводством) в наиболее эндемичных регионах страны. Основными же мерами контроля распространения эхинококкоза, показавшими высокую эффективность в других странах, являются проведение регулярной дегельминтизации приотарных собак, контроль численности над беспризорными собаками, а также запрет на домашний забой скота. Внутренние органы забитых таким образом животным не проходят надлежащей ветеринарно-санитарной экспертизы и скармливаются домашним собакам, что приводит к распространению инвазии.

Литература

- 1 Budke, C. M., Deplazes, P., & Torgerson, P. R. (2006). Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerging infectious diseases*, 12(2), 296.
- 2 WHO. (2020). Information letter of WHO on echinococcosis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>
- 3 Romig T, Deplazes P, Jenkins D, Giraudoux P, Massolo A, Craig P S, Wassermann M, Takahashi K, de la Rue M, (2017). *Ecology and Life Cycle Patterns of Echinococcus Species*. Vol 95. Elsevier
- 4 Shaikenov, B. S., Torgerson, P. R., Usenbayev, A. E., Baitursynov, K. K., Rysmukhambetova, A. T., Abdybekova, A. M., & Karamendin, K. O. (2003). The changing epidemiology of echinococcosis in Kazakhstan due to transformation of farming practices. *Acta Tropica*, 85(2), 287-293.
- 5 Torgerson, P. R., Burtisurnov, K. K., Shaikenov, B. S., Rysmukhambetova, A. T., Abdybekova, A. M., & Ussenbayev, A. E. (2003). Modelling the transmission dynamics of *Echinococcus granulosus* in sheep and cattle in Kazakhstan. *Veterinary Parasitology*, 114(2), 143-153.
- 6 Кереев, Я. М. (2010). Эхинококкоз животных. Монография. РГКП Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана.–Орал.
- 7 Валиева Ж. М. и др. (2013). Эхинококкоз овец на Юго-Востоке Казахстана: зараженность, распределение цист по органам и патоморфология мышц. *ИЗДЕНИСТЕР, № 2 Исследования, нәтижелер 2013 результаты.* – С. 48.

- 8 Torgerson, P. R., Oglujahan, B., Muminov, A. E., Karaeva, R. R., Kuttubaev, O. T., Aminjanov, M., & Shaikenov, B. (2006). Present situation of cystic echinococcosis in Central Asia. *Parasitology International*, 55, S207-S212.
- 9 Mustapayeva, A., Manciuilli, T., Zholdybay, Z., Juskiewicz, K., Zhakenova, Z., Shapiyeva, Z., ... & Budke, C. M. (2020). Incidence Rates of Surgically Managed Cystic Echinococcosis in Kazakhstan, 2007–2016. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(1), 90-95.
- 10 Abdybekova, A., Sultanov, A., Karatayev, B., Zhumabayeva, A., Shapiyeva, Z., Yeshmuratov, T., ... & Torgerson, P. R. (2015). Epidemiology of echinococcosis in Kazakhstan: an update. *Journal of helminthology*, 89(6), 647-650.
- 11 Craig, P. S. Mc manus DP, Lightowlers MW, Chabalgoity JA, Garcia HH, Gavidia CM, et al. (2007). Prevention and control of cystic echinococcosis. *Lancet Infect Dis*, 7, 385-94.
- 12 Скрябин, К. И. (1928). Метод гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека. М.: Изд-во МГУ, 1, 45.
- 13 Deplazes P et al. (2017). Global distribution of alveolar and cystic echinococcosis. *Adv Parasitol* 95: 315–493.
- 14 Torgerson PR. (2013). The emergence of echinococcosis in central Asia. *Parasitology* 140: 1667–1673.
- 15 Zhang W, Zhang Z, Wu W, Shi B, Li J, Zhou X, Wen H, McManus DP. (2015). Epidemiology and control of echinococcosis in central Asia, with particular reference to the People’s Republic of China. *Acta Trop* 141: 235–243.
- 16 Agudelo Higuaita NI, Brunetti E, McCloskey C (2016). Cystic echinococcosis. *J Clin Microbiol* 54: 518–523.
- 17 Konyaev, S. V., Yanagida, T., Nakao, M., Ingovatova, G. M., Shoykhet, Y. N., Bondarev, A. Y., ... & Ito, A. (2013). Genetic diversity of *Echinococcus* spp. in Russia. *Parasitology*, 140(13), 1637-1647.
- 18 Shaikenov, B.S. (2006) Distribution and ecology of *Echinococcus multilocularis* in Central Asia. *Parasitology International* 55 (Suppl.), S213–S219.
- 19 Torgerson, P. R., Rosenheim, K., Tanner, I., Ziadinov, I., Grimm, F., Brunner, M., ... & Deplazes, P. (2009). Echinococcosis, toxocarosis and toxoplasmosis screening in a rural community in eastern Kazakhstan. *Tropical Medicine & International Health*, 14(3), 341-348.
- 20 Wen, H., Vuitton, L., Tuxun, T., Li, J., Vuitton, D. A., Zhang, W., & McManus, D. P. (2019). Echinococcosis: advances in the 21st century. *Clinical microbiology reviews*, 32(2), e00075-18.
- 21 Raimkylov KM, Kuttubaev OT, Toigombaeva VS (2015) Epidemiological analysis of the distribution of cystic and alveolar echinococcosis in Osh Oblast in the Kyrgyz Republic, 2000–2013. *J Helminthol* 89: 651–654.
- 22 Yanagida T, Mohammadzadeh T, Kamhawi S, Nakao M, Sadjjadi SM, Hijjawi N, et al. (2012) Genetic polymorphisms of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in the Middle East. *Parasitology International* 61: 599–603.
- 23 Alvarez Rojas CA, Romig T, Lightowlers MW (2014) *Echinococcus granulosus sensu lato* genotypes infecting humans—review of current knowledge. *International Journal for Parasitology* 44: 9–18.
- 24 Romig T, Ebi D, Wassermann M (2015) Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus sensu lato*. *Veterinary Parasitology* 213: 76–84.
- 25 He, W., Wang, L. Y., Yu, W. J., Zhang, G. J., Zhong, B., Liao, S., ... & Wang, Q. (2021). Prevalence and spatial distribution patterns of human echinococcosis at the township level in Sichuan Province, China. *Infectious Diseases of Poverty*, 10(1), 1-13.
- 26 Budke CM, Carabin H, Ndimubanzi PC, Nguyen H, Rainwater E, Dickey M, Bhattarai R, Zeziulin O, Qian MB. (2013). A systematic review of the literature on cystic echinococcosis frequency worldwide and its associated clinical manifestations. *Am J Trop Med Hyg* 88:1011–1027.

References

- 1 Abdybekova, A., Sultanov, A., Karatayev, B., Zhumabayeva, A., Shapiyeva, Z., Yeshmuratov, T., ... & Torgerson, P. R. (2015). Epidemiology of echinococcosis in Kazakhstan: an update. *Journal of helminthology*, 89(6), 647-650.
- 2 Alvarez Rojas CA, Romig T, Lightowlers MW (2014) *Echinococcus granulosus sensu lato* genotypes infecting humans—review of current knowledge. *International Journal for Parasitology* 44: 9–18.
- 3 Agudelo Higuaita NI, Brunetti E, McCloskey C (2016). Cystic echinococcosis. *J Clin Microbiol* 54: 518–523.
- 4 Budke CM, Carabin H, Ndimubanzi PC, Nguyen H, Rainwater E, Dickey M, Bhattarai R, Zeziulin O, Qian MB. (2013). A systematic review of the literature on cystic echinococcosis frequency worldwide and its associated clinical manifestations. *Am J Trop Med Hyg* 88:1011–1027.
- 5 Budke, C. M., Deplazes, P., & Torgerson, P. R. (2006). Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerging infectious diseases*, 12(2), 296.
- 6 Craig, P. S. Mc manus DP, Lightowlers MW, Chabalgoity JA, Garcia HH, Gavidia CM, et al. (2007). Prevention and control of cystic echinococcosis. *Lancet Infect Dis*, 7, 385-94.
- 7 Deplazes P et al. (2017). Global distribution of alveolar and cystic echinococcosis. *Adv Parasitol* 95: 315–493.
- 8 He, W., Wang, L. Y., Yu, W. J., Zhang, G. J., Zhong, B., Liao, S., ... & Wang, Q. (2021). Prevalence and spatial distribution patterns of human echinococcosis at the township level in Sichuan Province, China. *Infectious Diseases of Poverty*, 10(1), 1-13.
- 9 Kereyev, YA. M. (2010). *Ekhnokokkoz zhivotnykh. Monografiya [Echinococcosis of animals. Monograph]*. RGKP Zapadno-Kazakhstanskiy agrarno-tehnicheskiiy universitet imeni Zhangir khana.—Oral.
- 10 Konyaev, S. V., Yanagida, T., Nakao, M., Ingovatova, G. M., Shoykhet, Y. N., Bondarev, A. Y., ... & Ito, A. (2013). Genetic diversity of *Echinococcus* spp. in Russia. *Parasitology*, 140(13), 1637-1647.
- 11 Mustapayeva, A., Manciuilli, T., Zholdybay, Z., Juskiewicz, K., Zhakenova, Z., Shapiyeva, Z., ... & Budke, C. M. (2020). Incidence Rates of Surgically Managed Cystic Echinococcosis in Kazakhstan, 2007–2016. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(1), 90-95.

- 12 Raimkylov KM, Kuttubaev OT, Toigombaeva VS (2015) Epidemiological analysis of the distribution of cystic and alveolar echinococcosis in Osh Oblast in the Kyrgyz Republic, 2000–2013. *J Helminthol* 89: 651–654.
- 13 Romig T, Deplazes P, Jenkins D, Giraudoux P, Massolo A, Craig P S, Wassermann M, Takahashi K, de la Rue M, (2017). *Ecology and Life Cycle Patterns of Echinococcus Species*. Vol 95. Elsevier
- 14 Romig T, Ebi D, Wassermann M (2015) Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus sensu lato*. *Veterinary Parasitology* 213: 76–84.
- 15 Shaikenov, B.S. (2006) Distribution and ecology of *Echinococcus multilocularis* in Central Asia. *Parasitology International* 55 (Suppl.), S213–S219.
- 16 Shaikenov, B. S., Torgerson, P. R., Usenbayev, A. E., Baitursynov, K. K., Rysmukhambetova, A. T., Abdybekova, A. M., & Karamendin, K. O. (2003). The changing epidemiology of echinococcosis in Kazakhstan due to transformation of farming practices. *Acta Tropica*, 85(2), 287-293.
- 17 Skryabin, K. I. (1928). *Metod gel'mintologicheskikh vskrytiy pozvonochnykh, vklyuchaya cheloveka*. M.: Izd-vo MGU, 1, 45.
- 18 Torgerson P. R. et al. Present situation of cystic echinococcosis in Central Asia // *Parasitology International*. – 2006. – T.55. – C. S207-S212.
- 19 Torgerson PR. (2013). The emergence of echinococcosis in central Asia. *Parasitology* 140: 1667–1673.
- 20 Zhang W, Zhang Z, Wu W, Shi B, Li J, Zhou X, Wen H, McManus DP. (2015). Epidemiology and control of echinococcosis in central Asia, with particular reference to the People's Republic of China. *Acta Trop* 141: 235–243.
- 21 Torgerson, P. R., Rosenheim, K., Tanner, I., Ziadinov, I., Grimm, F., Brunner, M., ... & Deplazes, P. (2009). Echinococcosis, toxocarosis and toxoplasmosis screening in a rural community in eastern Kazakhstan. *Tropical Medicine & International Health*, 14(3), 341-348.
- 22 Torgerson, P. R., Burtisurnov, K. K., Shaikenov, B. S., Rysmukhambetova, A. T., Abdybekova, A. M., & Ussenbayev, A. E. (2003). Modelling the transmission dynamics of *Echinococcus granulosus* in sheep and cattle in Kazakhstan. *Veterinary Parasitology*, 114(2), 143-153.
- 23 Valiyeva ZH. M. i dr. (2013) *Ekhinokokkoz ovets na Yugo-Vostoke Kazakhstana: zarazhennost', raspredeleniye tsist po organam i patomorfologiya myshts [Echinococcosis of sheep in the South-East of Kazakhstan: infection, distribution of cysts by organs and pathomorphology of muscles]*. *ÍZDENÍSTER, № 2 Issledovaniya, nətizheler 2013 rezul'taty*. – P. 48.
- 24 Wen, H., Vuitton, L., Tuxun, T., Li, J., Vuitton, D. A., Zhang, W., & McManus, D. P. (2019). Echinococcosis: advances in the 21st century. *Clinical microbiology reviews*, 32(2), e00075-18.
- 25 WHO. (2020). Information letter of WHO on echinococcosis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>
- 26 Yanagida T, Mohammadzadeh T, Kamhawi S, Nakao M, Sadjjadi SM, Hijjawi N, et al. (2012) Genetic polymorphisms of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in the Middle East. *Parasitology International* 61: 599–603.

4-бөлім
**МОЛЕКУЛАЛЫҚ
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА**

Section 4
**MOLECULAR
BIOLOGY AND GENETICS**

Раздел 4
**МОЛЕКУЛЯРНАЯ
БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА**

А.В. Жигайлов^{1*}, Р.Ж. Акбергенов²

Н.С. Полимбетова¹

¹РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина», Казахстан, г. Алматы

²Институт медицинской микробиологии, Швейцария, г. Цюрих

*e-mail: andrzhig@gmail.com

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ В РЕГУЛЯЦИИ ДИСКРЕТНОЙ ФРАГМЕНТАЦИИ 18S РРНК РАСТЕНИЙ

В стрессовых условиях клетки должны быстро сокращать уровень общей трансляции мРНК, поддерживая при этом синтез некоторых специальных белков, которые помогают сопротивляться стрессу. У животных и дрожжей торможение скорости синтеза белка в основном связано с модификацией активности факторов инициации и элонгации трансляции. В клетках растений многие из этих регуляторных механизмов не реализуются. Мы предполагаем, что у растений функционирует альтернативный механизм подавления трансляции мРНК, связанный с сайт-специфической фрагментацией молекул 18S рРНК в составе 40S рибосомных субчастиц. Понимание молекулярных механизмов ответа растений на стрессовые воздействия является основой для повышения эффективности селекционного процесса с целью получения устойчивых к стрессам сортов экономически важных видов растений. Нами было обнаружено, что во время теплового шока в клетках различных видов растений накапливаются дискретные молекулы РНК, представляющие собой 5'-концевые фрагменты 18S рРНК, остающиеся связанными в составе рибосомных субчастиц. В настоящей работе методом гибридизации нуклеиновых кислот проведено исследование РНК-интерференции как возможного механизма, опосредующего явление дискретной фрагментации 18S рРНК растений в ответ на тепловой шок. Молекулы микроРНК, комплементарные целевым участкам 18S рРНК, по которым осуществлялись ее разрывы с образованием стресс-индуцированных 5'-концевых РНК-фрагментов, обнаружены не были. Выявленные в ходе работы малые 5'-концевые фрагменты 18S рРНК предлагаются использовать как новый тип биомаркеров стресса в клетках растений. Отработанная методика гибридизации нуклеиновых кислот с использованием DIG-меченого зонда, комплементарного высоко консервативному 5'-концевому участку 1-35 18S рРНК растений может быть использована для эффективного детектирования этих РНК-маркеров стресса.

Ключевые слова: дискретная фрагментация 18S рРНК, тепловой шок, цитоплазматические РНК, трансляция мРНК, 40S рибосомные субчастицы.

A.V. Zhigailov^{1*}, R.Zh. Akbergenov², N. S. Polimbetova¹

¹RSE "M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry", Kazakhstan, Almaty

²Institute for Medical Microbiology, Switzerland, Zurich

*e-mail: andrzhig@gmail.com

Study of the role of RNA-interference in the regulation of discrete fragmentation of 18S rRNA in plants

Under stressful conditions, cells must rapidly reduce the level of total mRNA translation, while maintaining the synthesis of some special proteins that help resist stress. In animals and yeast, the inhibition of protein synthesis is mainly associated with the modification of the translation initiation and elongation factors. In plant cells, many of these regulatory mechanisms are not realized. We hypothesize that plants have an alternative mechanism for suppressing mRNA translation associated with site-specific fragmentation of 18S rRNA molecules within 40S ribosomal subunits. Understanding the molecular mechanisms of plant response to stress is the basis for increasing the efficiency of the breeding process in order to develop stress-resistant varieties of economically important plant species. We found that during a heat shock, discrete RNA molecules accumulate in the cells of various plant species, which are 5'-terminal fragments of 18S rRNA that remain bound in the composition of ribosomal subunits. In this work, the method of nucleic acid hybridization was used to study RNA-interference as a possible mechanism mediating the phenomenon of discrete fragmentation of 18S rRNA in plants in response to heat shock.

MicroRNA molecules complementary to the target regions of 18S rRNA, through which its rupture was carried out with the formation of stress-induced 5'-terminal RNA fragments, were not found. The small 5'-terminal fragments of 18S rRNA revealed during the work are proposed to be used as a new type of stress biomarkers in plant cells. The optimized nucleic acid hybridization technique using a DIG-labeled probe complementary to the highly conserved 1-35 5'-end region of plant 18S rRNA can be used to efficiently detect these stress RNA markers.

Key words: discrete fragmentation of 18S rRNA, heat shock, cytoplasmic RNA, translation of mRNA, 40S ribosomal subunits.

А.В. Жигайлов^{1*}, Р.Ж. Акбергенов², Н.С. Полимбетова¹

¹РМК «М.А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология мен биохимия ғылыми-зерттеу институты», Қазақстан, Алматы қ.

²Медициналық микробиология институты, Швейцария, Цюрих қ.

*e-mail: andrzhig@gmail.com

Өсімдіктердегі 18S рРНҚ-ның дискретті фрагментациясын реттеудегі РНҚ-интерференциясының рөлін зерттеу

Стрессік жағдайларда жасушалар стресске қарсы тұруға көмектесетін кейбір арнайы белоктардың синтезін сақтай отырып, жалпы мРНҚ трансляциясының деңгейін тез төмендетуі керек. Жануарлар мен ашытқыларда белок синтезінің жылдамдығының тежелуі негізінен трансляцияны бастау және ұзарту факторларының белсенділігінің модификациясымен байланысты. Өсімдік жасушаларында бұл реттеу механизмдерінің көпшілігі жүзеге асырылмайды. Біз өсімдіктерде 40S рибосомалық суббөлшектердің ішінде 18S рРНҚ молекулаларының сайтқа дискретті фрагментациясымен байланысты мРНҚ трансляциясын басу үшін балама механизмі бар деп болжаймыз. Өсімдіктердің стресске реакциясының молекулярлық механизмдерін түсіну шаруашылық маңызы бар өсімдік түрлерінің күйзеліске төзімді сорттарын алу мақсатында селекциялық процестің тиімділігін арттырудың негізі болып табылады. Жылу соққысы кезінде әртүрлі өсімдік түрлерінің жасушаларында дискретті РНҚ молекулалары жинақталатынын анықтадық, олар рибосомалық суббірліктерде байланысқан 18S рРНҚ-ның 5'-терминалды фрагменттері болып табылады. Бұл жұмыста РНҚ-интерференциясын зерттеу үшін нуклеин қышқылының гибридизациясы әдісі өсімдіктердегі жылу соққысына жауап ретінде 18S рРНҚ-ның дискретті фрагментациясы құбылысының делдалдық мүмкін болатын механизмі ретінде пайдаланылды. 18S рРНҚ мақсатты аймақтарына комплементарлы микроРНҚ молекулалары табылмады, олар арқылы оның үзілуі стресс-индукцияланған 5'-терминалды РНҚ фрагменттерінің түзілуімен жүзеге асырылды. Жұмыс барысында анықталған 18S рРНҚ-ның шағын 5'-терминалды фрагменттерін өсімдік жасушаларында стресс биомаркерлерінің жаңа түрі ретінде пайдалану ұсынылады. Өсімдік 18S рРНҚ-ның жоғары сақталған 5'-аймағына 1-35 тізбекте DIG таңбаланған зондты қолданатын жетілген нуклеин қышқылын гибридтеу әдісі осы стресс РНҚ маркерлерін тиімді анықтау үшін пайдаланылуы мүмкін.

Түйін сөздер: 18S рРНҚ-ның дискретті фрагментациясы, жылу соққысы, цитоплазмалық РНҚ, мРНҚ трансляциясы, 40S рибосомалық суббірліктер.

Сокращения и обозначения

ПАА-гель – полиакриламидный гель; Трис-Трис(гидроксиметил)аминометан; eEF2 – эукариотический фактор элонгации трансляции 2; eIF2 – эукариотический фактор инициации трансляции 2; RIPs – белки, инактивирующие рибосомы; 4E-BPs – белки, связывающие эукариотический фактор инициации трансляции 4E.

1. Введение

Биосинтез белка – достаточно энергозатратный процесс, и в стрессовых условиях процесс трансляции большинства клеточных мРНҚ ингибируется чтобы сэкономить ресурсы и обе-

спечить преимущественный синтез стрессовых белков. Было описано несколько молекулярных механизмов ингибирования синтеза белка, реализующихся в клетках млекопитающих и дрожжей.

Один из таких механизмов заключается в фосфорилировании эукариотического фактора элонгации трансляции 2 (eEF2), которое приводит к его неспособности связывания с рибосомами. Инактивация eEF2 ведет к тотальному подавлению биосинтеза белка в клетках животных и дрожжей. Фосфорилирование eEF2 осуществляется высокоспецифичной протеинкиназой eEF2 (eEF2K), активирующейся в условиях резкого снижения концентрации АТФ в цитозоле клеток [1]. Но у растений не обнаруживается эндоген-

ной активности eEF2K ни в обычных условиях [2], ни при стрессах [3].

Второй известный механизм подавления уровня трансляции мРНК запускается в условиях аминокислотного голодания и опосредуется eIF4E-связывающими белками (4E-BPs), которые предотвращают связывание eIF4E с m7G-кэп-структурой мРНК, а значит, и формирование 48S-преинициаторного комплекса [4]. Но таких ингибиторных белков не было найдено в клетках растений [5]; в растительных геномах даже не было найдено ортологов генов 4E-BPs [6].

Еще один важный механизм подавления биосинтеза белка эукариот заключается в фосфорилировании α -субъединицы фактора eIF2 специфическими протеин-киназами, что в клетках млекопитающих и дрожжей приводит к блокированию GTP-обменного белка eIF2B и резкому ингибированию стадии инициации трансляции мРНК [7]. Однако, рециркуляция тройственного комплекса в клетках растений может осуществляться без участия eIF2B [8], а фосфорилирование eIF2 α в растительных системах *in vitro* не приводит к сильному ингибированию синтеза белка [9]. Кроме того, из четырех протеинкиназ (PKR, HCR, PERK, GCN2), фосфорилирующих α -субъединицу eIF2 в клетках млекопитающих, у растений обнаружены активность и ген только одной рGCN2-киназы, а само фосфорилирование у eIF2 α растений не является универсальным ответом на все виды стрессов [10].

Таким образом, в клетках растений хорошо описанные для млекопитающих и дрожжей механизмы подавления биосинтеза белка за счет модификации трансляционных факторов либо используются в ограниченных пределах, либо не реализуются вовсе. Мы считаем, что у растений может функционировать другой механизм торможения синтеза белка, запускающийся при некоторых абиотических и биотических стрессах, и что он связан с расщеплением молекулы 18S рРНК в составе 40S рибосомных субчастиц по определенным сайтам.

Ранее нами на нескольких растительных объектах был описан процесс расщепления молекулы 18S рРНК, приводящий к образованию 5'-концевых фрагментов размером 132-134 нуклеотидов [11] и 54-57 нуклеотидов [12], а также 3'-концевого фрагмента размером около 100 нуклеотидов [13]. Наши данные вполне сочетаются с данными полно-транскриптомного анализа, показавшем, что разрывы в 28S-, 18S-, и

5,8S- рРНК происходят не рандомизированно, а дискретно, то есть, каких-то фрагментов рибосомных РНК в клетке выявляется значительно больше, чем других фрагментов [14].

Процесс разрезания РНК широко используются клетками во время проэссинга рибосомных РНК из их предшественника в ходе биогенеза рибосом [15]. Кроме того, у про- и эукариотических организмов реализуется механизм подавления биосинтеза белка за счет расщепления молекулы 28S рРНК из большой (60S) рибосомной субчастицы по альфа-сарциновой петле с отщеплением 3'-концевого РНК-фрагмента Эндо ("Endo fragment") [16]. Таким образом действуют токсины растений (рицин, абрин и модещин), грибов (α -сарцин) и бактерий (Шига-токсин) [17]. Возможно, аналогичные эндонуклеазы и опосредующие апуринизацию гликозилазы (как в случае белков, инактивирующих рибосомы, RIPs), но нацеленные не на 28S рРНК, а на 18S рРНК в составе малых (40S) рибосомных субчастиц, активируются в клетках растений во время стресса и таким образом приводят к временному или стойкому подавлению трансляции мРНК.

Одним из возможных механизмов дискретной фрагментации рРНК в клетках эукариот в ответ на стрессы является процесс РНК-интерференции: либо за счёт выщепления из шпильчатых структур рРНК микроРНК, либо с вовлечением экзогенных микроРНК. Так, недавно было показано, что рибосомные РНК в клетках животных могут выступать в качестве предшественников неканонических микроРНК [18, 19], которые выщепляются из состава 28S рРНК, 18S рРНК и 5,8S рРНК, а также из спейсерных рибосомных участков ITS1 и ITS2 при своем созревании. Важно, что выщепление таких микроРНК в клетках животных наблюдается в основном в стрессовых условиях, а в отсутствии стресса оставшиеся от выщепления малые фрагменты рибосомных РНК достаточно быстро элиминируются клеточными экзонуклеазами [19]. Аналогичные механизмы разрезания молекул 18S рРНК могут осуществляться и в клетках растений. В настоящей работе исследуется возможный механизм сайт-направленного расщепления 18S рРНК растений с участием гипотетических микроРНК, нацеленных на участки, по которым происходят разрывы этой молекулы в ответ на стрессовые воздействия среды.

2. Материалы и методы исследования

2.1. Гипотеза

Во время теплового шока в клетках растений синтезируются микроРНК, комплементарные участкам 41-75 и 116-150 18S рРНК.

2.2. Материалы

В работе использовались реагенты фирм “Sigma”, “Roche”, “Thermo Fisher Sci.”, “Amersham”, “Ambion” и “Bio-Rad”. Олигодезоксирибонуклеотиды (олигоДНК) «5’18S» (5’-acaagcatatgactactggcaggatcaaccaggta), «si-5’-75nt» (5’-agattaagccatgcatgtgcaagtatgaaccaatt), «si-5’-135nt» (5’-gtttgtttgatgtgacgtgctactcggataaccgt) и «miR173» (5’-tttcgcttacacagagaatca) были синтезированы *de novo* в компании “Sigma”. Для радиоактивного мечения олигоДНК использовали [γ - 32 P]АТФ (185 ТБк/ммоль) фирмы “Perkin Elmer”. В качестве объектов исследования использовали зародыши и ростки пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Казахстанская 10, побеги *Arabidopsis thaliana* экотипа Columbia, побеги *Nicotiana benthamiana* и *Solanum lycopersicum*, выращенные в световой комнате.

2.3. Методы исследования

Выравнивание нуклеотидных последовательностей 18S рРНК, взятых из базы данных NCBI, проводили в программе MEGA-X.

DIG-мечение олигомера «5’18S», комплементарного участку 1-35 18S рРНК *T. aestivum* L. (PDB: 3J5Z_d) осуществлялось с использованием DIG Oligonucleotide 3’-End Labeling Kit (Roche) по методике производителя.

Для получения радиоактивно меченых зондов использовали олигоДНК: «si-5’-75nt», «si-5’-135nt» и «miR173». Эти олигоДНК были фосфорилированы по 5’-концу Т4-полинуклеотидкиназой (Thermo Fisher Sci.) в присутствии [γ - 32 P]АТФ по методике производителя.

Для имитации теплового шока четырехдневные проростки пшеницы, пророщенные при 26°C, были помещены на 8 часов при температуре 37°C. Контрольные проростки в течение этих же восьми часов росли при 26°C.

Тотальные препараты РНК выделяли из 0,1 г сырой массы листовых дисков с использованием Tri-реагента (Sigma) по методике производителя.

Электрофорез РНК проводили в 8% полиакриламидном (ПАА) геле в присутствии 8М мочевины. Гели окрашивали в растворе, содержащем 0,2 мг/мл бромистого этидия

(Sigma) и анализировали в проходящем УФ-свете.

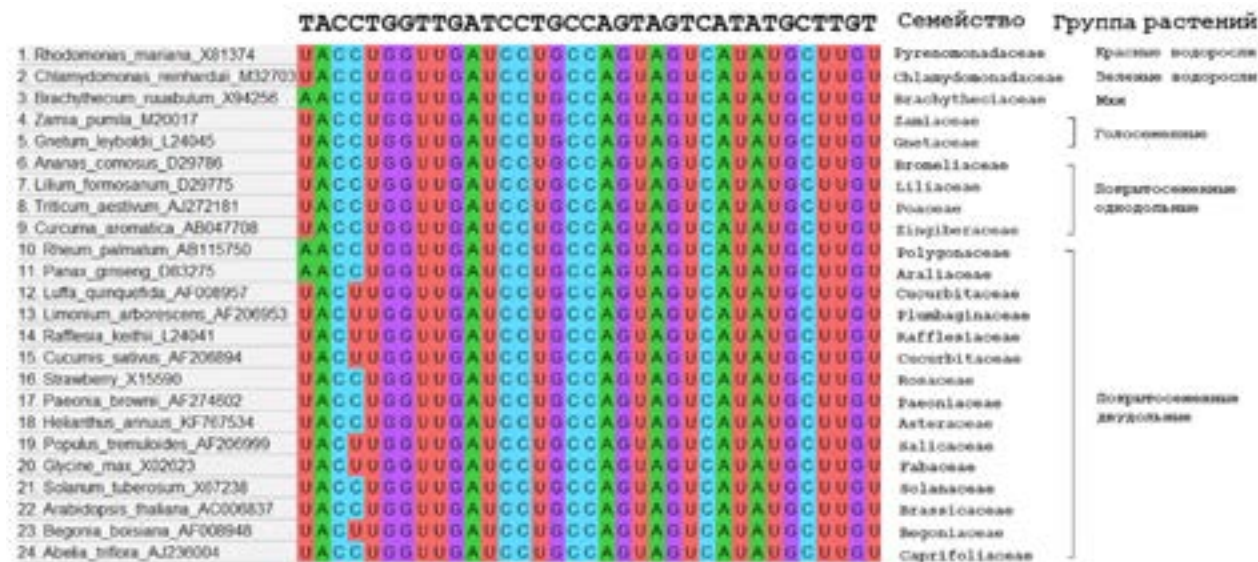
Нозерн-блоттинг. В случае использования DIG-меченой пробы, перенос на нейлоновую мембрану, уравновешенную в 0,1х Трис-боратном буфере, проводили на приборе для полусухого блоттинга (Sci-Plas) при силе тока 250 мА в течение 30 мин. После переноса мембрану сушили и обрабатывали в течение 2 мин УФ-светом 10 мДж/см² в кросслинкере (UVP). Гибридизацию с DIG-мечеными пробами и последующую детекцию полос с использованием хемилюминисцентного агента проводили с использованием набора DIG Luminescent Detection Kit for Nucleic Acids (Roche) по методике производителя. Температура гибридизации составляла 50°C. Для детекции связавшихся DIG-меченых зондов использовали конъюгаты антител Anti-Digoxigenin-AP Fab fragments (Roche). Проявку блотов осуществляли с использованием коммерческого субстрата для щелочной фосфатазы CSPD (Roche). В случае использования [32 P]-меченых зондов, РНК переносили на мембраны Hybond-N+ (Amersham) методом влажного электроблоттинга при 10 В в 0,1х Трис-боратном буфере в течение ночи. Гибридизацию в этом случае проводили при 35°C при использовании гибридизационного буфера UltraHyb-oligo hybridization buffer (Ambion) в течение ночи. Отмывку мембран осуществляли в 6 X SSC, 0,1% (в/о) SDS, при 35°C по 30 мин. Авторадиографию отмытых мембран проводили на фосфоримиджере (Bio-Rad).

3. Результаты исследования и их обсуждение

Для исследования процесса фрагментации рРНК малой рибосомной субчастицы в норме и при тепловом шоке был необходим зонд, комплементарный достаточно консервативному участку 18S рРНК растений, чтобы его можно было использовать на различных растительных объектах. Для проверки степени консервативности 5’-концевого участка 18S рРНК растений было проведено выравнивание в программе MEGA-X нуклеотидных последовательностей 18S рРНК видов растений, относящихся к различным таксономическим группам. Результаты анализа представлены на рисунке 1. Как видно из данных, представленных на этом рисунке, лишь в позициях «1» и «4» наблюдаются полиморфизмы, остальные позиции нуклеотидов являются высоко консервативными у растений.

Таким образом, исходя из консенсусной последовательности, полученной в ходе проведенного компьютерного анализа, был синтезирован

35-нуклеотидный олигонуклеотид «5'18S», комплементарный 5'-концевому участку 18S рРНК растений.



Сверху представлена консенсусная нуклеотидная последовательность, соответствующая олигонуклеотиду «5'18S».

В колонке слева представлены виды растений с указанием номеров GenBank.

Рисунок 1 – Выравнивание нуклеотидных последовательностей 18S рРНК растений в программе MEGA-X для разработки зонда с целью детекции ее 5'-концевых фрагментов

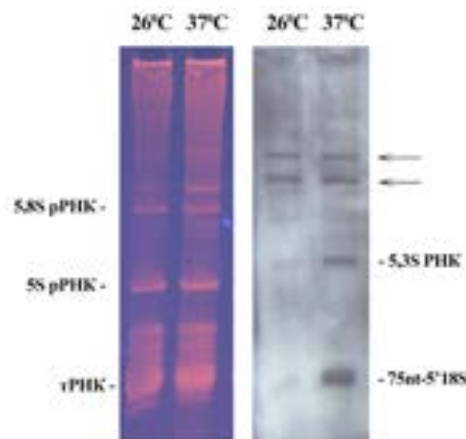
Для оценки степени дискретной фрагментации 18S рРНК в ростках пшеницы в норме и при тепловом шоке был проведен нозерн-блот анализ с использованием зонда «5'18S-DIG» после электрофоретического разделения в ПАА-геле тотальных препаратов РНК, выделенных из ростков пшеницы, подвергшихся и не подвергшихся тепловому шоку. Результаты анализа представлены на рисунке 2. Как видно из данных, представленных на этом рисунке, два малых 5'-концевых фрагмента 18S рРНК (5,3S РНК, размером около 134 нуклеотидов и 75nt-5'18S, размером около 75 нуклеотидов), содержание которых существенно повышалось при повышенной для растений температуре (37°C). Следует отметить, что фосфорилирование eIF2α не наблюдается при тепловом шоке [3, 9], в то время как уровень трансляции большинства мРНК при тепловом шоке сильно снижается [20]. Таким образом, дискретная фрагментация 18S рРНК с образованием двух малых 5'-концевых фрагментов этой молекулы наблюдается во время теплового шока, и нарушение целостности рРНК малых рибосомных

субчастиц, происходящее вследствие такой фрагментации, может являться причиной снижения уровня трансляции мРНК в растительных клетках.

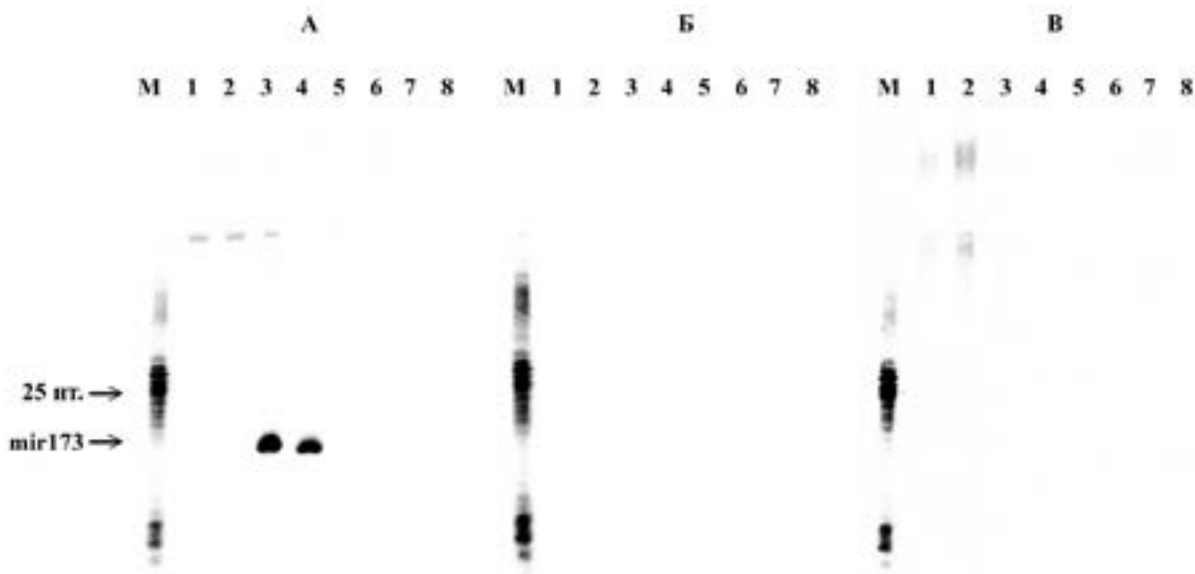
Следует отметить, что на блоте, представленном на рисунке 2, в дополнение к 5,3S РНК и 75nt-5'18S можно видеть еще фрагменты большего размера (более 200 нуклеотидов), содержание которых в клетках ростков пшеницы не повышалось в ответ на тепловой шок (отмечены стрелкой на рисунке 2).

Одним из возможных молекулярных механизмов появления в клетках растений малых фрагментов 18S рРНК могла быть РНК-интерференция (вернее, разрезание рРНК комплексом RISK, ассоциированным со специфическими микроРНК или миРНК). У растений этот механизм расщепления РНК широко вовлечен не только в процесс морфологического развития и созревания, но также и в активацию защитных механизмов во время самых различных стрессов. Чтобы проверить, появляются ли в клетках растений при тепловом шоке специфические гипотетические микроРНК, нацелен-

ные на сайты разрезания молекулы 18S рРНК, которые могли приводить к образованию фрагментов ~ 134 нт. (5,3S РНК) и ~ 55 нт. (75nt-5'18S), были сконструированы соответствующие радиоактивно меченые зонды. ОлигоДНК «si-5'-75nt» соответствовал по нуклеотидной последовательности участку 41-75 18S рРНК *T. aestivum* L., а олигоДНК «si-5'-135nt» – участку 116-150 18S рРНК *T. aestivum* L. В качестве положительного контроля был использован олигоДНК «miR173», комплементарный микроРНК ath-MIR173 *Arabidopsis thaliana* (GenBank: LM608299), которая присутствует на постоянной основе в побегах арабидопсиса. Эти три радиоактивно меченых олигоДНК были использованы в качестве зондов при проведении нозерн-блот анализа тотальных препаратов РНК, выделенных из растений разных видов, подвергшихся и не подвергшихся воздействию теплового шока. Результаты анализа представлены на рисунке 3.



Слева представлен ПАА-гель, справа – блот того же геля. Стрелками указаны фрагменты более 200 нуклеотидов, содержание которых не коррелировало со стрессовыми условиями.
Рисунок 2 – Нозерн-блот анализ с использованием «5'18S-DIG» зонда для выявления малых 5'-концевых фрагментов 18S рРНК 8-дневных ростков пшеницы, подверженных (37°C) и не подверженных (26°C) тепловому шоку



А – «miR173»; Б – зонд «si-5'-135nt»; В – зонд «si-5'-75nt». М – РНК-маркер. На дорожках 1-8 анализировались тотальные РНК: 1 – из зародышей пшеницы, пророщенных при 26°C; 2 – из зародышей пшеницы, пророщенных при 37°C; 3 – из ростков *Arabidopsis thaliana*, не подверженных воздействию теплового шока; 4 – из ростков *A. thaliana* после 8 ч. инкубации при 37°C; 5 – из ростков *Nicotiana benthamiana*, не подверженных воздействию теплового шока; 6 – из ростков *N. benthamiana* после 8 ч. инкубации при 37°C; 7 – из ростков *Solanum lycopersicum*, не подверженных воздействию теплового шока; 8 – из ростков *S. lycopersicum* после 8 ч. инкубации при 37°C.

Рисунок 3 – Нозерн-блот анализ с использованием радиоактивно меченых зондов с целью выявления потенциальных микроРНК, способных вызвать разрывы молекулы 18S рРНК растений

Как видно из данных, представленных на этом рисунке, в тотальных препаратах РНК, выделенных из растений разных видов, в том числе, пшеницы, не было выявлено каких-то коротких (19-23 нт) РНК, комплементарных участкам 41-75 и 116-150 18S рРНК растений (рисунки 4Б и 4В), следовательно, должен быть какой-то иной механизм, приводящий к разрывам цепи рРНК малой рибосомной субчастицы в стрессовых условиях и накоплению малых 5'-концевых фрагментов 18S рРНК, 5,3S РНК и 75nt-5'18S. Эти механизмы дискретной фрагментации молекулы 18S рРНК в составе 40S рибосомных субчастиц еще предстоит выявить в дальнейшем. Технически метод выявления микроРНК сработал в эксперименте, поскольку на рисунке 3А в дорожках 3 и 4 была выявлена контрольная микроРНК *A. thaliana* ath-MIR173.

Несмотря на то, что целевые микроРНК к заданным участкам 18S рРНК растений выявить не удалось, полностью исключить роль RISK-комплексов в появлении в растительных клетках малых 5'-концевых фрагментов 5,3S РНК и 75nt-5'18S нельзя. Среди вторичных структур рРНК в составе рибосомных субчастиц достаточно много совершенных и несовершенных шпильчатых структур, которые могут сами по себе служить субстратом для RISK. Согласно данным биоинформатического анализа ридов после полно-РНКового секвенирования на NGS-платформах в пределах последовательностей 18S рРНК растений были предсказаны несколько мишеней для вырезания неканонических микроРНК (PHAS) [21]. Аналогичные участки, являющиеся потенциальными предшественниками неканонических микроРНК, были выявлены в пределах последовательностей 18S рРНК животных [18, 19].

В любом случае, мы считаем, что рибосомные РНК являются не столько предшественниками каких-то регуляторных микроРНК, сколько главной мишенью для регуляторных эффекторов, а разрезание молекул рибосомных РНК, главным образом, молекул 18S рРНК в составе 40S рибосомных субчастиц является основным способом ингибирования трансляции мРНК в клетках растений. В составе 40S рибосомных субчастиц 5'-концевой участок 18S рРНК вовлечен в формирование центрального псевдоузла, целостность которого крайне важна для нормального функционирования рибосомы [22]. Участок же 18S рРНК, по которому происходит предполагаемый разрыв с образованием

5,3S РНК, в составе 40S субчастицы, согласно предсказанной 3D-структуре эукариотических рибосом [22], контактирует с RPS6 – единственным рибосомным белком малой рибосомной субчастицы, подвергаемым регуляторному фосфорилированию [23], выполняющим важную структурообразующую функцию в эукариотических рибосомах [24] и клеточном гомеостазе [25].

Биосинтез белка – один из важнейших анаболических процессов, осуществляющихся в живых клетках, поэтому знание механизмов его регуляции имеет важное фундаментальное значение. В отличие от животных и дрожжей, для которых эти механизмы в целом хорошо описаны, конкретные молекулярные механизмы подавления трансляции мРНК в клетках растений во время тех или иных стрессовых воздействий, остаются мало изученными. При этом, знание таких механизмов может существенно облегчить процесс выведения новых сортов экономически значимых сельскохозяйственных культур, устойчивых к неблагоприятным факторам окружающей среды. По способности быстро реагировать на молекулярном уровне на такие стрессовые воздействия можно проводить отбор перспективных линий тех или иных видов растений. В этом отношении малые 5'-концевые фрагменты 18S рРНК вполне могут быть использованы в качестве биомаркеров стресса нового типа.

Заключение

При тепловом шоке в клетках растений не наблюдается фосфорилирование каких-либо трансляционных факторов или рибосомных белков, хотя обнаруживается стабильное и сильное подавление общего уровня биосинтеза белка. Нами было показано, что при повышенной температуре в клетках растений происходит накопление дискретных малых 5'-концевых фрагментов 18S рРНК. Эти малые рибосомные РНК, 5,3S-РНК (133-134 нт.) и 75nt-5'18S (54-56 нт.) могут служить РНК-маркерами теплового шока растений.

В ходе работы была разработана методика детектирования этих стрессовых РНК-маркеров методом гибридизации нуклеиновых кислот с использованием DIG-меченого зонда, комплементарного консенсусной 35-и 5'-концевой нуклеотидной последовательности 18S рРНК растений. Показано, что этот участок РНК малой рибосомной субчастицы

высоко консервативен у растений, поэтому зонд «5'18S-DIG» может быть использован для исследования процесса дискретной фрагментации 18S рРНК растений, относящихся к различным таксономическим группам. Разработанная в ходе работы методика на основе гибридизации нуклеиновых кислот с использованием DIG-меченого зонда к 5'-концевому участку 18S рРНК растений позволяет эффективно выявлять 5,3S-РНК и 75nt-5'18S – новые биомаркеры стресса растений.

Исследована роль РНК-интерференции как потенциального механизма дискретной фрагментации молекулы 18S рРНК в составе 40S рибосомных субчастиц с ее 5'-конца. МикроРНК, комплементарных целевым участкам, по которым мог осуществляться разрыв цепи 18S рРНК с образованием 5,3S-РНК и 75nt-5'18S, обнаружено не было. Следовательно, в клетках растений реализуется иной молекулярный механизм, приводящий к образованию этих малых фрагментов рибосомной РНК.

Благодарности

Авторы статьи выражают благодарность профессору Томасу Хону (Thomas Hohn) за сотрудничество в выполнении настоящей работы.

Конфликт интересов

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

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках программы ИРН OR11465447 «Разработка высокочувствительных молекулярно-биологических, биохимических тестов для детекции патогенов, влияющих на потребительские качества конечного продукта, на основе мониторинга возбудителей заболеваний сельскохозяйственных культур», финансируемой Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Литература

- 1 Ballard D.J., Peng H.-Y., Das J.K., Kumar A., Wang L., Ren Y., Xiong X., Ren X., Yang J.-M., Song J. Insights into the pathologic roles and regulation of eukaryotic elongation factor-2 kinase // *Front. Mol. Biosci.* – 2021. – Vol.8. – P. 839.
- 2 Smailov S.K., Lee A.V., Iskakov B.K. Study of phosphorylation of translation elongation factor 2 (EF-2) from wheat germ // *FEBS Lett.* – 1993. – Vol. 321. – P. 219–223.
- 3 Gallie D.R., Le H., Caldwell C., Browning K.S. Analysis of translation elongation factors from wheat during development and following heat shock // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* – 1998. – Vol.245. – P. 295-300.
- 4 Hernandez G., Altmann M., Lasko P. Origins and evolution of the mechanisms regulating translation initiation in eukaryotes // *Trends Biochem. Sci.* -2010. – Vol.35. – P. 63-73.
- 5 Echevarria-Zomeno S., Yanguz E., Fernandez-Bautista N., Castro-Sanz A.B., Ferrando A., Castellano M.M. Regulation of translation initiation under biotic and abiotic stresses // *Int. J. Molec. Sci.* – 2013. – Vol.14. – P. 4670-4683.
- 6 Browning K.S., Bailey-Serres J. Mechanism of cytoplasmic mRNA translation // *Arabidopsis Book.* – 2015. – Vol.13. – P. e0176.
- 7 Baird Th.D., Wek R.C. Eukaryotic initiation factor 2 phosphorylation and translational control in metabolism // *Adv. Nutr.* – 2012. – Vol. 3. – P. 307-321.
- 8 Shaikhin S.M., Smailov S.K., Lee A.V., Kozhanov E.V., Iskakov B.K. Interaction of wheat germ translation initiation factor 2 with GDP and GTP // *Biochimie.* – 1992. – Vol. 74. – P. 447–454.
- 9 Zhigailov A.V., Alexandrova A.M., Nizkorodova A.S., Stanbekova G.E., Kryldakov R.V., Karpova O.V., Polimbetova N.S., Halford N.G., Iskakov B.K. Evidence That Phosphorylation of the α -subunit of eIF2 does not essentially inhibit mRNA translation in wheat germ cell-free system // *Front. Plant Sci.* – 2020. – Vol. 11. – P. 936.
- 10 Immanuel T.M., Greenwood D.R., MacDiarmid R.M. A critical review of translation initiation factor eIF2 α kinases in plants – regulating protein synthesis during stress // *Funct. Plant Biol.* – 2012. – Vol. 39. – P. 717–735.
- 11 Zhanybekova S.S., Polimbetova N.S., Nakisbekov N.O., Iskakov B.K. Detection of a new small RNA, induced by heat shock, in wheat seed ribosomes // *Biochemistry (Moscow).* – 1996. – Vol. 61. – P. 862-870.
- 12 Жигайлов А.В., Полимбетова Н.С., Дошанов Х.И., Искаков Б.К. Обнаружение в клетках растений новой 55-нуклеотидной цитоплазматической РНК, соответствующей 5'-концевому фрагменту 18S РНК // *Вестник КазНУ, Серия биологическая и медицинская.* – 2014. – №1. – С. 191-194.
- 13 Жигайлов А.В., Полимбетова Н.С., Боранкул Р.И., Искаков Б.К. Исследование дискретной фрагментации 18S рРНК в составе 40S рибосомных субчастиц клеток растений // *Вестник КазНУ. Серия биологическая.* – 2013. – №2. – С. 81-87.
- 14 Chen Z., Sun Y., Yang X., Wu Z., Guo K., Niu X., Wang Q., Ruan J., Bu W., Gao S. Two featured series of rRNA-derived RNA fragments (rRFs) constitute a novel class of small RNAs // *PLoS ONE.* – 2017. – Vol. 12. – P. e0176458.

- 15 Henras A.K., Plisson-Chastang C., O'Donohue M.F., Chakraborty A., Gleizes P.E. An overview of pre-ribosomal RNA processing in eukaryotes // *Wiley Interdiscip Rev. RNA*. – 2015. – Vol. 6. – P. 225–242.
- 16 Endo Y. Mechanism of action of ricin and related toxins on the inactivation of eukaryotic ribosomes // *Cancer Res. Treat.* – 1988. – Vol.37. – P. 75–89.
- 17 Kast A., Klassen R., Meinhardt F. rRNA fragmentation induced by a yeast killer toxin // *Mol. Microbiol.* – 2014. – Vol. 91, No.3. – P. 606-617.
- 18 Castellano L., Stebbing J. Deep sequencing of small RNAs identifies canonical and non-canonical miRNA and endogenous siRNAs in mammalian somatic tissues // *Nucleic Acids Res.* – 2013. – Vol. 41. – P. 3339–3351.
- 19 Locati M.D., Pagano J.F.B., Abdullah F., Ensink W.A., van Olst M., van Leeuwen S., Nehrlich U., Spaink H.P., Rauwerda H., Jonker M.J., Dekker R.J., Breit T.M. Identifying small RNAs derived from maternal- and somatic-type rRNAs in zebrafish development // *Genome*. – 2018. – Vol.61. – P. 371-378.
- 20 Gallie D.R., Caldwell C., Pitto L. Heat shock disrupts cap and poly(A) tail function during translation and Increases mRNA stability of introduced reporter mRNA // *Plant physiol.* – 1995. – Vol.108. – P. 1703–1713.
- 21 Zheng Y., Wang S., Sunkar R. Genome-wide discovery and analysis of phased small interfering RNAs in Chinese sacred lotus // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – P. e113790.
- 22 Heuer A., Thomson E., Schmidt C., Berninghausen O., Becker T., Hurt E., Beckmann R. Cryo-EM structure of a late pre-40S ribosomal subunit from *Saccharomyces cerevisiae* // *Elife*. – 2017. – Vol. 6. – P. e30189.
- 23 Williams A.J., Werner-Fraczek J., Chang I-F., Bailey-Serres J. Regulated phosphorylation of 40S ribosomal protein S6 in root tips of maize // *Plant Physiol.* – 2003. – Vol.132. – P. 2086-2097.
- 24 Sergiev P.V., Lavrik I.N., Dokudovskaya S.S., Dontsova O.A., Bogdanov A.A. Structure of the decoding center of the ribosome // *Biochemistry (Moscow)*. – 1998. – Vol.63. – P. 963–976.
- 25 Obomighie I., Lapenas K., Murphy B.E., Bowles A., Bechtold U., Prischi F. The Role of Ribosomal Protein S6 Kinases in Plant Homeostasis // *Frontiers in molecular biosciences*. –2021. – Vol.8. – P. 636560.

References

- 1 Ballard D.J., Peng H.-Y., Das J.K., Kumar A., Wang L., Ren Y., Xiong X., Ren X., Yang J.-M., Song J. (2021) Insights into the pathologic roles and regulation of eukaryotic elongation factor-2 kinase. *Front. Mol. Biosci.*, vol. 8, pp. 839.
- 2 Baird Th.D., Wek R.C. (2012) Eukaryotic initiation factor 2 phosphorylation and translational control in metabolism. *Adv. Nutr.*, vol. 3, pp. 307-321.
- 3 Browning K.S., Bailey-Serres J. (2015) Mechanism of cytoplasmic mRNA translation. *Arabidopsis Book*, vol.13, pp. e0176.
- 4 Castellano L., Stebbing J. (2013) Deep sequencing of small RNAs identifies canonical and non-canonical miRNA and endogenous siRNAs in mammalian somatic tissues. *Nucleic Acids Res.*, vol. 41, pp. 3339–3351.
- 5 Chen Z., Sun Y., Yang X., Wu Z., Guo K., Niu X., Wang Q., Ruan J., Bu W., Gao S. (2017) Two featured series of rRNA-derived RNA fragments (rRFs) constitute a novel class of small RNAs. *PLoS ONE*, vol. 12, pp. e0176458.
- 6 Echevarria-Zomeno S., Yanguéz E., Fernandez-Bautista N., Castro-Sanz A.B., Ferrando A., Castellano M.M. (2013) Regulation of translation initiation under biotic and abiotic stresses. *Int. J. Molec. Sci.*, vol.14, pp. 4670-4683.
- 7 Endo Y. (1988) Mechanism of action of ricin and related toxins on the inactivation of eukaryotic ribosomes. *Cancer Res. Treat.*, vol.37, pp. 75–89.
- 8 Gallie D.R., Caldwell C., Pitto L. (1995) Heat shock disrupts cap and poly(A) tail function during translation and Increases mRNA stability of introduced reporter mRNA. *Plant physiol.*, vol.108, pp. 1703–1713.
- 9 Gallie D.R., Le H., Caldwell C., Browning K.S. (1998) Analysis of translation elongation factors from wheat during development and following heat shock. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, vol. 245, pp. 295-300.
- 10 Henras A.K., Plisson-Chastang C., O'Donohue M.F., Chakraborty A., Gleizes P.E. (2015) An overview of pre-ribosomal RNA processing in eukaryotes. *Wiley Interdiscip Rev. RNA.*, vol. 6, pp. 225–242.
- 11 Hernandez G., Altmann M., Lasko P. (2010) Origins and evolution of the mechanisms regulating translation initiation in eukaryotes. *Trends Biochem. Sci.*, vol.35, pp. 63-73.
- 12 Heuer A, Thomson E, Schmidt C, Berninghausen O, Becker T, Hurt E, Beckmann R. (2017) Cryo-EM structure of a late pre-40S ribosomal subunit from *Saccharomyces cerevisiae*. *Elife*, vol. 6, pp. e30189.
- 13 Immanuel T.M., Greenwood D.R., MacDiarmid R.M. (2012) A critical review of translation initiation factor eIF2 α kinases in plants – regulating protein synthesis during stress. *Funct. Plant Biol.*, vol. 39, pp. 717–735.
- 14 Kast A., Klassen R., Meinhardt F. (2014) rRNA fragmentation induced by a yeast killer toxin. *Mol. Microbiol.*, vol. 91, pp. 606-617.
- 15 Locati M.D., Pagano J.F.B., Abdullah F., Ensink W.A., van Olst M., van Leeuwen S., Nehrlich U., Spaink H.P., Rauwerda H., Jonker M.J., Dekker R.J., Breit T.M. (2018) Identifying small RNAs derived from maternal- and somatic-type rRNAs in zebrafish development. *Genome*, vol.61, pp. 371-378.
- 16 Obomighie I., Lapenas K., Murphy B.E., Bowles A., Bechtold U., Prischi F. (2021) The Role of Ribosomal Protein S6 Kinases in Plant Homeostasis. *Front. Mol. Biosci.*, vol.8, pp. 636560.
- 17 Sergiev P.V., Lavrik I.N., Dokudovskaya S.S., Dontsova O.A., Bogdanov A.A. (1998) Structure of the decoding center of the ribosome. *Biochemistry (Moscow)*, vol.63, pp. 963–976.
- 18 Shaikhin S.M., Smailov S.K., Lee A.V., Kozhanov E.V., Iskakov B.K. (1992) Interaction of wheat germ translation initiation factor 2 with GDP and GTP. *Biochimie*, vol. 74, pp. 447–454.

- 19 Smailov S.K., Lee A.V., Iskakov B.K. (1993) Study of phosphorylation of translation elongation factor 2 (EF-2) from wheat germ. *FEBS Lett.*, vol. 321, pp. 219–223.
- 20 Williams A.J., Werner-Fraczek J., Chang I.-F., Bailey-Serres J. (2003) Regulated phosphorylation of 40S ribosomal protein S6 in root tips of maize. *Plant Physiol.*, vol.132, pp. 2086-2097.
- 21 Zhanybekova S.S., Polimbetova N.S., Nakisbekov N.O., Iskakov B.K. (1996) Detection of a new small RNA, induced by heat shock, in wheat seed ribosomes. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 61, pp. 862-870.
- 22 Zheng Y., Wang S., Sunkar R. (2014) Genome-wide discovery and analysis of phased small interfering RNAs in Chinese sacred lotus. *PLoS ONE*, vol. 9, pp. e113790.
- 23 Zhigaylov A.V., Polimbetova N.S., Borankul R.I., Iskakov B.K. (2013) Issledovaniye diskretnoy fragmentatsii 18S rRNK v sostave 40S ribosomnykh subchastits kletok rasteniy [Investigation of discrete fragmentation of 18S rRNA in 40S ribosomal subunits of plant cells]. *Vestnik Kaznu. Seriya biologicheskaya*, vol. 2, pp. 81-87.
- 24 Zhigaylov A.V., Polimbetova N.S., Doshchanov Kh.I., Iskakov B.K. (2014) Obnaruzheniye v kletkakh rasteniy novoy 55-nukleotidnoy tsitoplazmaticheskoy RNK, sootvetstvuyushchey 5'-kontsevomu fragmentu 18S rRNK [Detection in plant cells of a new 55-nucleotide cytoplasmic RNA corresponding to the 5'-terminal fragment of 18S rRNA]. *Vestnik KazNU, Seriya biologicheskaya i meditsinskaya*, vol.1, pp. 191-194.
- 25 Zhigaylov A.V., Alexandrova A.M., Nizkorodova A.S., Stanbekova G.E., Kryldakov R.V., Karpova O.V., Polimbetova N.S., Halford N.G., Iskakov B.K. (2020) Evidence That Phosphorylation of the α -subunit of eIF2 does not essentially inhibit mRNA translation in wheat germ cell-free system. *Front. Plant Sci.*, vol. 11, pp. 936.

Л.Т. Надирова^{1*}, Д.К. Бейсенов¹, Г.Э. Станбекова¹,
М.К. Сапарбаев², Б.К. Исаков¹

¹РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина», Казахстан, г. Алматы

² Институт рака Густава Русси, Франция, г. Париж

*e-mail: leila.nadirova@gmail.com

КЛОНИРОВАНИЕ КДНК-ГЕНА РИБОСОМНОГО БЕЛКА S6 ИЗ *ARABIDOPSIS THALIANA*, ЕГО ЭКСПРЕССИЯ В *ESCHERICHIA COLI* И ВЫДЕЛЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ATRPS6A1

Рибосомный белок S6 (RPS6) является неотъемлемым компонентом эукариотических 40S-рибосомных субъединиц (40S-RSu), который регулирует трансляцию определенных видов мРНК. Поскольку RPS6 – единственный белок 40S-RSu, способный к фосфорилированию, он и является одной из мишеней для регуляции биосинтеза белков у эукариот. Есть указание на то, что рибосомы с наиболее высоким уровнем фосфорилирования RPS6 создают селективные преимущества при трансляции мРНК, кодирующих большую часть белковых компонентов трансляционного аппарата клеток. Понимание механизма регуляции трансляции у растений посредством фосфорилирования RPS6 позволит повышать биомассу растений и их урожайность.

В настоящей работе кДНК-ген AtRPS6A1, кодирующий рибосомный белок S6 у *Arabidopsis thaliana*, клонирован в векторе pET19b. Этот ген был экспрессирован в клетках *Escherichia coli*, а кодируемый им рекомбинантный белок AtRPS6A1 выделен методами ионной и аффинной (ИМАС) хроматографии, затем препарат очищен и сконцентрирован. Рекомбинантный белок AtRPS6A1 в дальнейшем будет использован в экспериментах *in vitro* для исследования молекулярных механизмов регуляции трансляции мРНК растений посредством его фосфорилирования и получения поликлональных антител к этому белку.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, клонирование кДНК-гена AtRPS6A1, рекомбинантный рибосомный белок S6 (AtRPS6A1).

L.T. Nadirova^{1*}, D.K. Beisenov¹, G.E. Stanbekova¹,
M.K. Saparbaev², B.K. Isakov¹

¹RSE “M.Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry”, Kazakhstan, Almaty

²Gustav Roussy Cancer Institute (IGR), France, Paris

*e-mail: leila.nadirova@gmail.com

Cloning of cDNA-gene of *Arabidopsis thaliana* ribosomal protein S6, its expression in *Escherichia coli* and isolation of AtRPS6A1 recombinant protein

Ribosomal protein S6 (RPS6) is a component of eukaryotic 40S ribosomal subunits (40S-RSu) that regulates the translation of certain types of mRNA. RPS6 is the unique 40S-RSu protein, which is able to phosphorylation; it is one of the targets for the regulation of protein biosynthesis in eukaryotes. There is evidence that ribosomes with the highest level of phosphorylation of RPS6 create selective advantages in translation of mRNAs encoding many of the protein components of the cell translational apparatus. Understanding the mechanism of regulation of plant biosynthesis through phosphorylation of pRPS6 will increase plant biomass and yield.

In this work, the AtRPS6A1 cDNA gene encoding the ribosomal protein S6 was cloned into the pET19b vector. This gene was expressed in *Escherichia coli* cells, and the recombinant PRS6 protein was isolated by ion-metall affinity (IMAC) chromatography, purified and concentrated. The recombinant RPS6 protein will be used in *in vitro* experiments to study the molecular mechanisms of regulation of plant mRNA translation through its phosphorylation and production of polyclonal antibodies to this protein.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, cloning AtRPS6A1 cDNA gene, recombinant ribosomal protein S6 (AtRPS6A1).

Л.Т. Надирова^{1*}, Д.К. Бейсенов¹, Г.Е. Станбекова¹,
М.К. Сапарбаев², Б.Қ. Ысқақов¹

¹РМК «М.А. Айтхожин атындағы молекулярлық биология
және биохимия ғылыми-зерттеу институты», Қазақстан, Алматы қ.
²Густав Русси атындағы канцерология институты, Франция, Париж қ.
*e-mail: leila.nadirova@gmail.com

***Arabidopsis thaliana*-дан S6 рибосомалық ақуызының қДНҚ генін клондау, оның *Escherichia coli*-сінде экспрессиясы және рекомбинантты AtRPS6A1 ақуызын оқшаулау**

Рибосомалық ақуыз S6 (RPS6) эукариоттық 40S рибосомалық суббірліктерінің (40S-RSu) маңызды құрамдас бөлігі болып табылады. Ол жасушада мРНК-ның белгілі кейбір түрлерінің трансляциясын реттеп істейді. RPS6 – фосфорлануға қабілетті 40S-RSu суббірлігінің жалғыз ақуызы. Сондықтан ол эукариоттардағы ақуыз биосинтезін реттеу процессын нысаналарының бірі болып табылады. Егер рибосомаларда RPS6 протеинінің фосфорлану деңгейі жоғары болса, онда жасушаның трансляциялық аппаратының ақуыздық компоненттерінің көпшілігін кодтайтын мРНК-ның трансляциясы кезінде бұл селективті артықшылық туғызатыны туралы көрсеткіш бар. RPS6 фосфорлануы арқылы өсімдіктердегі трансляцияны реттеу механизмін түсіну өсімдік биомассасы мен өнімділігін арттыруға көмектеседі.

Бұл ғылыми жұмыста *Arabidopsis thaliana*-дағы S6 рибосомалық ақуызын кодтайтын AtRPS6A1 қДНҚ гені рЕТ19b векторына клондалған. Бұл ген *Escherichia coli*-нің жасушаларында экспрессияланды және ол арқылы кодталған рекомбинантты AtRPS6A1 ақуызы металл-иондық аффиндік хроматография (МИАХ) әдістерімен бөлініп алынды, ал содан кейін препарат тазарттылып және концентраттандырылды. Рекомбинантты AtRPS6A1 протеині одан әрі *in vitro* эксперименттерінде өсімдік мРНК трансляциясының фосфорлануы және болашақта осы ақуызға поликлоналды антиденелерді өндіру арқылы реттелуінің молекулалық механизмдерін зерттеу үшін пайдаланылатын болады.

Түйін сөздер: *Arabidopsis thaliana*, AtRPS6A1 қДНҚ геннің клондау, рекомбинантты рибосомалық ақуыз S6 (AtRPS6A1).

Сокращения и обозначения

rRPS6 – S6 белок малой рибосомной субчастицы растений, РТ – реакция обратной транскрипции (реверс-транскрипция), ПЦР – полимеразная цепная реакция, 10xHis-tag – аминокислотная последовательность из десяти гистидинов, МИАХ – металл-ионная аффинная хроматография, ИПТГ – изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид.

Введение

В настоящее время в мире все больше увеличивается спрос на все виды продукции сельскохозяйственного растениеводства, и главные надежды возлагаются на биотехнологические инновации в области растениеводства, которые имеют большой потенциал к существенному увеличению биомассы и урожайности растений, путем ускорения их роста, способности улавливать энергию света и преобразовать ее в полезные продукты [1].

Урожайность сельскохозяйственных растений – один из важнейших признаков в селекции, поэтому проводится большое количество генетических и физиологических исследований по ее

повышению. Вместе с тем, мало что известно о молекулярных и биохимических системах, определяющих продуктивность растений [2]. Их детальное изучение чаще всего проводится на модельном растении *Arabidopsis thaliana*, которое имеет много экспериментальных преимуществ по сравнению с другими видами [3] и является наиболее изученным с точки зрения молекулярных механизмов, регулирующих его рост и развитие. Новые знания, получаемые на *A. thaliana*, затем переносятся на другие экономически важные культуры для решения практических задач по повышению устойчивости к абиотическим и биотическим стрессам, а также продуктивности [4].

Рост, деление и дифференциация клеток – важнейшие процессы, лежащие в основе развития всех многоклеточных организмов. У всех эукариот имеются сходные регуляторные системы, которые согласовывают скорость роста и деления клеток в точном соответствии с наличием и доступностью питательных веществ (аминокислот, нуклеотидов) и энергетических ресурсов [5-13]. Эти системы, в свою очередь, находятся под влиянием многих регуляторных факторов внутри организма (гормоны и другие

сигнальные молекулы), а также под воздействием внешних биотических и экологических стрессов [7-14].

Рибосомный белок S6 (RPS6) является компонентом эукариотических 40S-рибосомных субъединиц (40S-RSu), который регулирует трансляцию определенных видов мРНК. Поскольку RPS6 – единственный белок 40S-RSu, способный к фосфорилированию, он и является одной из мишеней для регуляции биосинтеза белков у эукариот [15]. Растительный RPS6 может фосфорилироваться различными киназами по одному треонинovому и четырем сериновым остаткам, локализующимся на С-конце этого белка, но основной киназой, фосфорилирующей RPS6, является киназа RPS6K2 [16-20]. Есть указание на то, что рибосомы с наиболее высоким уровнем фосфорилирования RPS6 создают селективные преимущества при мобилизации определенных мРНК в полисомы, а именно при трансляции мРНК, содержащих 5'-концевую олигопиримидиновую последовательность (5'-terminal oligo pyrimidine, 5'TOP), которые кодируют большую часть белковых компонентов трансляционного аппарата клеток [21-22]. Понимание механизма регуляции биосинтеза у растений посредством фосфорилирования RPS6 позволит искусственно регулировать рост и размеры клеток, а через это – повышать биомассу растений и их урожайность.

Для проведения исследования активации процесса фосфорилирования растительного белка RPS6 необходимо иметь очищенный белок в достаточных количествах. Поэтому было решено провести клонирование и экспрессию гена *AtRPS6A1* с последующей очисткой рекомбинантного белка посредством аффинной хроматографии.

Также полученный нативный белок RPS6 можно будет использовать в дальнейшем для исследования его фосфорилирования различными киназами и последующего получения генетически модифицированных растений с повышенной продуктивностью, более ранним созреванием (скороспелостью) и высокой скоростью роста биомассы.

Новые фундаментальные знания в дальнейшем послужат основой для совершенствования биотехнологии получения генетически модифицированных растений с применением технологии CRISPR-Cas для придания им повышенной продуктивности и устойчивости к различным неблагоприятным факторам среды и патогенам.

Материалы и методы

Использованные в работе олигонуклеотиды RPS6-for-NdeI (5'GTCGCATATGAAGTTCAACGTTGCGAATCCAACACTACTGGA) и RPS6-rev-SalI (5'TCTCGTCTCGACTTTTAACTGTGTGACAGAGGGCTTGGCAGCAGCAGA) были синтезированы компанией «Eurogentec».

Компьютерный анализ последовательностей нуклеиновых кислот и белков проводили с использованием программ SnapGene Viewer 4.0.4, VNTI-Viewer 11.5.1 и DNAMAN 4.03. Нуклеотидная последовательность кДНК *AtRPS6A1* (GeneBank: AT4G31700.1) была взята из базы данных TAIR (<https://www.arabidopsis.org>).

Выделение тотального препарата РНК. Семена *Arabidopsis thaliana* экотипа Col-0 стерилизовали и высаживали на твердую питательную среду Мурасиге-Скуга без фитогормонов, проростки культивировали при 16-часовом световом дне и температуре +23±2°C. Препараты мРНК выделялись из 0,1 г сырой массы листьев *A. thaliana* с использованием реагента тризол (Sigma) по методике производителя.

Реакцию обратной транскрипции (ОТ) проводили с использованием набора Maxima Reverse Transcriptase (Thermo FS) со специфическими праймерами по методике производителя. Инкубацию проводили при 50°C в течение 1 часа. Реакцию останавливали прогреванием смеси при 85°C в течение 5 мин и охлаждали во льду.

Полимеразная реакция после реакции обратной транскрипции (ОТ-ПЦР) проводилась с использованием полимеразы Phusion High-fidelity DNA-polymerase (Thermo FS) по методике производителя. Реакцию проводили в следующем температурном режиме: стадия 1 – 98°C 30 сек; стадия 2 – 98°C 10 сек, 58°C 30 сек, 72°C 30 сек – 30 циклов; стадия 3 – 72°C 7 мин, 4°C 5 мин.

Клонирование кДНК AtRPS6A1. Продукты амплификации анализировали в 1% агарозном геле; полосу, соответствующую по размеру кДНК *AtRPS6A1* (772 п.о.), элюировали из геля с использованием коммерческого набора Gel Extraction Kit (Thermo FS). Далее ДНК-фрагмент обрабатывали эндонуклеазами рестрикции *NdeI* и *SalI* и клонировали в векторную ДНК pET19b, обработанную рестриктазами *NdeI* и *XhoI*.

Секвенирование клонированных участков плазмид pET19b-His-AtRPS6A1 осуществляли с использованием коммерческого набора BigDye® Terminator v.3.1 (Applied Biosystems) по методике фирмы-производителя. Амплификацию проводили на приборе GeneAmp® PCR

System 9700 (Applied Biosystems) при использовании следующего температурного режима: стадия 1 – 96°C 2 мин; стадия 2 – 96°C 20 сек, 50°C 10 сек, 60°C 4 мин – 30 циклов; стадия 3 – 4°C 5 мин. По окончании амплификации ДНК осаждали этанолом, осадок растворяли в 15 мкл формамида. Образцы ДНК денатурировали 96°C 3 мин и анализировали на генетическом анализаторе ABI Prism 310 (Applied Biosystems).

Экспрессия кДНК *AtRPS6A1* в клетках бактерий. Клетки *E. coli* штамма Rosetta BL-21(DE3) трансформировали методом теплового шока (42°C, 90 сек) плазмидой pET19b-His-AtRPS6A1. Трансформированные клоны растили ночь в 2 мл LB присутствии 0,1% глюкозы для ингибирования экспрессии лактозного оперона. На утро клетки разводили в 20 раз и растили при разных температурных режимах и концентрациях ИПТГ (изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид, англ. IPTG). Индукцию экспрессии проводили в течение 3 часов. Клетки осаждали и суспендировали в буфере А (20мМ Hepes, 20мМ NaCl), лизировали с помощью аппарата FRENCH® Press (Thermo electron corporation), после центрифугировали; супернатант и осадок анализировали посредством одномерного электрофореза белков по Лэммли [23] в 10%ПАА-геле в присутствии 0,1% SDS на приборе Mighti-small (Hoefer). Гели окрашивали 0,125% раствором Кумасси бриллиантового голубого G-250 (Serva).

Для выделения белка RPS6 бактериальную культуру растили в 100 мл жидкой среды LB при 23°C до оптической плотности $OD_{600} = 0,5$. После прибавления к среде ИПТГ до конечной концентрации 0,2 мМ, клетки растили еще в течение 3-х часов. Клетки осаждали и суспендировали в 20 мл буфера Б (0,5 М NaCl, 20 мМ Hepes, 10 мМ имидазол, 0,5% Nonidet P40, pH 8,0). Клетки разрушали с помощью прибора FRENCH® Press. Лизат центрифугировали при 40000g 25 мин при 4°C. Супернатант пропускали через колонку с Q-сефарозой для проведения анионно-обменной хроматографии. Белки, не связавшиеся с Q-сефарозой, пропускали через колонку с PerfectPro Ni-NTA агарозой (5-Prime), далее колонку промывали буфером Б, содержащим 20 мМ имидазола. Элюцию связавшихся с Ni-NTA агарозой белков проводили буфером Б, содержащим 250 мМ имидазола.

Концентрирование белка проводили центрифугированием образцов в пробирках с фильтрами Amicon Ultra 3K (Merck) согласно инструкции производителя.

Иммуноблоттинг. Перенос белков из ПАА-геля на нитроцеллюлозную мембрану проводили на аппарате Invitrogen iBlot Dry Blotting System при 23V в течение 10 мин. Мембрану после переноса промывали дважды по 10 мин в буфере TBS (20 мМ трис-HCl (pH 7,6), 140 мМ NaCl), дважды по 10 мин – в буфере TBST (TBS + 0,05% Tween-20). После этого мембрану инкубировали в блокирующем буфере (5% сухое обезжиренное молоко (Sigma) в TBST) в течение ночи при 4°C. После забивки мембрану инкубировали 1 час с I-ми антителами Penta-His mouse antibodies (5-Prime) в разведении 1:5000 в блокирующем буфере. После трехкратной промывки в TBST по 20 мин ее инкубировали 1 час со II-ми антителами Anti-mouse HRP-conjugate (Santa-Cruz) в разведении 1:4000 в блокирующем буфере. После двукратной промывки мембраны по 20 мин в TBST и двукратной промывки по 10 мин в TBS, детекцию связавшихся антител проводили хемилюминесцентным субстратом ECL Prime Western blotting Detection Reagent (Amersham).

Общие методы. Выделение плазмидных ДНК, спектрофотометрическое определение концентрации нуклеиновых кислот, приготовление и трансформацию компетентных клеток *E. coli* и другие процедуры выполняли по стандартным методикам [24]. Концентрацию общего белка определяли по Брэдфорду [25].

Статистические методы. Спектрофотометрическое определение концентрации белков и нуклеиновых кислот проводили в трех повторах с вычислением в пакете Microsoft Office Excel 2013 среднего арифметического значения (X_{cp}) и ошибки среднего арифметического (m) [24-25].

Результаты и обсуждение

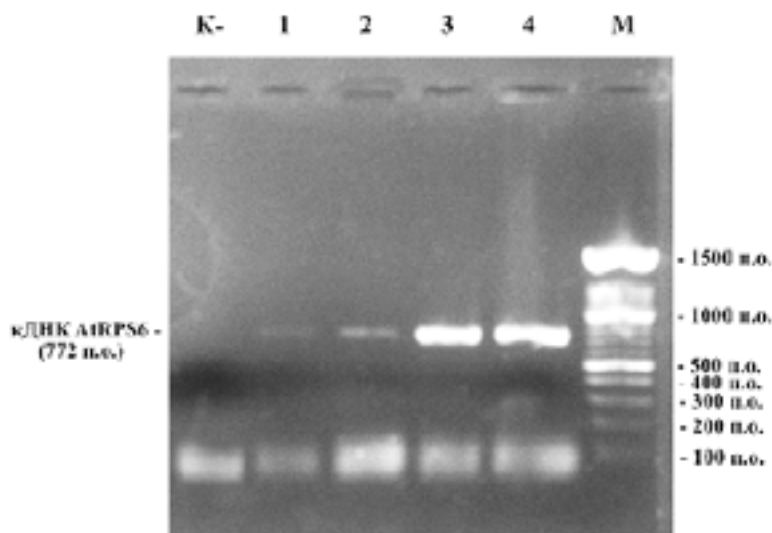
Клонирование кДНК гена *AtRPS6A1*

RPS6 белок в геноме *A. thaliana* кодируется двумя генами *AtRPS6A* и *AtRPS6B*. Кодированные ими белки по аминокислотной последовательности идентичны на 94% и одинаково функционально активны [17]. Существует четыре изоформы белка: *AtRPS6A1*, *AtRPS6B1*, *AtRPS6A2* и *AtRPS6B2*, последние две представляют собой укороченные формы первых. Целью настоящей работы было клонировать и экспрессировать кДНК *AtRPS6A1*. Исходя из нуклеотидной последовательности кДНК-гена *AtRPS6A1* (GeneBank #AT4G31700.1) посредством компьютерной программы SnapGene Viewer 4.0.4 и сервера Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) были подобраны праймеры для амплификации и кло-

нирования кДНК. С использованием программы DNAMAN 4.03 праймеры были проверены на отсутствие комплементарности друг с другом и самих на себя. Из листьев растений *A. thaliana* был выделен суммарный препарат РНК, проведена реакция обратной транскрипции. Для получения кДНК *AtRPS6A1* использовали праймер RPS6-rev-SalI, который комплементарен 3'-концевому участку кДНК-гена *AtRPS6A1*, но

не *AtRPS6B1*. Подобранный обратный праймер позволил нам амплифицировать именно ту открытую рамку считывания, которая кодирует интересующую нас *AtRPS6A1* изоформу целевого белка.

Амплификацию кДНК *AtRPS6A1* проводили, используя праймеры RPS6-for-NdeI и RPS6-rev-SalI. Результаты электрофоретического анализа продуктов ОТ-ПЦР представлены на рисунке 1.



М – ДНК-маркер. Дорожки: К – отрицательный контроль; 1 – 0,5 мкл смеси РТ в реакции; 2 – 1,0 мкл смеси РТ в реакции; 3 – 2,5 мкл смеси РТ в реакции; 4 – 5 мкл смеси РТ в реакции.

Рисунок 1 – Электрофоретический анализ в 1% агарозном геле продуктов ОТ-ПЦР для амплификации кДНК *AtRPS6A1*

Продукт амплификации размером около 772 п.о., соответствующий кДНК *AtRPS6A1* (см. Рис.1) элюировали из геля, обрабатывали рестриктазами *NdeI* и *SalI* и клонировали в вектор рЕТ19b, обработанный *NdeI* и *XhoI* (рестриктазы *SalI* и *XhoI* после гидролиза образуют «липкие концы» ДНК, но после лигирования сайты узнавания не восстанавливаются). Скрининг ДНК-клонов проводили методом ПЦР-анализа с использованием ген-специфических праймеров и рестрикционного анализа с помощью эндонуклеаз *NdeI* и *BamHI*. Таким образом была получена плаزمида рЕТ19b-His-*AtRPS6A1* (см. Рис. 2).

Нуклеотидная последовательность клонированного участка была выверена секвенированием ДНК.

Экспрессия кДНК в клетках *E. coli* и выделение белка

ДНК-конструкцией рЕТ19b-His-*AtRPS6A1* трансформировали клетки штамма *E. coli*

Rosetta BL21(DE3), широко используемый для оптимальной экспрессии эукариотических кДНК-генов. Подбор условий для оптимальной экспрессии RPS6 белка представлен на рисунке 3. Как видно из рисунка, оптимальным режимом экспрессии является 23 °С при 0,2 мМ ИПТГ в течение 3-х часов. Белок содержался как в растворимой фракции (рисунок 3А), так и в осадке (рисунок 3Б).

Для очистки синтезированного белка RPS6, содержащего «10xHis-tag» на N-конце использовали металл-ионную аффинную хроматографию (МИАХ), которая позволяет быстро и достаточно чисто выделить из лизата бактерий рекомбинантные белки. Поскольку выделение белка в денатурирующих условиях не представлялось целесообразным в силу того, что для дальнейших исследований необходим белок RPS6, обладающий нативной конформацией, целевой белок был выделен в нативных условиях в дис-

социрующем буфере с добавлением этапа ионообменной хроматографии с целью удаления значительного количества бактериальных белков. Для лизиса использовали диссоциирующий буфер, содержащий неионный детергент Nonidet P40, позволяющий увеличить выход растворимых белков. На рисунке 4 представлены резуль-

таты этапа анионообменной хроматографии на колонке с Q-сефарозой. Как видно из рисунка 4, не связавшаяся фракция с Q-сефарозой содержала большее количество имеющего рI=10,7 RPS6 (дорожка 2), и меньшее количество бактериальных белков по сравнению с исходным лизатом (дорожка 1).

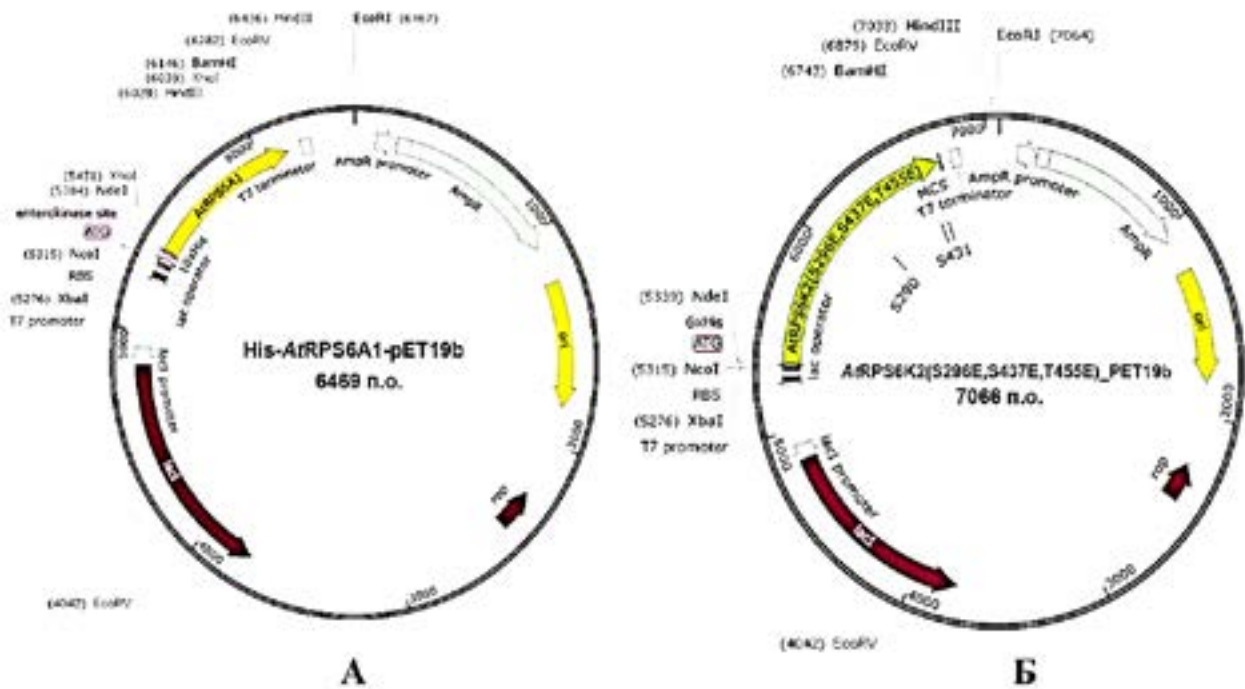
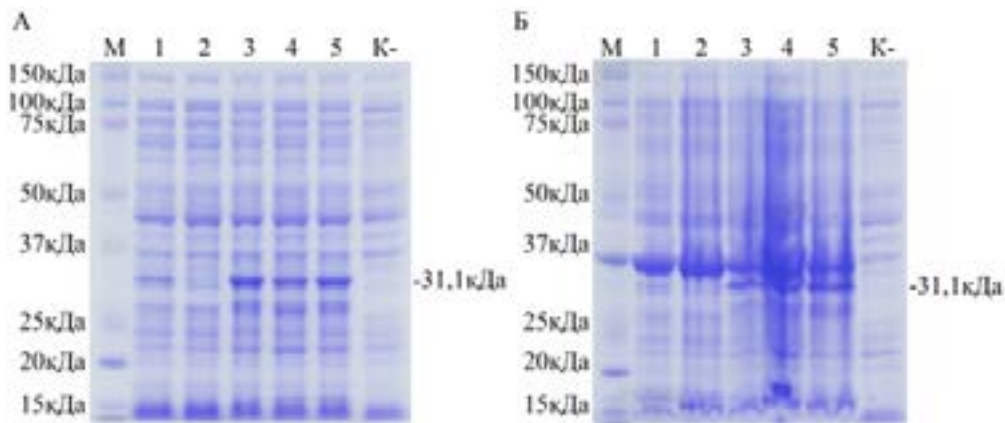
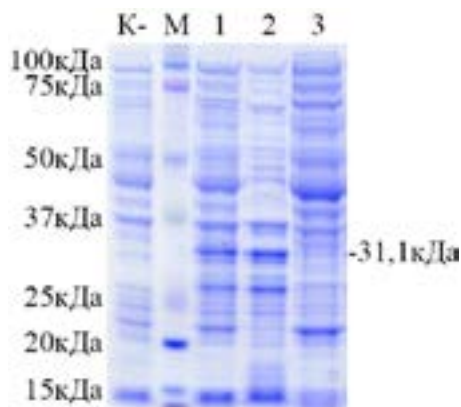


Рисунок 2 – Схематическое изображение ДНК-конструкции рЕТ19b-His-AtRPS6A1



10% ПАА-гель, окрашенный Кумасси G-250. А и Б – супернатанты и осадки лизата после центрифугирования соответственно. М – белковый маркер Precision Plus Protein Kaleidoscope Standards (Bio-Rad). К- – нетрансформированные клетки *E. coli* Rosetta BL21(DE3). 1 – экспрессия при 16 °С и 0,2 мМ ИПТГ; 2 – экспрессия при 16 °С и 0,02 мМ ИПТГ; 3 – экспрессия при 23 °С и 0,2 мМ ИПТГ; 4 – экспрессия при 23 °С и 0,02 мМ ИПТГ; 5 – экспрессия при 30 °С и 0,2 мМ ИПТГ.

Рисунок 3 – Оптимизация условий экспрессии кДНК AtRPS6A1 в клетках бактерий



Окрашенный Кумасси G-250 10% ПАА-гель. К – нетрансформированные клетки *E. coli* Rosetta BL21(DE3), М – белковый маркер Precision Plus Protein Kaleidoscope Standards; 1 – супернатант в диссоциирующем буфере после центрифугирования лизата; 2 – фракция белков, не связавшаяся с Q-сефарозой; 3 – фракция белков, смытых с Q-сефарозы раствором 50 мМ NaCl.

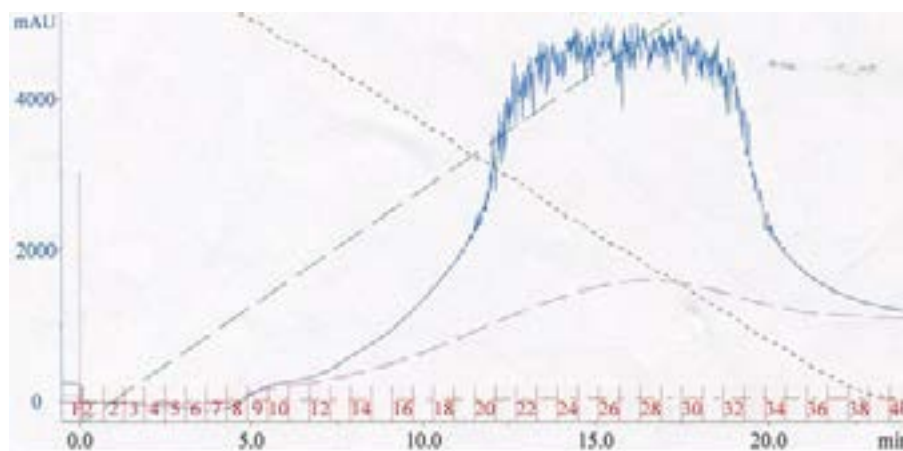
Рисунок 4 – Электрофоретический анализ фракций после анионообменной хроматографии на колонке с Q-сефарозой

Несвязавшиеся с Q-сефарозой белки были нанесены на колонку с Ni-NTA (никель –нитрилоацетат) агарозой, после чего была проведена промывка колонки и элюция связавшихся с агарозой белков. Далее препарат был сконцентрирован центрифугированием в пробирках Amicon Ultra 3K.

Хроматограмма и анализ выделенного белка RPS6 представлены на рисунках 5 и 6.

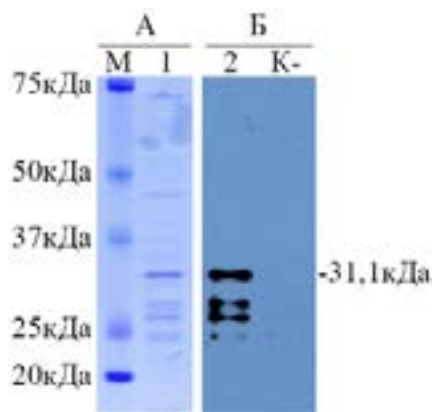
Иммуноблоттинг с антителами к пентагистидину выявил белок ожидаемого размера в 31 кДа, а также белки меньшего размера, которые представляют, по-видимому, продукты деградации исходного белка.

Выделенный в нативных условиях белковый препарат содержал некоторое количество примесных полипептидов. Содержание рекомбинантного белка в препарате оценивали с помощью денситометрического анализа (после измерения концентрации белков по методу Брэдфорда). Общая концентрация препарата белка до концентрирования составила $0,174 \pm 0,017$ мг/мл, а после концентрирования – $0,55 \pm 0,042$ мг/мл. Общее количество сконцентрированного рекомбинантного белка *AtRPS6A1* составило 27,5 мкг на 100 мл исходной клеточной суспензии клеток бактерий.



По оси ординат нанесены единицы оптической плотности в у.е., по оси абсцисс нанесены номера фракций, отбираемых по времени.

Рисунок 5 – Металл-ионная аффинная хроматография с использованием Ni-NTA агарозы.



А – Окрашенный Кумасси G-250 10% ПАА-гель с очищенным препаратом RPS6 (объединенные фракции 21-32). Б – Иммуноблот с антителами Mouse Penta-His Antibodies (5-Prime) и детекцией с помощью Goat-antimouse HRP-Conjugate (Santa-Cruz).

М – белковый маркер Precision Plus Protein Kaleidoscope Standards, К- – нетрансформированные клетки *E. coli* Rosetta BL21(DE3).

Рисунок 6 – Электрофоретический и вестерн-блоттинг анализ очищенного рекомбинантного AtRPS6A1 белка.

Заключение

Таким образом, в данной работе методом ОТ-ПЦР был амплифицирован кДНК-ген *AtRPS6A1*, при этом в качестве матрицы был использован тотальный препарат РНК, выделенный из *A. thaliana*. Затем полученный ген *AtRPS6A1* был клонирован в экспрессионный бактериальный вектор pET19b.

Собранная ДНК-конструкция pET19b-His-AtRPS6A1 была экспрессирована в клетках *E. coli*. Рекомбинантный белок RPS6 был очищен с использованием методов анионнообменной и металл-хелатной аффинной хроматографии. Препарат белка был сконцентрирован. Методом иммуноблоттинга подтверждены характеристики выделенного белка.

Мы планируем разработать новый подход к регуляции биосинтеза белка в растительных системах, основанный на использовании киназы *AtRPS6K2* рибосомного белка S6, которая стимулирует фосфорилированное состояние данного белка. Для этих целей необходим нативный растительный белок RPS6, который был получен в настоящей работе.

Центральным звеном, регулирующим основные процессы анаболизма в клетках эукариот является протеинкиназа TOR. В клетках животных и дрожжей идентифицировано множество ее мишеней. В клетках растений отсутствуют некоторые ключевые мишени TOR-киназы, такие как

eIF4E-связывающие белки (4E-BP) и протеинкиназа фактора элонгации трансляции eEF2. Киназа рибосомного белка S6 становится в клетках растений главной эффекторной киназой, опосредующей передачу сигнала от TOR-киназы к трансляционному аппарату клетки.

Понимание механизма регуляции биосинтеза белка у растений посредством фосфорилирования рRPS6 позволит в дальнейшем искусственно регулировать рост и размеры клеток, а через это – повышать биомассу растений и их урожайность. Очищенный рекомбинантный белок RPS6 планируется в дальнейшем использовать для проверки активности различных видов киназ, а кодирующие их гены в свою очередь внедрить в геном экономически важных видов и сортов растений для повышения их продуктивности.

Конфликт интересов

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

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках гранта AP08855746 «Разработка биотехнологии повышения продуктивности растений посредством активации процесса биогенеза рибосом», финансируемого Комитетом науки Министерства образования и науки РК.

Литература

- 1 Borlaug N. Feeding a hungry world // *Science*. – 2007. – Vol. 318. – P. 359-359.
- 2 Van Camp W. Yield enhancement genes: seeds for growth // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2005. – Vol. 16. – P. 147-153.
- 3 Meinke D.W., Cherry J.M., Dean C., Rounsley S.D., Koornneef M. *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. // *Science*. – 1998. – Vol. 282. – P. 679–682.
- 4 Zhang J.Z., Creelman R.A., Zhu J.-K. From laboratory to field. Using information from *Arabidopsis* to engineer salt, cold, and drought tolerance in crops // *Plant Physiol.* – 2004. – Vol. 135. – P. 615-621.
- 5 Turck F., Kozma S.C., Thomas G., Nagy F. A heat-sensitive *Arabidopsis thaliana* kinase substitutes for human p70s6k function in vivo // *Mol. Cell. Biol.* – 1998. – Vol. 18. – P. 2038-2044.
- 6 Ryabova L.A., Robaglia Ch., Meyer Ch. Target of Rapamycin kinase: central regulatory hub for plant growth and metabolism // *J Exp. Bot.* – 2019. – Vol.70, No.8. – P. 2211–2216.
- 7 Ren M., Qiu S., Venglat P., Xiang D., Feng L., Selvaraj G., Datla R. Target of rapamycin regulates development and ribosomal RNA expression through kinase domain in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2011. – Vol.155. – P. 1367-1382.
- 8 Roustan V., Jain A., Teige M., Ebersberger I., Weckwerth W. An evolutionary perspective of AMPK–TOR signaling in the three domains of life // *J Exp. Bot.* – 2016. – Vol. 67, No 13 – P. 3897-3907.
- 9 Nandagopal N., Roux P.P. Regulation of global and specific mRNA translation by the mTOR signaling pathway // *Translation*. – 2015. – Vol. 3, No. 1.
- 10 Henriques R., Bögre L., Horváth B., Magyar Z. Balancing act: matching growth with environment by the TOR signalling pathway // *J Exp. Bot.* – 2014. – Vol.65, No.10 – P. 2691-2701
- 11 Caldana C., Martins M.C.M., Mubeen U., Urrea-Castellanos R. The magic ‘hammer’ of TOR: the multiple faces of a single pathway in the metabolic regulation of plant growth and development // *J Exp. Bot.* – 2019. – Vol.70. – P. 2217-2225.
- 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 Rexin D., Meyer Ch., Robaglia Ch., Veit B. TOR signalling in plants // *Biochem. J.* – 2015. – Vol. 470. – P. 1–14.
- 14 Wolters H., Jürgens G. Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development // *Nat. Rev. Genet.* – 2009. – Vol. 10. – P. 305-317.
- 15 Creff A., Sormani R., Desnos T. The two *Arabidopsis* RPS6 genes, encoding for cytoplasmic ribosomal proteins S6, are functionally equivalent // *Plant Mol. Biol.* – 2010. – Vol. 73. – P. 533-546.
- 16 Ruvinsky, I., and Meyuhas, O. Ribosomal protein S6 phosphorylation: From protein synthesis to cell size // *Trends Biochem. Sci.* – 2006. – Vol. 31. – P. 342–348.
- 17 Meyuhas O. Ribosomal Protein S6 Phosphorylation: Four Decades of Research // *Intl Review Cell & Mol. Biol.* – 2016. – Vol. 320. – P. 1-33.
- 18 Turck F., Zilbermann F., Kozma S.C., Thomas G., Nagy F. Phytohormones Participate in an S6 Kinase Signal Transduction Pathway in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2004. – Vol. 134. – P. 1527-1535.
- 19 Otterhag L., Gustavsson N., Alsterfjord M., Pical C., Lehrach H., Gobom J., Sommarin M. *Arabidopsis* PDK1: identification of sites important for activity and downstream phosphorylation of S6 kinase // *Biochimie*. – 2006. – Vol. 88. – P. 11–21.
- 20 Williams A.J., Werner-Fraczek J. Chang I.-F., Bailey-Serres J. Regulated Phosphorylation of 40S Ribosomal Protein S6 in Root Tips of Maize // *Plant Physiol.* – 2003. – Vol. 132. – P. 2086–2097.
- 21 Yamashita R., Suzuki Y., Takeuchi N., Wakaguri H., Ueda T., Sugano S., Nakai K. Comprehensive detection of human terminal oligo-pyrimidine (TOP) genes and analysis of their characteristics // *Nucl. Acids Res.* – 2008. – Vol. 36, No. 11. – P. 3707–3715.
- 22 Meyuhas O., Kahan T. The race to decipher the top secrets of TOP mRNAs // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2015. – Vol. 1849. – P. 801-811.
- 23 Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. – 1970. – Vol. 227. – P. 680-685.
- 24 Sambrook J., Russel D.W. *Molecular cloning: A laboratory manual*: 3 volumes. – Third edition. – New-York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- 25 Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol.7, No.72. – P. 248-254.

References

- 1 Borlaug N. (2007) Feeding a hungry world. *Science*, vol. 318, pp. 359-359
- 2 Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, vol.7, pp. 248-254.
- 3 Caldana C., Martins M.C.M., Mubeen U., Urrea-Castellanos R. (2019) The magic ‘hammer’ of TOR: the multiple faces of a single pathway in the metabolic regulation of plant growth and development. *J Expl Bot*, vol.70, pp. 2217–2225.
- 4 Creff A., Sormani R., Desnos T. (2010) The two *Arabidopsis* RPS6 genes, encoding for cytoplasmic ribosomal proteins S6, are functionally equivalent. *Plant Mol Biol*, vol. 73, pp. 533-546.
- 5 Henriques R., Bögre L., Horváth B., Magyar Z. (2014) Balancing act: matching growth with environment by the TOR signalling pathway. *J Exp Bot*, vol.65, pp. 2691-2701.

- 6 Laemmli U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, vol. 227, pp. 680-685.
- 7 Meinke D.W., Cherry J.M., Dean C., Rounsley S.D., Koornneef M. (1998) *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. *Science*, vol. 282, pp. 679–682.
- 8 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.
- 9 Meyuhas O. (2016) Ribosomal Protein S6 Phosphorylation: Four Decades of Research. *Intl Review Cell & Mol. Biol*, vol. 320, pp. 1-33
- 10 Meyuhas O., Kahan T. (2015) The race to decipher the top secrets of TOP mRNAs. *Biochim Biophys Acta*, vol. 1849, pp. 801-811.
- 11 Nandagopal N., Roux P.P. (2015) Regulation of global and specific mRNA translation by the mTOR signaling pathway. *Translation*, vol. 3.
- 12 Otterhag L., Gustavsson N., Alsterfjord M., Pical C., Lehrach H., Gobom J., Sommarin M. (2006) *Arabidopsis* PDK1: identification of sites important for activity and downstream phosphorylation of S6 kinase. *Biochimie*, vol. 88, pp. 11–21.
- 13 Ren M., Qiu S., Venglat P., Xiang D., Feng L., Selvaraj G., Datla R. (2011) Target of rapamycin regulates development and ribosomal RNA expression through kinase domain in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, vol.155, pp. 1367-1382.
- 14 Rixin D., Meyer Ch., Robaglia Ch., Veit B. TOR signalling in plants. (2015) *Biochem J*, vol. 470, pp. 1–14.
- 15 Roustan V., Jain A, Teige M., Ebersberger I, Weckwerth W. (2016) An evolutionary perspective of AMPK–TOR signaling in the three domains of life. *J Exp Bot*, vol. 67, pp. 3897-3907.
- 16 Ruvinsky, I., and Meyuhas, O. (2006) Ribosomal protein S6 phosphorylation: From protein synthesis to cell size. *Trends Biochem. Sci*, vol. 31, pp. 342–348
- 17 Ryabova L.A., Robaglia Ch., Meyer Ch. (2019) Target of Rapamycin kinase: central regulatory hub for plant growth and metabolism. *J Exp Bot*, vol.70, pp. 2211–2216.
- 18 Sambrook J., Russel D.W. (2001) *Molecular cloning: A laboratory manual*: 3 volumes. Third edition. New-York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- 19 Turck F., Kozma S.C., Thomas G., Nagy F. (1998) A heat-sensitive *Arabidopsis thaliana* kinase substitutes for human p70s6k function in vivo. *Mol Cell Biol*, vol. 18, pp. 2038-2044.
- 20 Turck F., Zilbermann F., Kozma S.C., Thomas G., Nagy F. (2004) Phytohormones Participate in an S6 Kinase Signal Transduction Pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, vol. 134, pp. 1527–1535.
- 21 Van Camp W. (2005) Yield enhancement genes: seeds for growth. *Curr. Opin. Plant Biol*, vol. 16, pp. 147-153.
- 22 Williams A.J., Werner-Fraczek J. Chang I.-F., Bailey-Serres J. (2003) Regulated Phosphorylation of 40S Ribosomal Protein S6 in Root Tips of Maize. *Plant Physiol*, vol. 132, pp. 2086–2097.
- 23 Wolters H., Jürgens G. (2009) Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development. *Nat Rev: Genetics*, vol. 10, pp. 305-317.
- 24 Yamashita R., Suzuki Y., Takeuchi N., Wakaguri H., Ueda T., Sugano S., Nakai K. (2008) Comprehensive detection of human terminal oligo-pyrimidine (TOP) genes and analysis of their characteristics. *Nucl. Acids Res*. vol. 36, no. 11, pp. 3707–3715.
- 25 Zhang J.Z., Creelman R.A., Zhu J.-K. (2004) From laboratory to field. Using information from *Arabidopsis* to engineer salt, cold, and drought tolerance in crops. *Plant Physiol*, vol. 135, pp. 615-621.

5-бөлім
**АДАМ ЖӘНЕ ЖАНУАРЛАР
ФИЗИОЛОГИЯСЫ**

Section 5
**HUMAN AND ANIMAL
PHYSIOLOGY**

Раздел 3
**ФИЗИОЛОГИЯ
ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

И.С. Алиев 

Азербайджанская Государственная Академия
физической культуры и спорта, Азербайджан, г. Баку
e-mail: ilgar.aliyev@sport.edu.az

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ФУТБОЛИСТОВ-ПОДРОСТКОВ

Под действием интенсивных физических нагрузок в организме усиливаются энергетические процессы, увеличивается количество транспортируемого в организм кислорода. Как и в случае большинства факторов окислительного стресса, основной акцент в работе заключается в том, что существует сильная взаимосвязь между адаптивными процессами, которые происходят в организме в результате воздействия тренировочных нагрузок увеличиваются продукты перекисного окисления липидов и влияют на рабочие мышцы тела. Показано, что большое диагностическое значение имеет определение характера изменений показателей ПОЛ при адаптивных физических нагрузках и при адаптивных реакциях, поскольку использование современных не инвазивных, безболезненных и удобных методов дают возможность для оценки тренировочного процесса. Биохимический анализ слюны также позволяет оценить уровень адаптации и проводить более обширные исследования. Были изучены также биохимические изменения в количестве продуктов ПОЛ, которые происходят под влиянием при физических нагрузках у детей 10-15 лет в разных возрастных группах.

Ключевые слова: тренировочный процесс, спортсмены, тренировка, слюна, химический фактор, спортивная тренировка, физическая активность, перекисное окисление липидов.

И.С. Алиев

Azerbaijan State Academy of Physical Culture and Sport,
Azerbaijan, Baku
e-mail: ilgar.aliyev@sport.edu.az

The effect of physical activity on biochemical parameters in teenage football players

Under the influence of intensifying physical loads, energy processes in the body intensify, and the amount of oxygen transported to the body increases. As with most oxidative stress factors, the main focus of the article is that there is a strong relationship between the changes in the products of oxidation of lipids in the skeletal muscles of the body and the adaptation processes that occur in the body as a result of regular exercise loads. It has been shown that it is of great diagnostic importance to determine the nature of LPO changes in adaptive physical loads in adaptive reactions, as the use of modern non-invasive, painless and convenient methods in the use of modern functional and laboratory diagnostics is accelerated. Based on the biochemical analysis of oral water, it also allows to assess the capacity of the adaptation levels and to conduct more extensive studies. In this regard, the biochemical changes in the amount of LPO products used in the physical loads of 10-15 years old footballers in different age groups have also been investigated.

Key words: training factor, athletes, training, saliva, chemical factor, sports training, physical activity, lipid peroxidation.

И.С. Алиев

Әзірбайжан Мемлекеттік дене шынықтыру, мәдениет
және спорт академиясы, Әзірбайжан, Баку қ.
e-mail: ilgar.aliyev@sport.edu.az

Жасөспірім футболшылардағы физикалық белсенділіктің биохимиялық көрсеткіштерге әсері

Денедегі қарқынды физикалық белсенділіктің әсерінен энергия процестері күшейеді, ағзаға тасымалданатын оттегінің мөлшері артады. Тотығу стрессінің көптеген факторлары сияқты, жұмыстағы басты назар-жаттығу жүктемелерінің әсерінен организмде пайда болатын бейімделу

процестері арасында күшті байланыс бар.липидтердің асқын тотығу өнімдері артып, дененің жұмыс бұлшықеттеріне әсер етеді. Адаптивті физикалық күш салу кезінде және адаптивті реакциялар кезінде жыныстық көрсеткіштердің өзгеру сипатын анықтау үлкен диагностикалық мәнге ие екендігі көрсетілген, өйткені қазіргі инвазивті емес, ауыртпалықсыз және ыңғайлы әдістерді қолдану оқу процесін бағалауға мүмкіндік береді. Сілекейдің биохимиялық талдауы бейімделу деңгейін бағалауға және кең зерттеулер жүргізуге мүмкіндік береді. Сондай-ақ, әртүрлі жас топтарындағы 10-15 жастағы балалардағы физикалық күш салу кезінде әсер ететін жыныстық өнімдер санындағы биохимиялық өзгерістер зерттелді.

Түйін сөздер: жаттығу процесі, спортшылар, жаттығу, сілекей, химиялық фактор, спорттық жаттығулар, физикалық белсенділік, липидтердің асқын тотығуы.

Введение

Интенсивное развитие спорта, рост числа соревнований и физических нагрузок спортсменов требуют постоянного совершенствования процесса физической подготовки к спортивным состязаниям. Одним из наиболее распространённых путей повышения функциональных возможностей спортсменов является повышение объема и интенсивности физических нагрузок. Постоянное повышение объема физических нагрузок может отрицательно отразиться на функциональное состояние, рост спортивных результатов и привести к состоянию перетренированности. Вместе с тем, важное значение в повышении физической работоспособности, предотвращении преждевременного развития утомления и ускорении процессов восстановления может иметь использование антиоксидантов и их комплексов. Согласно современным представлениям, многие жизненно важные метаболические и физиологические процессы в организме тесно связаны с процессами свободно-радикального окисления, оказывающие отрицательное влияние на физическую работоспособность.

Следует отметить, что проживание человека в условиях современной, техногенной цивилизации, нарушение отношений между людьми и природой, неизбежно приводят к постоянному появлению стрессовых ситуаций, их накоплению, и в конечном счете к развитию патологических изменений в различных органах и системах [3,13,19]. Негативное влияние фактов окружающей среды, а также чрезмерная физическая нагрузка, стресс, переутомление сопровождаются увеличением образования свободных радикалов. Согласно предложенной классификации, большинство радикалов, образующихся в организме человека, можно разделить на природные и чужеродные [3].

Природные радикалы можно, в свою очередь, разделить на первичные (природные), вторичные (повреждающие) и третичные (ради-

калы антиоксиданты). Образование первичных радикалов осуществляются при участии определенных ферментативных систем. Эти радикалы выполняют полезные для организма функции. Из первичного радикала – супероксида, а также в результате других реакций в организме могут образоваться весьма активные молекулярные соединения: перекись водорода, гипохлорит и гидроперекись липидов. Под действием ионов Fe^{2+} из этих веществ образуются вторичные свободные радикалы, такие, как радикалы гидропоила и радикалы липидов, которые оказывают разрушительное действие на клеточные структуры.

При физических нагрузках в организме спортсменов усиливаются энергетические процессы, увеличивается количество транспортируемого в организм кислорода. Часть кислорода, переносимого клеточной мембраной, контактирует со структурными соединениями мембраны и окисляет их. В результате в клеточной мембране образуются частицы или радикалы, называемые свободными радикалами. Из-за затраченной энергии и неспаренных электронов такие частицы обладают способностью активно реагировать, извлекая электроны из ближайшего органического вещества, дополняя свою внешнюю электронную оболочку и превращая вещество, с которым они контактируют, в носитель свободных радикалов. В то же время он стимулирует цепное развитие реакций свободной радикализации. Следует отметить, что реакции перекисного окисления липидов ПОЛ, вызывающие свободную радикализацию в клетках, протекают постоянно и находятся под прямым контролем регуляторных систем [1,4,5,9,10]. В физиологических процессах продукты ПОЛ участвуют в регуляции функций биологических мембран и обновлении их химического состава [2,4,6,7,11].

Перекисное окисление липидов ПОЛ – это цепной химический процесс или цепная реакция, которая протекает в биологических мембранах с участием свободных радикалов. Попадая

в организм, любой свободный радикал (супероксидный радикал, синглетный кислород, пероксирадикалы, гидроксильные радикалы и др.) связывается с жирными кислотами, входящими в состав фосфолипидов. В основном источником перекисного окисления липидов служат ненасыщенные жирные кислоты. Эти кислоты окисляются и отдают электрон свободному радикалу, в свою очередь образуется свободный радикал жирной кислоты и та, в свою очередь забирает один электрон у другой жирной кислоты и запускается цепная реакция, которая вначале развивается медленно, но по мере вовлечения других молекул жирных кислот скорость реакции резко ускоряется. Теоретически данная реакция будет продолжаться до тех пор, пока не окислятся все жирные кислоты и другие липоиды, способные к окислению. В нормальных условиях этого не происходит, так как в организме существуют антиоксиданты, способные регулировать данные процессы, а систему с ферментами называют антиоксидантной системой. Исследования показали, что перекисное окисление липидов является основным адаптационным механизмом клетки. Этот процесс связан с биосинтезом клеточных регуляторов, за счет него происходит изменение проницаемости мембраны, он обуславливает многие патологические состояния. На сегодняшний день установлено, что перекисное окисление липидов является одним из механизмов регуляции клеточного метаболизма в физиологических условиях и, по-видимому, играет определенную роль при действии на живую систему разнообразных экстремальных агентов. В связи с этим ПОЛ широко используется в биохимических исследованиях для выявления последствий воздействия различных факторов окружающей среды на биологические системы [3, 4, 13, 14].

В физиологических условиях хорошо сбалансированы процессы образования и расходования перекисей окисление липидов протекает на определенном стационарном уровне. В результате в них сохраняется низкий уровень перекисей липидов. Этот баланс нарушается при патологических состояниях. При этом в тканях накапливаются перекиси, что приводит к необратимым повреждениям в мембранах и смерти клеток. Поэтому одним из универсальных механизмов повреждения и даже гибели клеток любых органов рассматривалась чрезмерная перекисидация мембранных структур, обусловленная усиленной выработкой активных форм кислорода [5,14,16,25].

Как уже отмечалось, активация ПОЛ считается причастной к нарушению самых разнообразных функций организма при патологиях и стрессах. В современной биохимии процессам ПОЛ придают значение универсального механизма патологии клеточных мембран. Продукты ПОЛ рассматриваются как биологические деструктивные факторы, накопление которых в организме индуцирует развитие стресс-синдрома. Вызванное повреждающим действием продуктов ПОЛ повышение проницаемости мембранных систем мышечных клеток, а именно мембран саркоплазматического ретикула, митохондрий, лизосом и мембран нервных клеток, может привести к очень серьезным негативным последствиям; к нарушению механизма запуска сокращения и расслабления, к нарушению аэробного синтеза АТФ, к деградации различных клеточных структур лизосомальными ферментами, к сбою в проведении нервных импульсов. Так что чрезмерная активация ПОЛ и происходящие в результате этого изменения в функциональном состоянии биологических мембран могут рассматриваться дезадаптационными факторами, приводящими к утомляемости мышц, снижению уровня физической работоспособности организма [1,15,16,19]

Основной целью настоящего исследования было изучение динамики влияния футбольных тренировок на сердечно-сосудистую, дыхательную и другие жизненно важные системы подростков, а также активности каталазы и α -амилазы в слюне.

Материалы и методика

Перекисное окисление липидов в клетках можно определять самыми разнообразными методами. Конечным этапом перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот является образование малонового диальдегида – короткоцепочного продукта жирных кислот. Этот продукт также определяется различными методами. Наиболее известным методом определения МДА является образование триметинового комплекса МДА – тиобарбитуровая кислота. Концентрацию МДА выражали в нмоль/мг белка. Количество белка определяли по методу Бредфорд.

Анализ интегральных показателей физической подготовленности футболистов-подростков, показателей специальной физической подготовки и специальной функциональной подготовки характеризует качество системы спортивной подготовки. Следует отметить, что физическая подготовка является одним из ос-

новых, ведущих средств подготовки спортсменов [8,18,20,21].

Достижение высоких результатов в спорте требует регуляции функциональных систем организма на разных уровнях. Это сопровождается симватным изменениями, отражающими особенности тренировочного процесса подростков.

Активность каталазы и α -амилазы в количестве продуктов ПОЛ определяли для изучения хода биохимических изменений в организме под влиянием физических нагрузок.

Состояние перекисного окисления липидов оценивали по количеству первичных (гидропероксид-диеновые конъюгаты) и вторичных (кетодиены и их ассоциированные триены) перекисных продуктов в гептан-изопропаноловых экстрактах воды для полости рта.

Первичные и вторичные продукты ПОЛ определяли по методике И. А. Волчегорского [7]. Ферменты каталазы и α -амилазы, которые являются антиоксидантными ферментами в воде для полости рта, а также продукты ПОЛ: гептан – (E232 / E 220), гептан – (E 278 / E 220), изопрапанол – (E232-E (232 / E 220), изопрапанол – (278 / E 220).

Определение активности каталазы (K.F.I.II.6.) проводили при длине волны $\lambda = 410$ нм для разложения пероксида водорода каталазой и поглощения света комплексом, образованным пероксидом водорода с молибдатом аммония. Для этого 25 мкл гомогената жидкости для полоскания полости рта смешивали с 2 мл 0,03% перекиси водорода. Через 10 минут добавляли 2 мл 2% раствора молибдата аммония, чтобы остановить реакцию. Параллельно проводили контрольный эксперимент без присутствия фермента. Используя значение молярной постоянной комплекса $22,2 \times 10^3$ см⁻¹ (Мамантова Н.С., Белобородова Е.И., Тюкалова Л.И., 1994, по методике), рассчитывалась активность фермента по разнице оптической плотности результатов контрольных и экспериментальных исследований. Результаты исследования обработаны с использованием метода вариационной статистики – t-критерия Стьюдента. Также использовался общепринятый метод математической статистики.

Результаты и их обсуждение

Под действием физических нагрузок интенсивность перекисных процессов усиливается. При этом определяющим является не столько уровень перекисного окисления липидов, но и

состояние системы перекисного окисления липидов – антиоксиданты в организме определяющей возможности развития дезадаптационных расстройств. У футболистов-подростков оценивали состояние системы перекисного окисления липидов – антиоксиданты (АО – ПОЛ) на различных этапах годового цикла. Было установлено что у футболистов-подростков уровень малонового диальдегида (МДА) и активность каталазы в плазме и эритроцитах периферической крови, отличается от не занимающихся спортом, того же возраста. Соотношение ПОЛ – АО систем в плазме и эритроцитах периферической крови у футболистов-подростков может меняться в зависимости от индивидуального состояния организма и степени интенсивности тренированного и соревновательных процессов.

Возможность возникновения оксидативного стресса у спортсменов в соревновательном периоде связана с глубоким эмоциональным и мышечным напряжением и может являться звеном в патогенезе самых различных патологических состояний. Надо отметить что при любой физической нагрузке потребление кислорода в органах возрастает в несколько раз и зависит от интенсивности и длительности нагрузки. Соответственно повышается уровень свободно радикальных процессов в тканях. Усиленное образование продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в организме при мышечной нагрузке может свидетельствовать о снижении активности антиоксидантной системы (АОС). Соотношение этих двух процессов в организме во многом определяет структуру и функции биологических мембран. Многочисленные литературные данные свидетельствуют об активации процессов ПОЛ при интенсивной мышечной работе. Интенсивность мышечной деятельности может часто и многократно меняться, что приводит к несоответствию между продолжающимся увеличенным поступлением кислорода и снижением его потребления митохондриями мышц. Такое несоответствие вызывает относительную гипероксию в мышечной ткани, что может привести к избыточному образованию активных форм кислорода и активации свободно радикального окисления.

Многочисленные исследования показывают, что при гипероксии угнетается рост и деление клеток, сокращается продолжительность жизни, увеличение антиоксидантных ферментов способствует повышению выживаемости в условиях окислительного стресса. При физической нагрузке факт активации ПОЛ не вызывает со-

мнений. Этот процесс, являющаяся неспецифическим ответом на нарушение кровоснабжения органов и тканей, служит важнейшим звеном в патогенезе самых различных заболеваний. Интенсивная физическая работа, протекающая в условиях неравномерного снабжения организма кислородом и выполняемая при предельной мобилизации всех систем организма, сопровождается существенной активацией СРО липидов. Есть предположение, что система ПОЛ-АО регулирует локальный уровень окислительно-восстановительного потенциала в мышцах, необходимых для функционирования белков, ответственных за связь между возбуждением и сокращением. Кроме того, известно, что продукты СРО выполняют иммунно-модулирующие функции. Сбалансированные состояния между АОС и проокислительными системами в здоровом организме обеспечивает сохранение нормального метаболического фона, необходимого для функциональной активности клеток.

Индикатором усиления ПОЛ является увеличение содержания хотя бы одного из его продуктов. Конечным продуктом деградации жирных кислот ПОЛ является малоновый диальдегид (МДА), его повышение является методом раннего выявления метаболических нарушений в организме, даже на доклинической стадии заболевания. Малоновый диальдегид является очень активным химическим веществом, который своими альдегидными группами способен взаимодействовать с аминокеттогруппами белков, вызывая их в необратимую реакцию.

В данной статье нами представлены результаты экспериментов по изучению каталазной и α -амилазной активности в слюне футболистов-подростков и подростков, не занимающихся футболом до и после тренировок.

Каталаза, относящаяся к анти-оксидантой защите, проявляет свою активность и во внеклеточной среде, основная его роль-детоксикации образующийся в перекиси водорода, что необходимо для защиты митохондрий. В клетках каталазы сосредоточено в основном в пероксисомах, в которых содержится и ферменты, продуцирующие перекись водорода, необходимые, в частности, в процессах неспецифической иммунной защиты.

Надо отметить, что активация симпатоадреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем под действием факторов внешней среды (а также физических нагрузок) увеличивает уровень ПОЛ [3,8,10]. В ответ на

физическую нагрузку стрессовая реакция сопровождается активацией различных типов стресс-лимитирующих систем. Метаболиты, ограничивающие стресс, включают классические гормоны, нейротрансмиттеры и различные ферменты (супероксиддисмутазу, каталазу, α -амилазу). Каталаза немедленно снижает количество радикалов в крови, выполняет защитную функцию, расщепляя перекись водорода и предотвращая ее накопление в крови [1,4,5,7,11].

Сравнительный анализ результатов неинвазивного биохимического анализа пероральной воды у спортсменов-подростков и не спортсменов показал, что первичные и вторичные липоксидные продукты, растворимые в гептане (ПОЛ-гептан-1 и ПОЛ-гептан-2), были достоверными ($p \leq 0,05$). Если у детей 10-11 лет он был разным (гептан у спортсменов-подростков – 1 на 10,9%; гептан на 2 и 17,9% выше, чем у не спортсменов), то во всех остальных группах продукты ПОЛ, растворимые в гептане, достоверно не дифференцировались. Это можно объяснить тем, что продукты ПОЛ собираются на ранних этапах физических тренировок против воздействия физических нагрузок. Первичные и растворимые в изопропанол продукты ПОЛ (ПОЛ-изопропанол – 1) были достоверно ($p \leq 0,05$) на 23,1% выше у спортсменов в возрасте 10–11 лет, чем у не спортсменов; Изопропанол-1 достоверно ($p \leq 0,05$) был выше у не спортсменов в возрасте 12–13 лет; Было обнаружено, что изопропанол был на 6,1% выше у 14-15-летних футболистов, чем у не спортсменов. Продукты перекисного окисления липидов, растворимых во вторичном изопропанол (ПОЛ-изопропанол-2), достоверно не различались ни в одной из исследуемых групп подростков. Футбольные тренировки также влияют на динамику активности каталазы и α -амилазы в слюне подростков. Как антиоксидантный фермент, каталаза катализирует расщепление перекиси водорода, выполняет очень важную функцию в крови. Сравнительный анализ активности перорального фермента каталазы у спортсменов-подростков и их сверстников, не занимающихся спортом, показал, что активность ферментов была на 2,2% выше у 12-13-летних и на 9% выше у 14-15-летних, чем у не спортсменов.

Активность фермента α -амилаза на 2,3% выше у 12-13-летних футболистов и на 1,7% выше у 14-15-летних по сравнению с не спортсменами.

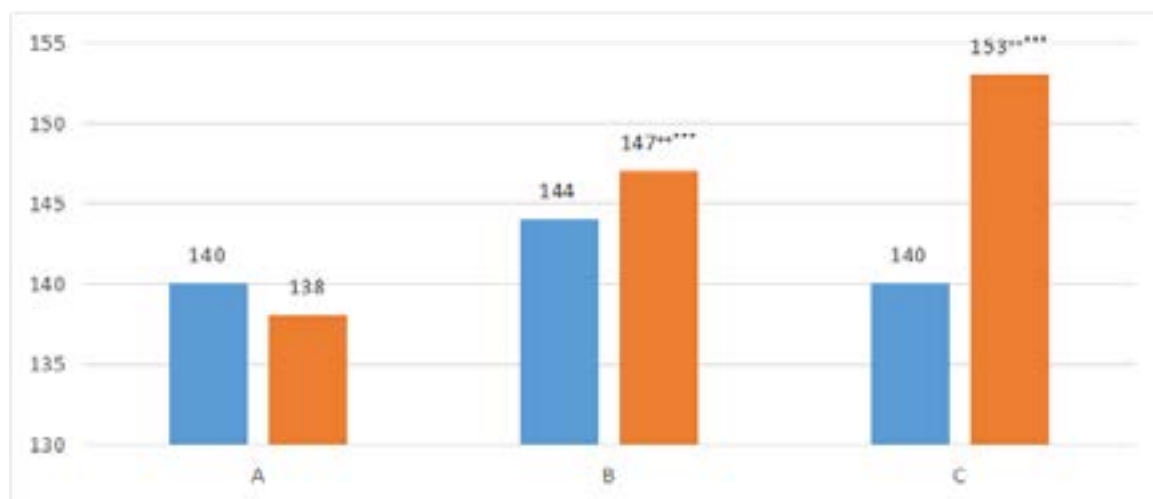
Таблица 1 – Показатели биохимического анализа слюны футболистов-подростков и детей, не занимающихся спортом ($M \pm m$)

Показатели биохимического анализа	I КГ (n=12)	II ЭГ (n=16)	II КГ (n=12)	II ЭГ (n=15)	III КГ (n=12)	III ЭГ (n=12)
Продукт ПОЛ, гептан – I	0,172 ± 0,030 100%	0,190 ± 0,016 ⁺ 100%	0,183 ± 0,027 107,2%	0,184 ± 0,020 97%	0,179 ± 0,011 105,9%	0,181 ± 0,011 107,1%
Продукт ПОЛ, гептан – 2	0,120 ± 0,095 100%	0,144 ± 0,060 ⁺ 100%	0,124 ± 0,027 102,4%	0,138 ± 0,035 100%	0,128 ± 0,035 100%	0,134 ± 0,032 100%
Продукт ПОЛ, изопропанол – I	0,450 ± 0,032 100%	0,560 ± 0,025 ⁺⁺ 100%	0,514 ± 0,060 115%	0,547 ± 0,016 ⁺	0,516 ± 0,077 100%	0,542 ± 0,022 ⁺ 100%
Продукт ПОЛ, изопропанол – 2	0,310 ± 0,045 100%	0,311 ± 0,072 100%	0,313 ± 0,024 100%	0,313 ± 0,014 100%	0,325 ± 0,98 100%	0,305 ± 0,35 98%
Каталаза, Н моль/мг/мин	140 ± 320 100%	138,97 ± 2,20 100%	144,94 ± 0,035 103%	147,39 ± 20,50 ⁺⁺⁺ 106%	140,45 ± 1,46 101%	153,68 ⁺⁺⁺ ± 2,30 107%
А – амилаза, Н моль/мг/мин	455 ± 2,60 100%	456,95 ± 1,65 100%	451,36 ± 2,10 98,5%	462,45 ⁺⁺⁺ ±	459,99 ± 2,23 100,5%	466,97 ± 102,2% ⁺⁺⁺

Примечание: ⁺- $p \leq 0,05$, ⁺⁺- $p \leq 0,01$ – достоверные изменения у спортсменов по сравнению с контрольной группой. ⁺- $p \leq 0,05$, ⁺⁺- $p \leq 0,01$ – достоверные изменения по группе I.

Анализ изменения активности антиоксидантного фермента каталазы у футболистов-подростков показал, что у футболистов 10-11 лет адаптационные реакции на физические нагрузки оказываются поэтапными в системе антиоксидантной защиты. Достоверное повышение

активности ферментов каталазы и α -амилазы ($p \leq 0,05$) наблюдалось у спортсменов 12-13 лет по сравнению с не спортсменами и составило около 3,7%. Такая достоверная динамика роста наблюдалась и у подростков 14-15 лет и составила 6,9% (рисунки 1 и 2).



Ось ординат: параметры фермента каталазы, нмоль / мг / мин;

Ось абсцисс: А – I группа, 10-11-летние дети, 1 – контрольная и 2 – спортсмены; Б – II группа, 12-13-летние, 1 – контрольная и 2 – спортсмены; В – III группа, 14-15-летние, 1 – контрольная и 2 – спортсмены.

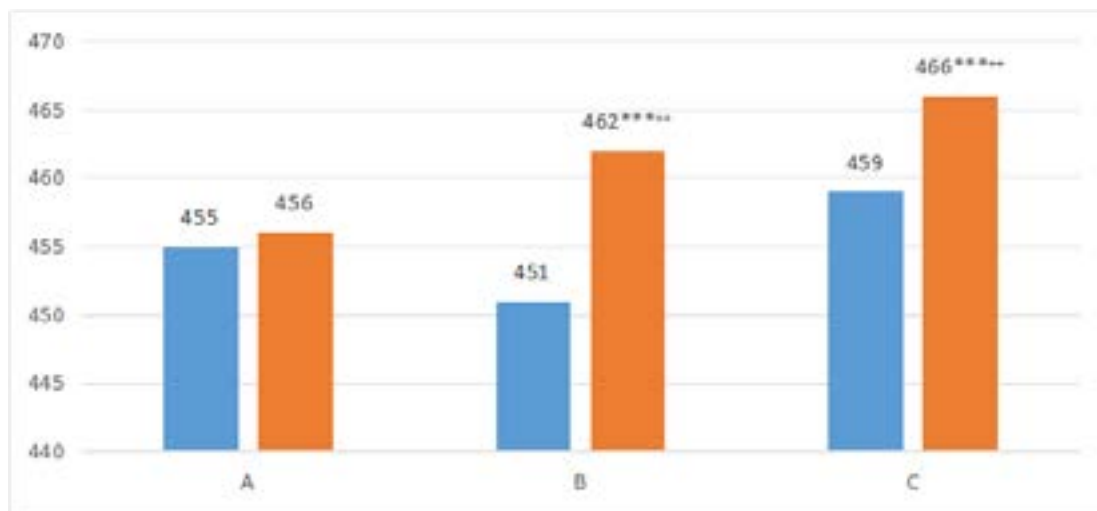
Примечание: ^{***} – $p \leq 0,001$ – достоверность по сравнению со спортсменами I группы;

⁺⁺- $p \leq 0,001$ – достоверные изменения по сравнению с показателями контрольной группы.

Рисунок 1 – Показатели активности фермента каталазы у спортсменов футболистов-подростков и детей не занимающихся спортом.

Биохимическая адаптация организма к мышечной активности в процессе тренировки распространяется на все функциональные системы, отвечающие за двигательную активность, и этот эффект не выходит за рамки системы антиоксидантной защиты. Основные механизмы адаптив-

ных изменений в этих системах идентичны биохимии адаптивных изменений в мышцах. В основном это метаболиты, которые обеспечивают кислородом энергетические процессы, которые усиливаются во время мышечной активности и образуются в результате окисления [3,4,8].



Ось ординат: показатели фермента α -амилазы в слюне, нмоль / мг / мин.
 Ось абсцисс: А – I группа, 10-11-летние дети, 1 – контрольная и 2 – спортсмены;
 Б – II группа, подростки 12-13 лет, 1 – контрольная и 2 – футболисты;
 В – III группа, подростковые футболисты 14-15 лет, 1 – контрольная и 2 – спортсмены.
 Примечание: *** – $p \leq 0,001$ – достоверные различия по сравнению с группой I;
 ++- $p \leq 0,001$ – достоверные различия между результатами спортсменов и не спортсменов.

Рисунок 2 – Показатели активности фермента α -амилазы в слюне у футболистов-подростков и детей, не занимающихся спортом.

Заключение

Таким образом, анализ биохимических показателей слюны футболистов-подростков показал, что количество первичных и вторичных продуктов ПОЛ существенно не уменьшилось. Это сделало реакции на окислительный стресс, вызванный физическими нагрузками, более эффективными. Кроме того, повышенная активность фермента каталазы подтверждает

усиление антиоксидантной части неспецифической защиты в организме футболистов-подростков. Положительные адаптационные изменения происходят из-за стрессовых воздействий физических нагрузок. Следует отметить, что положительные изменения, достигнутые в тренировочном процессе с футболистами, направлены на адаптацию антиоксидантной системы в их организме к тренировочной нагрузке.

Литература

- 1 Алиев, И.С., Мамедъяров, Г.М., Алиев, С.А. Влияние антиоксидантов на физическую работоспособность спортсменов. // Azərbaycan Fizioloqlarının A.İ.Qarayev adına Fiziologiya İnstitutunun 50-illiyinə həsr edilmiş V Qurultayının materialları 2017 s.196-197
- 2 Алиев, И.С., Алиев, С.А., Ибрагимли А.М. Аэробная работоспособность квалифицированных футболистов, играющих в различных позициях на футбольном поле. Украина. Материалы Международной научно-практической конференции 23 ноября 2018, Переяслав-Хмельницкий 2018, с.8-17
- 3 Алиев, С.А. Исследование адаптации функционального состояния кардиореспираторной системы 13-15-летних футболистов к физическим нагрузкам. / И.С.Алиев, С.С.Алибекова, А.М.Гаджиев //Сборник конференции «Здоровье нации и усовершенствование физкультурно-спортивного образования» 3-4 октября 2019, город Харьков, Украина.с.64-67

- 4 Алиев, И.С., Гаджиев, А.М., Алибекова, С.С Анализ особенности динамики физиологических показателей подростков в процессе футбольных занятий. // Евразийский Союз Ученых Россия, г. Москва – 2019. Международной научно-исследовательский журнал 12/69. Выпуск том №2, с. 4-9.
- 5 Варюшин, В.В. Подготовка юных футболистов: учебное пособие /В.В. Варюшин. – М.: ФОН, 2008. – 75 с.
- 6 Владимиров, Н.А. Свободнорадикальные окисления липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран Биофизика, – 2000, Т.32 №5 с.827
- 7 Волчегорский, И.А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в чектап изопропанольных экстрактов крови // Вопросы мед. химин -1989, № 1. – С. 127-131.
- 8 Гаджиев, А.М., Алиев, С.А., Гасанова, А.К., Рзаев, З.Б. Изучение супероксиддисмутазной активности скелетных мышц при физических нагрузках организма // ISSN – 0321 – 1665, Известия Национальной Академии Наук Грузии, – 2016 – №5-6. – С. 223-230.
- 9 Павлова, В.И. Соотношение объема аэробной и анаэробной тренировочной нагрузки в соответствии со специфической энергетических аспектов работоспособности в ациклических видах спорта //ГПФК. – 2002. – №10. – С. 53 – 54
- 10 Фомин, Н.А. Адаптация: общебиологические и психофизиологические основы /Н.А. Фомин. – М.: Теория и практика физической культуры, 2003. – 383 с.
- 11 Atalay, M., Sen, C.K. Physical exercise and antioksidant defenses in the heart //Ann. N.Y. Acad.Sci. – 1999, № 874. – p.169 – 177.
- 12 Sen, C.K. Oxidant and antioxidants in exercise // J. Appl. Physiol. – 1995. – v. 79. – № 3. – p.675 – 686.
- 13 Alessio, H.M. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. J. Appl. Physiol. 1988. – v.64 (4). p.1333 – 1336.
- 14 Alessio, H.M. Exercisa-in- duced oxidative stress // Med. Sci Sport Exers-1993-Vol 25№2- p. 218-224.
- 15 Astrand, P. – O. Do we need physical conditioning? /P.-O.Astrang// J. Physical Educat. – 1972, march – april. – p.129 – 136.
- 16 Atalay, M., Sen, C.K. Physical exercise and antioksidant defenses in the heart //Ann. N.Y.Acad.Sci. – 1999, № 874. – p.169 – 177.
- 17 Chess, G.F. Influence of cardiac neural inputs on rhythmic, variations of heart period in cat /G.F. Chess, R.M. Tarn, F.R. Carlarcsu// Am. J. Physiol/ – 1975. – vol.228, № 3. – p.775.
- 18 Effects of aerobic exercise training on 24 hr profile of heart rate variability in female athletes /F. Pigozzi [et al.] //Sports Med Phys Fitness. – 2001. – № 41 (1). – p.101 – 107.
- 19 Reddy – Avula, C.P. Modulation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in salivary gland and other tissues in mice by moderate treadmill exercise // Aging Milano. – 1999. – v. II. – № 4. – p.246 – 252.
- 20 Sen, C.K. Oxidant and antioxidants in exercise // J. Appl. Physiol. – 1995. – v. 79. – № 3. – p.675 – 686.
- 21 Sjodin, B., Westing, Y.H., Apple F.S. Biochemical mechanizms for oxygen free radial formation during exercise // Sports Med. – 1990. – v. 10. – p.236 – 254.
- 22 Stoney, C.M., R.Niaara, L.Bausserman. “Temporal stability ol lipid Respony to Acute psychological stress in Middle – Aged Men”, Psychophysiology 34. – 1997. – p.285 – 291.
- 23 Stoney, C.M. Lipid Reactivity to stress: II. Biological and Behavioqal Influences, Health psychology, 1999 – p. 251-261.
- 24 Venditi, P., Di Mio S. Antioxidants tissue damage and endurance in trained and untrained young male rats // Arch. Biochem. Biophys. – 1996. – v. 331. – № 1. – p.63 – 68.
- 25 Алиев С.А., Гасанова А.К., Алибекова С.С., Бехбутова Г.М. Механизмы антиоксидантной адаптации скелетных мышц // Научный альманах. – 2016. №2(26) стр.332-339.

References

- 1 Aliiev, I.S, Mamed «yarov, G.M., Aliiev, S.A. Vliyanie antioksidantov na fizicheskuyu rabotosposobnost' sportsmenov. // Azərbaycan Fizioloqlarının A.İ.Qarayev adına Fiziologiya İnstitutunun 50-illiyinə həsr edilmiş V Qurultayının materialları 2017 s.196-197
- 2 Aliiev, I.S, Aliiev, S.A., Ibragimli A.M. Aerobnaya rabotosposobnost' kvalificirovannyh futbolistov, igrayushchih v razlichnyh poziciyah na futbol'nom pole. Ukraina. Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii 23 noyabrya 2018, Pereyaslav-Hmel'nickij 2018, c.8-17
- 3 Aliiev, S.A. Issledovanie adaptacii funkcional'nogo sostoyaniya kardiorespiratornoj sistemy 13-15-letnih futbolistov k fizicheskim nagruzkam./ I.S.Aliiev, S.S.Alibekova, A.M.Gadzhiev //Sbornik konferencii «Zdorov'e nacji i usovershenstvovanie fizkul'turno-sportivnogo obrazovaniya» 3-4 oktyabrya 2019, gorod Har'kov, Ukraina.c.64-67
- 4 Aliiev, I.S., Gadzhiev, A.M., Alibekova, S.S Analiz osobennosti dinamiki fiziologicheskikh pokazatelej podrostkov v processe futbol'nyh zanyatij. // Evrazijskij Soyuz Uchenyh Rossiya, g. Moskva – 2019. Mezhdunarodnoj nauchno-issledovatel'skij zhurnal 12/69. Vypusk tom №2, s. 4-9.
- 5 Aliiev S.A., Gasanova A.K., Alibekova S.S., Bekhbutova G.M. Mekhanizmy antioksidantnoj adaptacii skeletnyh myshe. Nauchnyj al'manah 2016. №2(26) str.332-339.
- 6 Atalay, M., Sen, C.K. Physical exercise and antioksidant defenses in the heart //Ann. N.Y.Acad.Sci. – 1999, № 874. – p.169 – 177.
- 7 Alessio, H.M. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. J. Appl. Physiol. 1988. – v.64 (4). p.1333 – 1336.

- 8 Alessio, H.M. Exercisa-in- duced oxidative stress // *Med. Sci Sport Exers*-1993-Vol 25№2- p. 218-224.
- 9 Astrand, P. – O. Do we need physical conditioning? /P.-O.Astrang// *J. Physical Educat.* – 1972, march – april. – p.129 – 136.
- 10 Chess, G.F. Influence of cardiac neural inputs on rhythmic, variations of heart period in cat /G.F.Chess, R.M.Tam, F.R.Carlarcsu// *Am. J. Physiol/* – 1975. – vol.228, № 3. – p.775.
- 11 Effects of aerobic exercise training on 24 hr profile of heart rate variability in female athletes /F. Pigozzi [et al.] // *Sports Med Phys Fitness.* – 2001. – № 41 (1). – p.101 – 107.
- 12 Fomin, N.A. Adaptaciya: obshchebiologicheskie i psihofiziologicheskie osnovy /N.A.Fomin. – M.: Teoriya i praktika fizicheskoy kul'tury, 2003. – 383 s.
- 13 Gadzhiev, A.M., Aliev, S.A., Gasanova, A.K., Rzaev, Z.B. Izuchenie superoksiddismutaznoj aktivnosti skeletnyh myshc pri fizicheskikh nagruzkah organizma / ISSN – 0321 – 1665, *Izvestiya Nacional'noj Akademii Nauk Gruzii*, – 2016 – №5-6, s. 223-230.
- 14 Pavlova, V.I. Sootnoshenie ob»ema aerobnoj i anaerobnoj trenirovochnoj nagruzki v sootvetstvii so specifikoj energeticheskikh aspektov rabotosposobnosti v aciklicheskih vidah sporta //GPFK. – 2002. – №10. – s.53 – 54
- 15 Reddy – Avula, C.P. Modulation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in salivary gland and other tissues in mice by moderate treadmill exercise // *Aging Milano.* – 1999. – v. II. – № 4. – p.246 – 252.
- 16 SHahanov A.V. Vliyanie sportivnyh fizicheskikh nagruzok na ontogeneticheskoe razvitie, adaptivnye vozmozhnosti, funkcional'nuyu i psihologicheskuyu podgotovlennost' organizma yunyh sportsmenov 9-17 let v usloviyah razlichnyh specializacij (futbol, gandbol, basketbol, dzyudo, sambo, velosport). Otchet, 2012.
- 17 Sen, C.K. Oxidant and antioxidants in exercise // *J. Appl. Physiol.* – 1995. – v. 79. – № 3. – p.675 – 686.
- 18 Sen, C.K. Oxidant and antioxidants in exercise // *J. Appl. Physiol.* – 1995. – v. 79. – № 3. – p.675 – 686.
- 19 Sjodin, B., Westing, Y.H., Apple F.S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise // *Sports Med.* – 1990. – v. 10. – p.236 – 254.
- 20 Stoney, C.M., R.Niaara, L.Bausserman. “Temporal stability of lipid Respony to Acute psychogical stress in Middle – Aged Men”, *Psychophysiology* 34. – 1997. – p.285 – 291.
- 21 Stoney, C.M. Lipid Reactivity to stress: II.Biological and Behavioqal Influences, *Health psychology*, 1999 – p. 251-261.
- 22 Varyushin, V.V. Podgotovka yunyh futbolistov: uchebnoe posobie /V.V.Varyushin. – M.: FON, 2008. – 75 s.
- 23 Vladimirov, N.A. Svobodnoradinal'nye okisleniya lipidov i fizicheskie svojstva lipidnogo sloya biologicheskikh membran *Biofizika*, – 2000, T.32 №5 s.827
- 24 Volchegorskij, I.A. Sopostovlenie razlichnyh podhodov k opredeleniyu produktov perekisnogo okisleniya lipidov v chektrap izopropanol'nyh zkstraktov krovi // *Voprosy med. Himin* -1989, № 1.s 127-131.
- 25 Venditi, P., Di Mio S. Antioxidants tissue damage and endurance in trained and untrained young male rats // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1996. – v. 331. – № 1. – p.63 – 68.

A.V. Kim^{1,2*}, M.P. Yakhyarova²,
B.B. Kassenova², A.M. Kalimagambetov¹

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²LLP «Centre ECO», Kazakhstan, Almaty

*e-mail: alyena982401@gmail.com

EFFICACY OF USING CULTURE MEDIA IN ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY PROGRAMS

One of the steps to successfully solve the problem of human infertility is the development and improvement of culture media used for the cultivation of embryos in ART programs. In the past, significant progress has been made in this direction – single-step and two-step culture media have been developed. Both media are widely used in practice to improve the efficiency of individual ART results. The aim of this work was to determine the effectiveness in usage of commercial culture media (Continuous Single Culture Irvine and Origio Sequential Cleav/Blast) in IVF and ICSI programs. A comparative analysis of their impact on embryo quality, fertilization and pregnancy outcomes in IVF and ICSI programs at the Embryology Laboratory of LLP “Centre ECO” in 2017–2021 was conducted. 2650 programs took place, of which 760 programs accounted for IVF and 1890 programs for ICSI. The results of the analysis revealed no significant differences in the use of the above-mentioned media to obtain good quality blastocysts in the IVF program. The usage of the studied culture media showed a higher level of obtaining blastocysts of optimal quality in the ICSI programs when cultured in single-step medium compared to sequential medium. The difference between the two relative values was statistically significant ($t = 8.08$; $p < 0.001$). Comparative analysis of the results of embryo cultivation in different nutrient media allow us to conclude that both single-step and sequential culture media, equally contribute to the quality development of blastocysts and demonstrate positive clinical results. Program efficacy based on the factor of ART program ending in pregnancy using CSC Irvine nutrient media was 46.44% for IVF, and 41.42% for ICSI. Culturing embryos in Origio Sequential Cleav/Blast medium in IVF programs showed pregnancy outcomes at 49.51%, in ICSI programs – 42.85%.

Key words: infertility, embryo, culture/nutrient medium, IVF, ICSI.

A. В. Ким^{1,2*}, М. П. Яхьярова², Б. Б. Касенова², А. М. Калимагамбетов¹

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

²ЖШС “ЭКО ОРТАЛЫҒЫ”, Қазақстан, Алматы қ.

*e-mail: alyena982401@gmail.com

Көмекші репродуктивті технологиялар бағдарламаларында қоректік орталарды қолданудың тиімділігі

Ерлі-зайыптылардың бедеулігінің мәселесін шешудегі табысты кезеңдердің бірі болып көмекші репродуктивті технологиялар (КРТ) бағдарламалары аясында эмбриондарды культивирлеуде пайдаланылатын қоректік орталарды әзірлеу және жетілдіру болып табылады. Соңғы онжылдықтарда бұл бағытта айтарлықтай прогресс орын алды – бір сатылы және екі сатылы қоректік орталар әзірленді. Сәтті өткен жеке КРТ нәтижелерінің деңгейін арттыру үшін тәжірибеде екі қоректік орта да қолданылады. Бұл жұмыстың мақсаты IVF және ICSI бағдарламаларында коммерциялық қоректік орталарды (бір сатылы орта Continuous Single Culture Irvine және екі сатылы орта Origio Sequential Cleav/Blast) қолданудың тиімділігін анықтау болды. ЖШС “ЭКО ОРТАЛЫҒЫ” эмбриология зертханасының базасы аясында 2017–2021 жылдар аралығындағы IVF және ICSI бағдарламаларында бұл қоректік орталардың эмбриондардың сапасына, ұрықтандыру нәтижелеріне, жүктіліктің басталуына әсері жайлы салыстырмалы талдау жүргізілді. Барлығы 2650 бағдарлама жүргізілді, олардың ішінде 760 бағдарлама IVF-тың үлесі, ал 1890 бағдарламасы ICSI-дің үлесі болды. Талдау нәтижелері IVF бағдарламасында жақсы сапалы бластоцисталарды алу үшін аталған қоректік орталарды қолдануы статистикалық маңызды айырмашылықтарды көрсеткен жоқ. ICSI бағдарламасында зерттелген қоректік орталарды қолдануы оңтайлы сапалы эмбриондарды алуда бір сатылы ортаны қолдану екі сатылы ортаны қолдануға қарағанда айтарлықтай жоғары деңгейді көрсетті. Осы екі салыстырмалы шаманың айырмашылығы статистикалық маңызды болды ($t = 8,14$; $p < 0,001$). Эмбриондарды

қоректік орталарды өсірудің нәтижелерін салыстырмалы талдауда келесі қорытынды жасауға мүмкіндік береді: бір сатылы CSC Irvine және екі сатылы Origio Sequential Cleav/Blast қоректік орталар бластоцисталардың сапалы дамуына бірдей деңгейде әсер етті және оң клиникалық нәтижелер көрсетті. Жүктіліктің басталуы критерийі бойынша IVF жүргізгенде CSC Irvine қоректік ортасын қолданған бағдарламалардың нәтижелілігі 46,44%, ал ICSI жүргізгенде 41,42% құрады. Жүктіліктің басталуы критерийі бойынша эмбриондарды Origio Sequential Cleav/Blast қоректік ортасында өсіргенде IVF бағдарламасының нәтижелілігі 49,51%, ал ICSI бағдарламалардың нәтижелілігі 42,85% құрады.

Түйін сөздер: бедеулік, бластоцист, қоректік орта, IVF, ICSI.

А.В. Ким^{1,2*}, М.П. Яхъярова², Б.Б. Касенова², А.М. Калимагамбетов¹

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

²ТОО «Центр ЭКО», Казахстан, г. Алматы

*e-mail: alyena982401@gmail.com

Результативность использования культуральных сред в программах вспомогательных репродуктивных технологий

Одним из этапов успешного решения проблемы бесплодия супружеских пар является разработка и совершенствование питательных сред, применяемых для культивирования эмбрионов в программах ВРТ. За последние десятилетия был достигнут значительный прогресс в этом направлении – были разработаны одноступенчатые и двуступенчатые питательные среды. Для повышения уровня успешности индивидуальных результатов ВРТ на практике широко используются обе среды. Целью данной работы явилось определение результативности использования коммерческих культуральных сред (одноступенчатая среда Continuous Single Culture Irvine и последовательная среда Origio Sequential Cleav/Blast) в программах ЭКО и ИКСИ. Проведен сравнительный анализ их влияния на качество эмбрионов, результаты оплодотворения и наступления беременности в программах ЭКО и ИКСИ на базе лаборатории эмбриологии ТОО «Центр ЭКО» за период с 2017 по 2021 год. Всего было проведено 2650 программ, из которых 760 программ приходятся на долю ЭКО, а 1890 программ – на долю ИКСИ. Результаты анализа не выявили статистически значимых различий при использовании указанных питательных сред для получения бластоцист хорошего качества в программе ЭКО. Использование изучаемых культуральных сред в программе ИКСИ показала более высокий уровень получения бластоцист оптимального качества при культивировании в одноступенчатой среде по сравнению с культивированием в двуступенчатой среде. Разность двух относительных величин статистически достоверна ($t=8,14$; $p<0,001$). Сравнительный анализ результатов культивирования эмбрионов в питательных средах: CSC Irvine и Origio Sequential Cleav/Blast позволяют сделать вывод о том, что обе питательные среды, как одноступенчатая так и последовательная в равной степени способствуют качественному развитию бластоцист и демонстрируют положительные клинические результаты. Результативность программ по критерию наступления беременности с использованием питательной среды CSC Irvine составила при проведении ЭКО 46,44%, при ИКСИ – 41,42%. Культивирование эмбрионов в питательной среде Origio Sequential Cleav/Blast в программах ЭКО показало результативность по критерию наступления беременности на уровне 49,51%, в программах ИКСИ – 42,85%.

Ключевые слова: бесплодие, бластоциста, питательная среда, ЭКО, ИКСИ.

Abbreviations

ART – assisted reproductive technologies; IVF – *in vitro* fertilization; ICSI – intracytoplasmic sperm injection; TVOR – transvaginal oocyte retrieval.

Introduction

In modern society, infertility is an urgent medical and social problem. According to WHO, the number of couples who face the problem of infertility ranges from 8 to 29%. In European countries, almost 10%

of married couples are infertile, in America this value reaches 8-15%, in Canada – 17%, in Australia – 15.4% [1, 2]. The rate of infertile marriages in Russia appears at 17.5%, and in Kazakhstan – 15% and it does not tend to decrease [3, 4, 5].

Various female and male factors may be involved in the etiology of infertility, so it is extremely difficult to calculate the overall rate of infertility for the entire population. The team of authors of the Scientific Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after V.I. Kulakov has discovered that the rate of infertility caused by disorders of the female reproductive system is 42.6-65.3%, appearance of

infertility due to the fertility issues of both spouses made up 27.7-48.4%, but in some cases the cause of infertility remains unclear. In respect to these global trends, there remains a need to improve the health of the reproductive system and assisted reproductive technologies around the world, and in Kazakhstan in particular [6]. Regarding this, the urgent task of modern biological medicine is to improve the methods of ART [6, 7, 8].

The regulation of any ART program obligates to cultivate embryos in artificial conditions, which are as close to natural ones as possible, for the first 5-7 days after fertilization. The success of the cultivation stage depends primarily on the quality and quantity of eggs and semen samples. At the same time, the quality, pH, temperature, etc. of the media are of significant importance [9, 10]. Therefore, culture (nutrient) media are a main part of the cultivation system. They perform the crucial task of minimizing stress on gametes and embryos by creating an optimal *in vitro* environment, ensuring the correct balance of ions, energy substrates and other components [11, 12].

An important achievement in reproductive technology is the development of two-step nutrient media. Composition of two-step media is very similar. The embryo is cultured in the first-step medium until day 2 after fertilization, and then cultivated in the second-step medium from day 3 to day 5 of development. It was believed that this method of embryo cultivation finely imitated natural changing conditions of the environment [11, 13, 14].

Later, single-step culture media, which were suitable for both early and late stages of embryo development, were invented. The advantage of such nutrient media is that there is less manipulation involving embryos, thereby minimizing environmental stress and the possibility of damage [10, 11].

Currently, technologies of *in vitro* fertilization, culturing of embryos and embryo transfer are in wide demand worldwide. Scientists all over the world, together with IVF laboratories, have been experimenting with different conditions while cultivating human embryos, modifying culture media, setting incubators with the use of different methods of gas supply and pH control for many years. All of these aspects are very important in the selection of good quality embryos, their transfer and the further course of pregnancy, since the goal of every IVF center is to improve its efficiency [14, 15, 16].

The purpose of this work was to study the effectiveness of the use a single-step nutrient medium

CSC Irvine and a two-step Origio Sequential Cleav/Blast medium in IVF and ICSI programs used in the laboratory of embryology LLP "Centre ECO", Almaty.

Materials and methods

Embryos were cultured in Labotect (Germany) and ESCO Miri plate incubators up to 5-6 days using Continuous Single Culture media (Irvine Scientific, USA) and Origio Sequential Cleav/Blast (Origio, Denmark). Embryos in CSC Irvine medium were cultured from day 1 to day 5, without changing the medium. Embryos cultured in Origio Sequential Cleav/Blast medium needed a medium change on day 2 of development (stage 4-8 blastomeres). The evaluation of fertilization and cleavage was carried out on days 1, 3, 5 and 6 (in the case of the presence of embryos up to 6 days).

Features of normal fertilization (after 16-18 hours after fertilization) during the evaluation process include the presence of 2 pronuclei and 2 polar bodies. Normal fertilization was brought into account. Embryos with abnormal fertilization (3 pronuclei, no fertilization, etc.) were excluded from further cultivation [6].

Evaluation on the 3rd day after fertilization included the degree of embryo cleavage. During this step the number and morphology of blastomeres were assessed: equality, sphericity, as well as presence of fragmentation, multinucleation, and vacuoles. Non-developing embryos, as well as embryos with >50% fragmentation and multinucleation were excluded from further cultivation. In some cases, embryos were transferred on the 3rd day in agreement with the treating doctor [6].

On day 5 (after 115-117 hours after fertilization), the embryos completed the compactization processes and reached the blastocyst stage. *The Gardner et al and Sclarshiffts* classification was used to evaluate the quality of blastocysts of the 5th day of development [6].

Obtaining human oocytes. An important step in the IVF program is to retrieve mature preovulatory oocytes capable of fertilization *in-vitro*. Stimulation of superovulation is performed with medications prescribed by the treating doctor. Then, oocytes are harvested by transvaginal puncture of follicles, after which the obtained oocytes are placed in an incubator for further fertilization. In most cases, about 9-10 oocytes are obtained per cycle, but the number of oocytes obtained may vary depending on the response to hormonal stimulation. In 90% of cases, the oocytes obtained this way will be mature.

In some cases, an oocyte can be retrieved during a so-called natural cycle where only 1-2 oocytes develop and may be obtained [17].

Obtaining and processing of human semen. Sperm in more than 90% of all cases is obtained from the patient's partner or from donor ejaculate. After collection, sperm is processed in the laboratory to preserve and isolate spermatozoa with high motility and normal morphology. Spermatozoa can also be extracted surgically from the seminal ducts, epididymis or testicles. In some cases spermatozoa are stored frozen until fertilization [17].

Fertilization of oocytes using the standard IVF method.

Fertilization by IVF is performed after 2-4 hours. After TVOR and includes several steps.

1. Preparation of embryological protocol, checking the anamnesis and data on previous IVF/ICSI programs.

2. Preparation of working place.

3. The processed sperm is placed in a thermoblock on the work surface. The name of the patient and her spouse tagged on the test tube, in the sperm preparation protocol and in the embryological protocol, are carefully checked by double check (with the help of colleagues).

4. Add the required concentration of spermatozoa to a four-well plate or central well fertilization dish prepared in advance (100,000 spermatozoa per medium volume up to 1 ml or 10,000 spermatozoa per oocyte). Evaluate the concentration of spermatozoa in the dish using an inverted microscope.

5. Then, using a roller dispenser, transfer the oocytes to the sperm wells, maximum 5 oocytes per well. Then place the plate or the dish with the central well in the incubator.

6. Fertilization data is recorded in the embryological protocol, indicating the time of fertilization procedure, number of fertilized oocytes and the number of the incubator in which the cells were placed.

7. Denudation and fertilization evaluation procedure is performed 16-18 hours after fertilization [6, 17].

Fertilization of human oocytes by ICSI.

The ICSI procedure is a modern, high-tech method that is performed under a microscope using glass microinstruments. As well as the IVF method, it is performed 2-4 hours after the TVOR.

1. Preparation of embryological protocol, checking the anamnesis and data on previous IVF/ICSI programs.

2. Preparation of working place.

3. The processed sperm is placed in a thermoblock on the work surface. The name of the patient and her spouse tagged on the test tube, in the sperm preparation protocol and in the embryological protocol, are carefully checked by double check (with the help of colleagues).

4. Oocyte preparation. The oocytes retrieved during the puncture are surrounded by a large number of cumulus cells, which are necessary for the development of oocytes inside the follicles. Before the ICSI procedure, the cumulus is carefully removed with the help of enzyme hyaluronidase/cumulase. Only after cumulus removal the maturity of the egg can be evaluated and the fertilization can be carried out.

5. For fertilization by ICSI, a single mature sperm is selected based on its motility and morphological structure. In the case of appearance of only a single motile sperm after all the manipulations (processing of spermatozoa), other sperm preparation methods are used.

6. Preparation of the selected sperm. The spermatozoon is immobilized by cutting off the tail with a needle.

7. The immobilized sperm is aspirated into a glass needle. The oocyte is fixed in the desired position with a microsuction cup (holding), then a micro-needle with a sperm contained in it is pierced through the oocyte shell, and the contents of the egg are partially aspirated. The sperm is then carefully implanted into the cytoplasm of the oocyte.

8. The fertilized oocyte is placed in a special medium for further cultivation [6, 17].

Results

Obtaining mature oocytes at the MII stage capable of fertilization *in vitro* is an important aspect in ART programs. There are various classifications describing the structural features of female gametes. An accurate evaluation of oocyte quality and degree of maturity can be established only after removal of the oocyte-cumulus complex when performing fertilization by ICSI. In case of standard IVF fertilization such an assessment is not performed. The quality and maturity of the oocytes in the standard IVF program can only be evaluated the next day during the evaluation of fertilization [18].

This study presents the results of an analysis of embryo culturing in IVF and ICSI programs, using single-step and sequential media from 2017 to 2021. During this time, a total of 2650 ART programs were conducted at the laboratory of embryology.

The average age of women taking part in research is $33,2\pm 1,8$ years and that of men is $34,4\pm 1,6$ years. Human embryos were evaluated on days 1, 3, and 5

after fertilization. General characteristics of human oocytes and blastocysts obtained in the 2017-2021 IVF/ICSI programs are shown in Tables 1, 2, 3.

Table 1 – Characteristics of oocytes and fertilization results in IVF programs

Material characteristics	IVF	
	n	%
Total of immature oocytes (GV, MI)	356	6,00
Normally fertilized oocytes (2PN, 2PB)	4289	72,27
Abnormally fertilized oocytes (3PN etc.)	322	5,43
Absence of fertilization (0-0; 0-1)	659	11,11
Oocytes degenerated after fertilization	308	5,19
Total amount of oocytes retrieved	5934	100
Note: PN – pronucleus; PB – polar body; N – absolute number; % – frequency of occurrence; Gv (germinal vesicle)– immature oocyte, no polar body; MI (metaphase I) – immature oocyte, no polar body.		

A total of 5934 oocytes (760 programs) were retrieved for IVF programs over the entire study period. All obtained oocytes were fertilized by standard IVF method. Based on the data in Table 1, we can observe that 356 oocytes (6,00%) were found to be immature (GV, MI stages) out of the total number of oocytes. Normal fertilization, namely

the presence of 2 pronuclei and 2 polar bodies, was observed in 4289 oocytes, which represent 72,27% of the whole amount of oocytes. Abnormal fertilization (3pn – triploid, 4pn – tetraploid, etc.) was observed in 322 oocytes (5,43%). In 659 oocytes (11,11%) there was no fertilization observed, 308 oocytes (5,19%) degenerated after the procedure of fertilization.

Table 2 – Characteristics of fertilized oocytes in the ICSI programs

Material characteristics	ICSI	
	n	%
Total of mature oocytes	13372	100
Normally fertilized oocytes (2PN, 2PB)	10845	81,10
Abnormally fertilized oocytes (3PN etc.)	259	1,94
Absence of fertilization (0-0; 0-1)	1904	14,24
Oocytes degenerated after fertilization	364	2,72
Note: PN – pronucleus; PB – polar body; N – absolute number; % – frequency of occurrence;		

As it is shown in the Table 2, a total of 19540 oocytes were obtained for ICSI programs in 2017-2021. After the denudation process, 13372 oocytes were mature (MII stage), which represent 68,43% of the total number of cells obtained in 1890 programs. The number of immature oocytes (GV, MI) was

6168 oocytes, or 31,57%. Normal fertilization after ICSI was observed in 10845 oocytes (81,10%). The number of abnormally fertilized oocytes in ICSI programs made up 259 oocytes (1,94%). This value is significantly lower compared to the results of IVF programs, where the rate of abnormal fertilization

was represented by 5,43%. This can be explained by the fact that during the ICSI fertilization, a single sperm is selected and implanted directly into the oocyte, while during the IVF fertilization, oocytes are placed in a culture medium with a certain concentration of sperm, where random fertilization

occurs. In this case, a single oocyte can be fertilized by 2 or more spermatozoa, due to which abnormal fertilization occurs. No fertilization was observed in 1904 oocytes (14,24%). The number of oocytes degenerated after fertilization procedures made up 364 (2,72%).

Table 3 – Characteristics of blastocysts obtained in IVF/ICSI programs

Material characteristics	IVF		ICSI	
	n	%	n	%
Blastocysts of good quality	2119	78,34	6947	85,00
Poor quality blastocysts	586	21,66	1228	15,00
Total blastocysts	2705	100	8175	100

Note: N – absolute number; % – frequency of occurrence;

As demonstrated in Table 3, a total of 2705 blastocysts were obtained during the entire period in the IVF programs on the 5th and 6th days of development. Of these, 2119 embryos (78,34%) were of good quality, suitable for transfer and cryopreservation. The number of poor quality blastocysts made up 586 (21,66%).

In the ICSI programs performed, the total number of blastocysts was 8175, of which good quality blastocysts were 6947 (85,00%) and poor quality blastocysts unsuitable for transfer or cryopreservation were 1228, or 15,00%.

Table 4 shows the results of using CSC Irvine and Origio Sequential Cleav/Blast nutrient media in IVF and ICSI programs.

During the IVF programs, a total of 2292 blastocysts cultured in CSC Irvine single-step nutrient

medium were obtained. Of these, 1795 blastocysts (78,32%) were of good quality and were suitable for transfer or cryopreservation. The remaining 497 blastocysts (21,68%) were blastocysts of poor quality, not suitable for transfer or cryopreservation. The number of blastocysts in the two-step Origio Sequential Cleav/Blast nutrient medium was 413, almost 5.5 times fewer than blastocysts cultured in CSC Irvine nutrient medium. This difference in the total amount of blastocysts cultivated in Cleav/Blast compared to the total of blastocysts cultivated in Irvine can be explained by the fact that the number of programs using single-stage CSC Irvine medium in embryology laboratories increased each year. In the two-stage medium, 324 (78,50%) of the total number of blastocysts were blastocysts of good quality and 89 (21,50%) were blastocysts of poor quality.

Table 4 – Results of using CSC Irvine and Origio Sequential Cleav/Blast nutrient media in IVF/ICSI programs depending on the quality of blastocysts

Material characteristics	IVF				t	ICSI				t, p
	CSC Irvine		Origio Sequential Cleav/Blast			CSC Irvine		Origio Sequential Cleav/ Blast		
	n	%	n	%		n	%	n	%	
Total blastocysts	2292	100	413	100		6562	100	1613	100	
Blastocysts of good quality	1795	78,32	324	78,50	0,08	5712	87,00	1235	76,57	8,14 p < 0,001
Poor quality blastocysts	497	21,68	89	21,50	0,04	850	13,00	378	23,43	4,23 p < 0,001

Note: N – absolute number; % – frequency of occurrence; t – Student's t-test; p – value.

Thus, there were no statistically significant differences in the use of the above-mentioned nutrient media to obtain good quality blastocysts in the IVF program.

In the ICSI programs as well as in the IVF programs, there is a difference in the number of blastocysts obtained after cultivating the cells in different media. The number of blastocysts cultured in Origio Sequential Cleav/Blast nutrient medium was 4.1 times lower than the number of blastocysts cultured in CSC Irvine nutrient medium. There is a total of 6562 blastocysts obtained using CSC Irvine nutrient medium, of which 5712 (87.00%) were blastocysts of good and excellent quality, 850 (13.00%) were poor quality blastocysts. Using

Origio Sequential Cleav/Blast nutrient medium, a total of 1613 blastocysts were obtained, of which 1235 (76.57%) were good quality blastocysts and 378 (23.43%) were low quality blastocysts. Statistical analysis of the data showed a high level of good quality blastocysts when cultured in single-step CSC Irvine medium compared to the number of those cultured in two-step Origio Sequential Cleav/Blast medium. The difference between the two relative values is statistically significant ($t = 8.14$; $p < 0.001$). According to that, there was also statistically significant difference in the occurrence of low quality blastocysts ($t = 4.23$; $p < 0.001$). The overall efficacy of IVF/ICSI programs is shown in Table 5.

Table 5 – Clinical effectiveness of IVF and ICSI programs

Characteristic	IVF				t	ICSI				t
	CSC Irvine		Origio Sequential Cleav/Blast			CSC Irvine		Origio Sequential Cleav/Blast		
	n	%	n	%		n	%	n	%	
Embryo transfer	435	100	103	100		961	100	133	100	
Pregnancy	202	46,44	51	49,51	0,39	398	41,42	57	42,85	0,20
Negative result (absence of pregnancy)	233	53,56	52	50,49	0,40	563	58,58	76	57,15	0,23

Note: N – absolute number; % – frequency of occurrence; t – Student's t-test.

A total of 760 IVF programs were performed in the laboratory in 2017-2021, as mentioned above. Of these, 613 programs were performed using CSC Irvine nutrient media. As shown in Table 5, a pregnancy occurred in 202 cases out of the 435 transfers performed, which made up 46.44%. Negative results were observed in 233 patient cases (53.56%). It is to note that in the remaining 178 cases (29.03%), a delayed transfer was performed where the patients' embryos were cryopreserved and the transfer was performed in the following cycles. Delayed transfer was performed due to the risk of ovarian hyperstimulation, insufficient endometrial quality for transfer, and when planning surgical interventions. From 147 programs with Origio Sequential Cleav/Blast medium, the embryos transfer took place in 103 patient cases (70.06%), the programs ended up in pregnancies in 51 cases (49.51%), patients faced negative results in 52 cases (50.49%). Delayed transfer was performed in 44 programs, which made up 29.93% of the total number of IVF programs.

During this period, 1890 ICSI programs were performed. Of these, 1620 programs were performed using the CSC Irvine medium. 961 (59.32%) programs ended with embryo transfer to the uterine cavity, in which 398 cases (41.42%) resulted in pregnancy, while in 563 cases (58.58%) there was a negative result (absence of pregnancy). It is to note that there were 659 programs with delayed transfer, representing 40.68% of the total number of programs conducted using the CSC Irvine environment. Of the 270 programs using the Origio Sequential Cleav/Blast medium, only 133 (49.26%) embryo transfers were performed, the remaining 137 programs (50.74%) ended in delayed transfers. The transfers resulted in clinical pregnancies in 57 cases (42.86%) and absence of pregnancies in the remaining 76 patients (57.14%).

During the introduction of ART, the culture medium composition, main advantages and disadvantages of media have been studied [6, 13, 19]. At the same time, there are only few studies in the scientific field devoted to a comparative analysis

of the efficacy of specific commercial media in practical usage [20, 21].

There is no single opinion on the cultivation methods, since some authors more likely believe in necessity of sequential culture media, known as the “back to nature” approach, in embryo cultivation, as the embryo needs different concentrations of nutrients at different stages of its development [13, 21, 22]. The others stick to the opinion that a sufficient concentration of nutrients in modern nutrient media can provide all the necessary needs of the embryo during its development. Also, the advantages of single-step media include minimizing the manipulation of the embryos [19, 23, 24]. Consequently, there is no unified view among clinical embryologists as to which approach is more optimal, and both are still widely used in practice to improve the success of individual ART programs [13, 25].

Conclusion

A comparative analysis of the results of embryo cultivation in different culture media – CSC Irvine (one-step) and Origio Sequential Cleav/Blast (sequential) – suggests that both media equally

contribute to optimal blastocyst development and demonstrate positive clinical results. According to the pregnancy outcome criterion, the success rate of IVF programs using CSC Irvine nutrient medium made up 46.44%, in ICSI programs – 41.42%. Efficacy of IVF programs while culturing embryos in Origio Sequential Cleav/Blast nutrient medium resulted in 49.51%, that of ICSI programs resulted in 42.85%. Referring to the fact that the rate of pregnancy in natural conditions makes up 25-30%, the pregnancy rates obtained under the study can be considered quite high.

It is important to note that there appeared the tendency to switch to the use of one-step nutrient media in our case. This may be explained by a number of advantages in using single-step media, namely, a reduction in the total volume of nutrient media used, a reduction in the number of manipulations over the embryos, which reduces the risk of embryo damage and, consequently, increases the success rate of ART programs.

Conflict of Interest

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

Литература

- Щедрина Р. Н., Ярововская Н. Д., Фанченко К. Я. Роль эндокринных факторов в реализации вспомогательных репродуктивных технологий. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 256 с.
- The European IVF-monitoring programme (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)// Human Reproduction. – 2021. – Vol. 16, № 2. – P. 384-391.
- Сухих Г. Т. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению: руководство/Под ред. Сухих Г. Т., Назаренко Т. А. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 784 с.
- Кулаков В. И.; под ред. Кулакова В. И., Леонова Б. В., Кузьмичева Л. Н. Лечение женского и мужского бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии – М.: МИА, 2005. – 592 с.
- Бектур К. Р., Гуляев А. Е., Ермекбаева Б. А., Абуова Г. Т., Нургожин Т. С. Фармакоэкономическая оценка рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (р-ФСГ) и высокоочищенного менопаузального гонадотропина человека (ВО-чМГ) в Казахстане // КАРМ, журнал «Репродуктивная Медицина» – 2014. № 3-4 (20-21). – 74 с.
- Тишкевич О. Л., Гуд Л. А., Волоханович С. М., Черноморец Ю. В., Алексеева Е. В., Жабинская А. Б., Петровская Е. Е., Голубева С. В., Цукерман Ю. В., Якуц О. А. Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ). Базовые принципы и практические аспекты. – Минск: Наша Идея, 2021. – 344 с.
- Van Waeleghem., De Clezsq N., Vermeulen L, Schoonjans F, Comhaire F. Deterioration of sperm quality in young healthy Belgian men. Human Reproduction. – 1996. – Vol. 11, pp. 325-329. doi: 10.1093/humrep/11.2.325
- Katerina A. Turner, Amarnath Rambhatla, Samantha Schon, Ashok Agarwal, Stephen A. Krawetz, James M. Dupree, and Tomer Avidor-Reiss. Male Infertility is a Women’s Health Issue—Research and Clinical Evaluation of Male Infertility Is Needed. Cells. – 2020. – Vol. 9, no. 4. doi: 10.3390/cells9040990
- Swain J. E. Optimizing the culture environment in the IVF laboratory: impact of pH and buffer capacity on gamete and embryo quality. Reproductive biomedicine online. – 2010. – Vol. 21, issue. 1, pp. 6-16. doi:10.1016/j.rbmo.2010.03.012
- Hentemann M., Mousavi K., Bertheussen K. Differential pH in embryo culture. Fertility and Sterility. – 2010. – Vol. 95, no. 4, pp. 1291-1294. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.10.018
- Jones G. M., Trounson A. O., Lolatgis N., Wood C. Factors affecting the success of human blastocyst development and pregnancy following in vitro fertilization and embryo transfer. Fertility and Sterility. – 1998. – Vol. 70, issue 6, pp. 1022-1029. doi: 10.1016/s0015-0282(98)00342-2
- Geraidine M. Hartshorne. (2001) Factors controlling embryo viability. Human Fertility. – 2001. – Vol. 4, issue 4, pp. 225-234. doi: 10.1080/1464727012000199571

- 13 Раннева С.В., Брусенцев Е.Ю., Иголина Т.Н., Рагаева Д.С., Рожкова И.Н., Ершов Н.И., Левинсов А.Л., Амстиславский С.Я. Влияние культивирования эмбрионов на онтогенез потомства у млекопитающих. ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», пр. Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090 Россия. ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (НГУ), ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090 Россия. Новосибирский центр репродуктивной медицины, ул. Героев Революции, 3, Новосибирск, 630037 Россия. Журнал «Онтогенез», том 51, номер 6. – 2020 год. 417-439 с.
14 doi: 10.31857/s0475145020060075
- 15 Iratxe Lopez-Pelayo, Javier Maria Gutierrez-Romero, Ana Isabel Mangano Armada, María Mercedes Calero-Ruiz and Pablo Javier Moreno de Acevedo-Yagüe. Comparison of two commercial embryo culture media (SAGE-1 step single medium vs. G1-PLUS™/G2-PLUS™ sequential media): Influence on in vitro fertilization outcomes and human embryo quality. *JBRA Assist Reprod.* – 2018. – Vol. 22, issue 2, pp. 128-133. doi: 10.5935/1518-0557.20180024
- 16 Tamura H, Takasaki A, Miwa I, Taniguchi K, Maekawa R, Asada H, Taketani T, Matsuoka A, Yamagata Y, Shimamura K, Morioka H, Ishikawa H, Reiter RJ, Sugino N. Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilisation rate. *Journal of Pineal Research.* – 2008. – Vol. 44, issue 3, pp. 280-287. doi:10.1111/j.1600-079x.2007.00524.x
- 17 Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evidence-based treatments for couples with unexplained infertility: a guideline. *Fertility and Sterility.* – 2020. – Vol. 113, issue 2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.10.014
- 18 Локшин В. Н., Джусубалиева Т. М. Бесплодие и вспомогательные репродуктивные технологии. – Алматы, 2005. – 222 с.
- 19 Maryam Eftekhari, M.D., Farnaz Mohammadian, M.D., Fariba Yousefnejad, M.D., Behnaz Molaei, M.D., and Abbas Aflatoonian, M.D. Comparison of conventional IVF versus ICSI in non-male factor, normoresponder patients. *Iran J Reprod Med.* – 2012. – Vol. 10, no. 2, pp. 131-136. doi.org/10.18502/ijrm.vol10i2.9056
- 20 Fatehi A, Roelen B, Colenbrander B, Schoevers E, Gadella B, Beverst M, van den Hurk R. Presence of cumulus cells during in vitro fertilisation protects the bovine oocyte against oxidative stress and improves first cleavage but does not affect further development. *Zygote.* – 2005. – Vol. 13, no. 2, pp. 177-185. doi: 10.1017/s0967199405003126
- 21 Gruber I, Klein M. Embryo culture media for human IVF: which possibilities exist? *J Turk Ger Gynecol Assoc.* – 2011. – Vol. 12, no. 2, pp. 110-117. doi: 10.5152/jtgga.2011.25
- 22 Кулаков В. И. Лечение женского и мужского бесплодия/В. И. Кулаков, Б. В. Леонов, Л. Н. Кузьмичев. – М. МИА, 2008. – 592 с.
- 23 Durand M, Sermondade N, Herbeumont C, Benard J, Gronier H, Boujenah J. Développement embryonnaire dans 2 milieux de culture globale : étude prospective autocontrôlée sur 2059 ovocytes. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.* – 2016. – Vol. 44, pp. 163-167. doi: 10.1016/j.gyobfe.2016.01.005.
- 24 Danni Zheng, Lin Zeng, Rui Yang, Ying Lian, Yi-Min Zhu, Xiaoyan Liang, Li Tang, Huichun Wang, Yunxia Cao, Guimin Hao, Jianqiao Liu, Junli Zhao, Rui Wang, Ben Willem Mol, Rong Li, He-Feng Huang, Jie Qiao. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) versus conventional in vitro fertilisation (IVF) in couples with non-severe male infertility (NSMI-ICSI): protocol for a multicentre randomised controlled trial. *BMJ Open.* – 2019. – Vol. 9, no. 9. doi: 10.1136/bmjopen-2019-030366
- 25 Ludwig M., Nitz B. Optimierung der Erfolgsaussichten in einem IVF-Programm. *Zentralbl Gynakol.* – 2004. – Vol. 126, no. 6, pp. 368-372. doi: 10.1055/s-2004-832373
- 26 Sunde A., Brison D., Dumoulin J., Harper J., Lundin K., Magli Cristina M., Van den Abbeel E., Veiga A. Time to take human embryo culture seriously. *Human Reproduction.* – 2016. – Vol. 31, no. 10, pp. 2174-2182. doi:10.1093/humrep/dew157

References





- 1 K. R. Bektur, A. E. Gulyaev, B. A. Ermekbaeva, G. T. Abuova and T. S. Nurgozhin. *CARM, Journal of Reproductive Medicine*, (2014) no. 3-4 (20-21), 74 p. (in Russ)
- 2 M. Durand, N. Sermondade, C. Herbeumont, J. Benard, H. Gronier and J. Boujenah. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 2016. Vol. 44, pp. 163-167. doi: 10.1016/j.gyobfe.2016.01.005.
- 3 M. D. Eftekhari, F. Mohammadian, F. Yousefnejad, B. Molaei and A. Aflatoonian. *Iran J Reprod Med.*, 2012. Vol. 10, no. 2, pp. 131-136. doi.org/10.18502/ijrm.vol10i2.9056
- 4 A. Fatehi, B. Roelen, B. Colenbrander, E. Schoevers, B. Gadella, M. Beverst and R. Hurk. *Zygote*, 2005. Vol. 13, no. 2, pp. 177-185. doi: 10.1017/s0967199405003126
- 5 I. Gruber and M. Klein. *J Turk Ger Gynecol Assoc.*, 2011. Vol. 12, no. 2, pp. 110-117. doi:10.5152/jtgga.2011.25
- 6 G. M. Hartshorne. *Human Fertility*, 2001. Vol. 4, issue 4, pp. 225-234. doi:10.1080/1464727012000199571
- 7 M. Hentemann, K. Mousavi and K. Bertheussen. *Fertility and Sterility*, 2010 Vol. 95, no. 4, pp. 1291-1294. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.10.018
- 8 G. M. Jones, A. O. Trounson, N. Lolatgis and C. Wood. *Fertility and Sterility*, 1998. Vol. 70, issue 6, pp. 1022-1029. doi:10.1016/s0015-0282(98)00342-2
- 9 V.I. Kulakov, B.V. Leonov and L.N. Kuzmichev. Treatment of female and male infertility. Assisted Reproductive technologies (ART). Moscow: IIA, 2005, 592 p. (in Russ)
- 10 V. I. Kulakov, B.V. Leonov and L.N. Kuzmichev. Treatment of female and male infertility. Moscow: MIA, 2008, 592 p. (in Russ)

- 11 V. N. Lokshin and T. M. Jusubalieva. Infertility and Assisted Reproductive Technologies. *MedMedia*, 2005, 222 p. (in Russ)
- 12 I. Lopez-Pelayo, J. M. Gutierrez-Romero, Ana I. M. Armada, M. M. Calero-Ruiz and P. J. Moreno de Acevedo-Yagüe. *JBRA Assist Reprod*, 2018. Vol. 22, issue 2, pp. 128-133. doi:10.5935/1518-0557.20180024
- 13 M. Ludwig and B. Nitz. *Zentralbl Gynakol*, 2004. Vol. 126, no. 6, pp. 368-372. doi:10.1055/s-2004-832373
- 14 Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evidence-based treatments for couples with unexplained infertility: a guideline. *Fertility and Sterility*, 2020. Vol. 113, issue 2. doi:10.1016/j.fertnstert.2019.10.014
- 15 C. V. Ranneva, E. Brusentsev, T. N. Igonina, D. S. Ragaeva, I. N. Rozhkova, N. I. Ershov, A. L. Levinsov and S. Y. Amstislavsky. *Journal of Ontogenesis*, 2020. Vol. 51, no. 6, pp. 417-439. doi:10.31857/s0475145020060075
- 16 R. N. Shchedrina, N. D. Yarovovskaya and K. Y. Fanchenko. The role of endocrine factors in the implementation of assisted reproductive technologies / M.: MEDpress-inform, 2012, p. 256. (in Russ)
- 17 G.T. Sukhikh. Infertile marriage. Current approaches to diagnosis and treatment: guidelines / Ed. by G. T. Sukhikh and T. A. Nazarenko. 2nd ed. amended and supplemented – Moscow: GEOTAR-Media, 2010, 784 p. (in Russ)
- 18 A. Sunde, D. Brison, J. Dumoulin, J. Harper, K. Lundin, M. C. Magli, E. Van den Abbeel and A. Veiga. *Human Reproduction*, 2016. Vol. 31, no. 10, pp. 2174-2182. doi:10.1093/humrep/dew157
- 19 J. E. Swain. *Reproductive biomedicine online*, 2010. Vol. 21, issue. 1, pp. 6-16. doi:10.1016/j.rbmo.2010.03.012
- 20 H. Tamura, A. Takasaki, I. Miwa, K. Taniguchi, R. Maekawa, H. Asada, T. Taketani, A. Matsuoka, Y. Yamagata, K. Shimamura, H. Morioka, H. Ishikawa, RJ Reiter and N. Sugino. *Journal of Pineal Research*, 2008. Vol. 44, issue 3, pp. 280-287. doi:10.1111/j.1600-079x.2007.00524.x
- 21 The European IVF-monitoring programme (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Human Reproduction*, 2001. Vol. 16, № 2. – p. 384-391.
- 22 O. L. Tishkevich, L. A. Hood, S. M. Volokhanovich, Y. V. Chernomorets, E. V. Alexeeva, A. B. Zhabinskaya, E. E. Petrovskaya, S. V. Golubeva, Y. V. Tsukerman and O. A. Yakuts. *Assisted reproductive technologies (ART). Basic Principles and Practical Aspects*. Minsk: Nasha Idea, 2021, 344 p.
- 23 K. A. Turner, A. Rambhatla, S. Schon, A. Agarwal, S. A. Krawetz, J. M. Dupree and Tomer Avidor-Reiss. *Cells*, 2020. Vol. 9, no. 4. doi:10.3390/cells9040990
- 24 Van Waelegem, N. De Clezq, L. Vermeulen, F. Schoonjans and F. Comhaire. *Human Reproduction*, 1996. Vol. 11, pp. 325-329. doi:10.1093/humrep/11.2.325
- 25 D. Zheng, L. Zeng, R. Yang, Y. Lian, Y. Zhu, X. Liang, L. Tang, H. Wang, Y. Cao, G. Hao, J. Liu, J. Zhao, R. Wang, B. Willem Mol, R. Li, H. Huang and J. Qiao. *BMJ Open*, 2019. Vol. 9, no. 9. doi:10.1136/bmjopen-2019-030366

6-бөлім
**ЦИТОЛОГИЯ
ЖӘНЕ ГИСТОЛОГИЯ**

Section 6
**CYTOLOGY
AND HISTOLOGY**

Раздел 6
**ЦИТОЛОГИЯ
И ГИСТОЛОГИЯ**

Ж.Б. Олжабаева* , **Б.А. Абдуллаева** ,
И.М. Жаркова , **А.Ж. Тукпетова** 

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

*e-mail: zhanna.olzhabayeva1@gmail.com

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЖАБР И ПЕЧЕНИ САЗАНА И СУДАКА, ОБИТАЮЩИХ В ОЗЕРЕ БАЛХАШ

В данной статье был проведен сравнительный анализ встречаемости патологий жабр и печени сазана и судака, обитающих в озере Балхаш. Для осуществления цели работы было проведено гистологическое, морфометрическое и статистическое изучение тканей жабр и печени исследуемых особей рыб. В печени сазана и судака были выявлены жировая дистрофия, полиморфизм ядер, пролиферация клеток Купфера (макрофаги печени), нарушения микроциркуляторного русла, а в структуре жабр наблюдались следующие патологические процессы: изменение формы вторичных ламелл, гиперплазия жаберного эпителия, некроз и отек респираторного эпителия, а также очаги кровоизлияний. У большинства исследованных особей отмечались патологии обоих органов одновременно. Патологии печени были обнаружены у 61,45% особей сазана и 69,62% особей судака. Гистологические нарушения строения жабр были зафиксированы у 70,73% особей сазана и 61,25% особей судака. Количество рыб, не имеющих нарушений структуры жабр и печени, составляли 9,28% среди сазана и 8,37% у судака. Обнаруженные патологии в гистологических строениях жабр и печени рыб свидетельствует о воздействии различных неблагоприятных факторов на экосистему озера Балхаш.

Ключевые слова: Сазан, судак, жабры, печень, патология, ламеллы, отёк, кровоизлияния, некроз, гиперплазия.

Zh. Olzhabayeva*, B. Abdullaeva, I. Zharkova, A. Tukpetova

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: zhanna.olzhabayeva1@gmail.com

Comparative histological study of gills and liver of carp and zander living in lake Balkhash

In this article, a comparative analysis of the occurrence of pathologies of the gills and liver of carp and pike perch living in Lake Balkhash was carried out. To achieve the goal of the work, a histological, morphometric and statistical study of the tissues of the gills and liver of the studied fish specimens was carried out. In the liver of carp and zander, fatty degeneration, polymorphism of nuclei, proliferation of Kupffer cells, disturbances of the microcirculatory bed were revealed, and the following pathological processes were observed in the structure of the gills: a change in the shape of secondary lamellae, hyperplasia of the gill epithelium, necrosis and edema of the respiratory epithelium, as well as foci of hemorrhages. In most of the studied individuals, pathologies of both organs were noted simultaneously. Liver pathologies were found in 61.45% of carp and 69.62% of zander. Histological disturbances in the structure of the gills were recorded in 70.73% of carp and 61.25% of zander. The number of fish without violations of the structure of the gills and liver was 9.28% among carp and 8.37% in zander. The detected pathologies in the histological structures of the gills and liver of fish indicate the impact of various adverse factors on the ecosystem of Lake Balkhash.

Key words: Carp, zander, gills, liver, pathology, lamellae, edema, hemorrhages, necrosis, hyperplasia.

Ж.Б. Олжабаева*, Б.А. Абдуллаева, И.М. Жаркова, А.Ж. Тукпетова
Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.
*e-mail: zhanna.olzhabayeva1@gmail.com

Балқаш көлінде мекендейтін сазан және көксеркенің желбезектері мен бауырын салыстырмалы гистологиялық зерттеу

Берілген мақалада Балқаш көлінде мекендейтін сазан және көксерке балықтарының желбезектері мен бауыр патологияларының кездесу жиілігіне салыстырмалы талдау жасалды. Жұмыстың мақсатына жету үшін зерттелген балық дарақтарының желбезектері мен бауырының ұлпаларына гистологиялық зерттеу жүргізілді. Сазан және көксеркенің бауырында липоидты дистрофия, ядролардың полиморфизмі, Купфер жасушаларының (бауыр макрофагтары) пролиферациясы, микроциркуляциялық арна тамырларының жарылуы анықталды, ал желбезектердің құрылымында келесі патологиялық процестер байқалды: екінші реттік эпителий ламеллаларының пішінінің өзгеруі, желбезек эпителийінің гиперплазиясы (екінші реттік желбезек жапырақшаларының бірінші реттік желбезек жапырақшаларымен бірігіп кетуі), тыныс алу эпителийінің некрозы және ісінуі, сонымен қатар қан кету ошақтары анықталды. Сазан және көксерке балықтары дарақтарының көпшілігінде бір уақытта екі мүшенің патологиясы кездесті. Бауыр патологиялары сазан балықтарының 61,45%-ында, көксерке балықтарының 69,62%-ында анықталды. Желбезек құрылымдарының гистологиялық өзгерістері сазан дарақтарының 70,73%-ында және көксеркенің 61,25%-ында тіркелді. Зерттелген сазан балықтарының 9,28%-ында және көксерке балықтарының 8,37%-ында патологиялық процестер орын алмады. Сазан және көксерке балықтарының желбезектері мен бауырында анықталған патологиялық процестер Балқаш көлінің экожүйесіне әртүрлі қолайсыз факторлардың әсерін дәлелдейді.

Түйін сөздер: Сазан, көксерке, желбезек, бауыр, патология, ламелла, ісінулер, қан кету, некроз, гиперплазия.

Введение

Интенсивное влияние антропогенного воздействия на окружающую среду приводит к возникновению серьезных нарушений в функционировании экосистем [1]. Наглядным примером является озеро Балхаш, относящегося к Иле-Балхашскому бассейну, территория которого, в последнее время, подвергается высокому экологическому стрессу за счет антропогенных и природных факторов и, соответственно, требует регулярного контроля окружающей среды. Наиболее удобным методом для мониторинга водных экосистем является изучение морфологических и гистологических характеристик внутренних органов рыб [2, 3], который способен отражать динамику разрушения биотопов. Внутренние органы рыб характеризуются избирательной аккумуляцией ксенобиотиков [4, 5], при этом вещества, загрязняющие экосистемы, накапливаются в органах, таких как жабры, печень, эндокринные железы, желудочно-кишечный тракт, почки [6-8]. Особо чувствительным органом у рыб являются жабры, которые отвечают за дыхание и поддержание осмотического давления и кислотно-щелочного баланса жидкостей организма [9, 10]. Они играют важную роль в вы-

делении токсических продуктов метаболизма и в поддержании дренажа пищи [11, 12]. Поскольку большая площадь поверхности жабр контактирует с внешней средой, они чувствительны даже к незначительным химическим или физическим изменениям в окружающей среде и являются органом-мишенью для многих загрязнителей [13, 14]. Протекающая через жабры вода, подвергает орган постоянному контакту с токсическими веществами [15], что выражается в морфологических и гистологических изменениях структур органов [16]. Повреждения, возникающие в результате влияния экологических факторов являются прямой причиной смертности рыб [17]. Помимо этого, немаловажным биоиндикатором состояния организма является печень, которая выполняет множество метаболических функций, в том числе детоксикационную [18, 19].

В связи с вышеизложенным целью проводимого исследования является сравнительный анализ встречаемости патологий в жабрах и печени сазана и судака, обитающих в озере Балхаш для определения состояния окружающей среды. Данное исследование осуществлялось из природной экосистемы, тем самым для сопоставления полученных данных привлекаются литературные источники.

Материалы и методы исследования

Материалом исследований являются обыкновенный сазан (*Cyprinus carpio*) и обыкновенный судак (*Sander lucioperca*). Для исследования были взяты по 10 особей обоих полов сазана и судака, средняя масса, длина и другие параметры которых приведены в таблице 1.

Для гистологического анализа были отобраны жабры и печень сазана и судака, отловленных на западном побережье озера Балхаш, Алматинской области, Балхашского района, села Карай, на территории рыболовной базы «Дельта» (45°43'28.5»N 74°25'28.7»E) в весенний период. Материал для биоиндикационного исследования обрабатывался и фиксировался в полевых условиях. Для гистологического исследования

фиксацию осуществляли в 10% нейтральном формалине [20, 21]. Обезвоживание и уплотнение гистологического материала производили по стандартной методике [22]. Срезы изготавливали на ротационном микротоме толщиной не более 4-5 мкм. С каждого исследуемого органа, жабр и печени, изготавливались срезы в количестве не менее 15 предметных стекол. Срезы окрашивали обзорными красителями – гематоксилином и эозином [23]. Анализ гистологических препаратов проводили под световым микроскопом Micros MC-20. Цифровые микрофотографии были получены с помощью микроскопа “Leica DMLB2” с цифровой камерой Leica DFC 320. Морфометрическая обработка осуществлялась с помощью программы «Bio Vision», а статистическая с помощью Microsoft Excel.

Таблица 1 – Морфометрические показатели сазана и судака

Показатель		Название группы	
		Сазан	Судак
1.	Вся длина тела, см	50,3±1,3	60,8±1,9
2.	Длина без хвостового плавника, см	40,9±1,3	50,5±1,3
3.	Длина головы, см	10,5±0,1	12,7±1,9
4.	Длина хвостового стебля, см	9,4±9,4	12,6±7,2
5.	Длина туловища, см	30,4±1,1	40,1±1,1
6.	Максимальная высота тела, см	12,2±0,9	14,3±0,4
7.	Минимальная высота тела, см	5,3±0,01	6,0±0,5
8.	Высота головы, см	7,7±0,5	8,9±0,1
9.	Наибольший обхват тела, см	31,0±1,7	41,0±0,6
11.	Наибольшая толщина тела, см	6,0±1,1	8,2±1,5

Результаты исследования и их обсуждение

У изученных особей сазана и судака жабры имели классическое строение, и были представлены первичными жаберными лепестками, от которых отходили вторичные жаберные лепестки. В основе жаберных лепестков была расположена гиалиновая хрящевая дуга. Жаберный лепесток снаружи был покрыт первичным жаберным эпителием, который состоял из нескольких слоев плоских респираторных клеток. Помимо респираторных клеток в первичном жаберном эпителии располагались округлые палочковые и многочисленные слизистые клетки. В большинстве ламелл наблюдались отек первичного

жаберного эпителия, интенсивность которого была более выражена в базальном слое (рис. 1) и пролиферация респираторных клеток, которая нередко приводила к сращению вторичных жаберных лепестков. Вторичные жаберные лепестки у большинства особей были искривлены и имели булавовидную форму. Основу вторичных лепестков составляли столбчатые клетки, между которыми были расположены артериолы. Снаружи ламеллы были покрыты однослойным плоским эпителием, среди которого встречались крупные слизистые клетки. Кроме того, был отмечен отек вторичного жаберного эпителия, и его отслоение. В жабрах также отмечались нарушения сосудистого русла в виде деструкции сосудов, приводящей к образованию обширных

кровоизлияний, и некрозу респираторного эпителия (рис. 2). Встречаемость обнаруженных патологических нарушений жабр приведена в таблице 2. Согласно таблице 2 наиболее часто в жабрах сазана и судака отмечались изменения формы ламелл ($28,3 \pm 0,97\%$ и $26,21 \pm 0,87\%$ соответственно). Гиперпластические процессы

были обнаружены у $17,59 \pm 1,16\%$ особей сазана и $16,4 \pm 0,83\%$ у судака. Из других патологий в жабрах сазана и судака были отмечены некроз тканей ($6,65 \pm 0,27\%$ и $4,78 \pm 1,27\%$), очаги кровоизлияний ($9,67 \pm 0,81\%$ и $4,78 \pm 1,27\%$) и отек респираторного эпителия ($8,52 \pm 0,93\%$ и $9,54 \pm 0,83\%$).

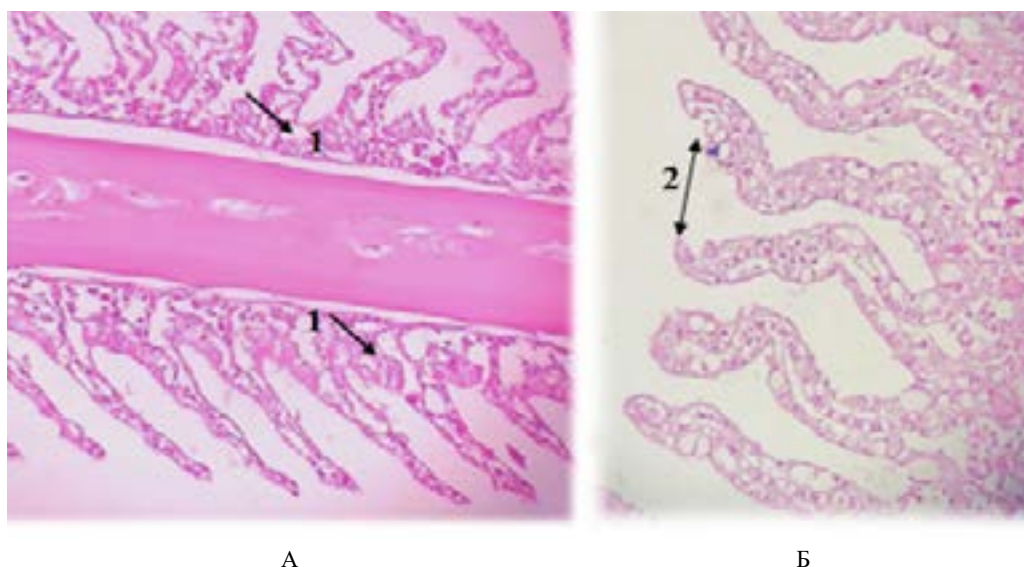


Рисунок 1 – Жабры судака. Отек эпителия лепестков жабр (1). Булавовидное изменение формы ламелл (2). Окраска гематоксилином и эозином. А – ув. х 200, Б – ув. х 400

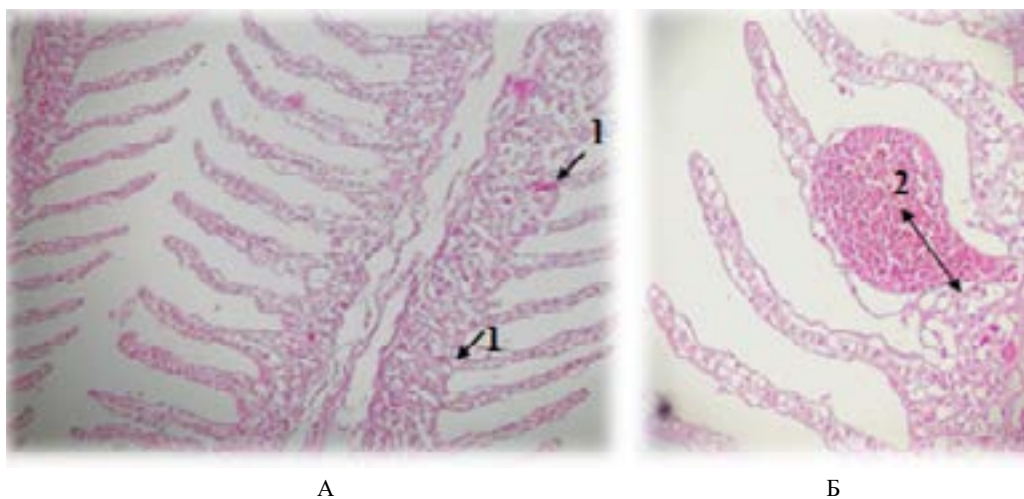


Рисунок 2 – Жабры сазана. Деструкция сосудистого слоя вторичных ламелл (1). Геморрагия (2). Окраска гематоксилином и эозином. А – ув. х 200, Б – ув. х 400

Печень сазана и судака имела трубчатую структуру, трубки были образованы 5-6 гепатоцитами с желчным капилляром в центре. Синусоиды печени были расширены, наблюдались

нарушения микроциркуляторного русла в виде разрыва стенок сосудов, стаза крови в крупных сосудах перипортальной зоны, расслоение крови на форменные элементы и плазму, и пери-

васкулярный отек (рис. 3). В паренхиме печени были отмечены крупнокапельная очаговая жировая дистрофия и пролиферация клеток Купфера (рис. 4). Встречаемость обнаруженных патологических нарушений печени приведена в таблице 3. Согласно таблице 3 наиболее частым патологическим нарушениям в печени сазана и судака были накопления липидов у обоих видов рыб, что было идентифицировано нами как жировая дистрофия, $36,59 \pm 0,18\%$ в пече-

ни сазана и $33,5 \pm 0,18\%$ у судака. Проллиферация клеток Купфера в большей степени была обнаружена в печени сазана ($12,41 \pm 0,76\%$), в то время как в печени судака составляла $8,84 \pm 0,76\%$. Нарушения микроциркуляторного русла встречались в печени судака ($13,7 \pm 1,65\%$) больше, чем в печени сазана ($8,2 \pm 1,65\%$). Полиморфизм ядер гепатоцитов особей судака составлял $13,58 \pm 0,72\%$ и $4,25 \pm 0,72\%$ у особей сазана.

Таблица 2 – Встречаемость патологий жабр сазана и судака, обитающих в озере Балхаш

Виды патологии	Встречаемость патологий жабр у сазана, %	Встречаемость патологий жабр у судака, %
1. Изменение формы ламелл вторичного эпителия	$28,3 \pm 0,97$	$26,21 \pm 0,87$
2. Гиперплазия жаберного эпителия	$17,59 \pm 1,16$	$16,4 \pm 0,83$
3. Некроз	$6,65 \pm 0,27$	$4,78 \pm 1,27$
4. Отек респираторного эпителия	$8,52 \pm 0,93$	$9,54 \pm 0,83$
5. Очаги кровоизлияний	$9,67 \pm 0,81$	$4,32 \pm 0,72$

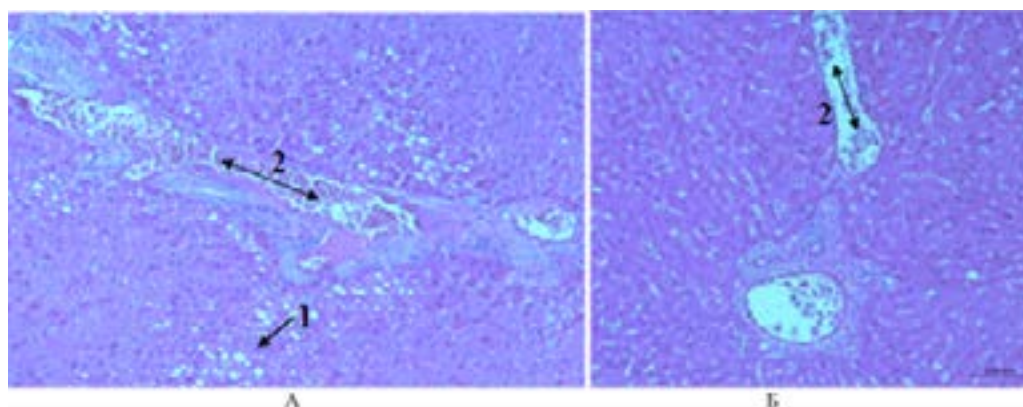


Рисунок 3 – Печень судака. Стаз крови в сосудах перипортального русла, отек и расслоение крови (2), жировая дистрофия (1). Окраска гематоксилином и эозином. А – ув. х 100, Б – ув. х 200

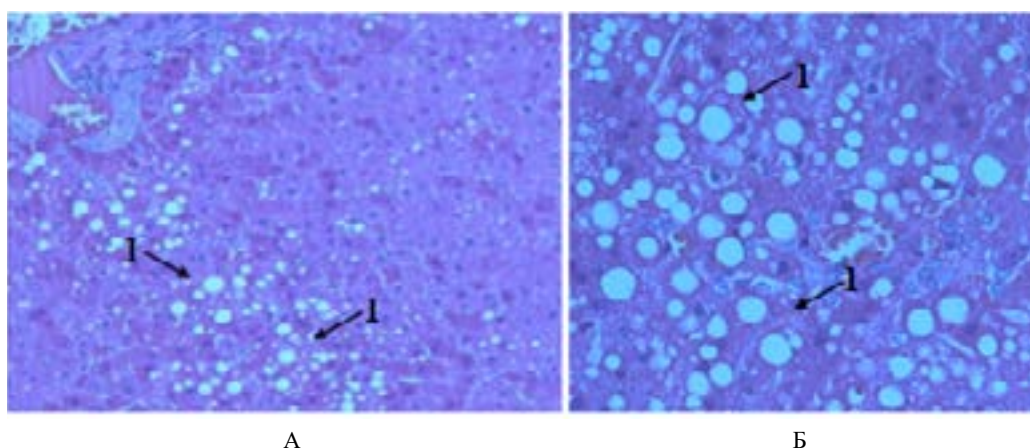


Рисунок 4 – Печень сазана. Жировые капли, заместившие клетки печеночной паренхимы (1). Окраска гематоксилином и эозином. А – ув. х 200, Б – ув. х 400

Таблица 3 – Встречаемость патологий жабр и печени сазана и судака, обитающих в озере Балхаш

Виды патологии	Встречаемость патологий печени у сазана, %	Встречаемость патологий печени у судака, %
1. Жировая дистрофия	36,59 ± 0,18	33,5 ± 0,18
2. Полиморфизм ядер	4,25 ± 0,72	13,58 ± 0,72
3. Проллиферация клеток Купфера	12,41 ± 0,76	8,84 ± 0,76
4. Нарушения микроциркуляторного русла	8,2 ± 1,65	13,7 ± 1,65

Общий анализ встречаемости всех патологий в печени составлял 61,45% у особей сазана и 69,62% у особей судака. Нарушения строения жабр зафиксированы у 70,73% особей сазана и 61,25% у судака. Большинство исследованных рыб имело патологии одновременно обоих органов. Количество рыб, не имеющих нарушений структуры жабр и печени, составляло 9,28% среди сазана и 8,37% у судака.

Таким образом, гистологическое изучение жабр и печени показало изменения формы ламелл, гиперплазию и отек респираторного эпителия, некроз и очаги кровоизлияний в жабрах, жировую дистрофию, полиморфизм ядер, пролиферацию клеток Купфера и нарушения микроциркуляторного русла в печени, некоторые патоморфологические изменения, в частности, гиперплазия и некроз в жабрах, жировая дистрофия и нарушения микроциркуляторного русла в печени были отмечены в органах пресноводных рыб, обитающих на Иле-Балхашском бассейне в работах Нуртазина С.Т. и Салмурзаулы Р. с соавторами [24, 25].

Полученные результаты указывают на растущую интенсивность влияния экологических факторов на экосистему озера Балхаш. Таким образом, гистологическое исследование жабр и печени сазана и судака, обитающих в озере

Балхаш показало высокий уровень загрязнения окружающей среды.

Выводы

Проведенные исследования позволили сделать следующие выводы:

1. В жабрах сазана и судака были выделены следующие патологические процессы: изменение формы ламелл вторичного эпителия, гиперплазия жаберного эпителия, некроз и отек респираторного эпителия, а также очаги кровоизлияний, общая встречаемость которых составляла 70,73% у особей сазана и 61,25% у судака.

2. В печени сазана и судака были выявлены жировая дистрофия, полиморфизм ядер, пролиферация клеток Купфера, нарушения микроциркуляторного русла, общая встречаемость которых составляла 61,45% у особей сазана и 69,62% у судака.

3. На основании выявленных повреждений тканей жабр и печени сазана и судака установлено, что рыбы, обитающие в озере Балхаш, подвергаются воздействию неблагоприятных факторов внешней среды.

Данная научная работа может быть использована для дальнейших мониторинговых исследований с целью биоиндикации состояния аквальных экосистем Иле-Балхашского бассейна.

Литература

- 1 Débora M. S. Santos, Mércia Regina S. Melo, Denise Carla S. Mendes, Iolanda Karoline B. S. Rocha, Jakeline Priscila L. Silva, Sildiane M. Cantanhêde, Paulo C. Meletti. Histological Changes in Gills of Two Fish Species as Indicators of Water Quality in Jansen Lagoon (São Luís, Maranhão State, Brazil)// International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2014. – p. 12928-12934
- 2 Márcio Moreira, Denise Schrama, Ana Paula Farinha, Marco Cerqueira, Cláudia Raposo de Magalhães, Raquel Carrilho, Pedro Rodrigues. Fish Pathology Research and Diagnosis; a Proteomics Perspective// Animals (Basel). – 2021. – p. 125.
- 3 Жапарова С.Б., Хамидулина Ж.К. Оценка экологического состояния малых водоемов Акмолинской области// Вестник Омского регионального института. – 2017. – С.129-134.
- 4 Суюнова А.Б., Заболотных М.В. Экологический мониторинг загрязнения ихтиофауны нефтепродуктами и тяжелыми металлами Казахстанского сектора Каспийского моря// Вестник КРАСГАУ. – 2016. – С. 83-90.

- 5 Гилева Т. А., Зиновьев Е.А. н. Костицына В. Содержание тяжелых металлов в органах и тканях рыб, обитающих в разнотипных водоемах пермского края// *Аграрный вестник Урала* № 8 (126). – 2014. – С.73-77.
- 6 Стеблевская, С.В. Чусовитина, Н.В. Полякова, Е.А. Жадько. Изучение элементного состава тканей и органов некоторых видов промысловых рыб бухты Северная залива Петра великого (Японское море)// *Рыбохозяйственная токсикология*. – 2016. – С. 96-102.
- 7 Santos T., Gomes V., Passos J. et al. Histopathological alterations in gills of juvenile Florida pompano *Trachinotus carolinus* (Perciformes, Carangidae) following sublethal acute and chronic exposure to naphthalene // *Pan- American J. of Aquatic Sciences*. – 2011. V. 6(2). P. 109–120.
- 8 Федорова Н.Н., Грушко М.П., Каниева Н.А. Патоморфологические изменения жизненно важных органов волжских рыб// *Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство*. № 4. – 2019. – С. 104-109.
- 9 Колобов В.А. Ультраструктура хлоридных клеток жаберного эпителия молоди сими *Oncorhynchus masou* (SALMONIDAE) при изменении солёности воды// *Вопросы ихтиологии*. – 2014. – С. 620-623.
- 10 Müller-Belecke A., Zienert S. Out-of-season spawning of pike perch (*Sander lucioperca* L.) without need for hormonal treatments// *Aquaculture Research*. – 2008. – p.1279 – 1285.
- 11 Клишин А.Ю. Морфологические изменения ламелл и филламентов жабр щуки (*Esox lucius*). Научно-исследовательские публикации. – 2014. – С. 25-29.
- 12 Mezenova O.Ya., Morovvati N., Keshtkar S., Romiani E. Exposure of *Sparidentex hasta* to salinity challenge: a study of gill chloride cells and plasma glucose level// *Известия ТИПРО*. – 2019. – С. 63-71.
- 13 Минеев А.К. Морфофункциональные изменения у *Abramis brama* Саратовского водохранилища// *Вопросы рыболовства*. – 2015. – С. 334.
- 14 Костицына Н.В., Кузьменко О.П. Характеристика морфологических параметров респираторной поверхности жабр обыкновенного пескаря *Gobio gobio* (L.) из разнотипных водоемов Пермского края// *Вестник Пермского университета*. – 2014. – С. 68-72.
- 15 Лопарёва Т.Я., Шарипова О.А., Петрушенко Л.В. Уровень накопления токсикантов в мышечной ткани рыб в водных бассейнах Республики Казахстан// *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство*. – 2016. – С. 115-122.
- 16 Крамар К.В. Содержание ртути в органах и тканях рыб// *Символ науки: Международный научный журнал*. – 2017. – С. 18-21.
- 17 Попов П.А., Андросова Н.В., Попов В.А. Характер накопления ртути в рыбах реки Оби// *Российский журнал прикладной экологии*. – 2019. – С. 51-56.
- 18 Минеев А.К. Морфофункциональные изменения у *Abramis brama* Саратовского водохранилища// *Вопросы рыболовства*. – 2015. – С. 345.
- 19 Грушко М.П., Фёдорова Н.Н., Насиханова М.Н. Состояние жизненно важных органов судака Волго-Каспийского бассейна// *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство*. – 2013. – С. 108-112.
- 20 Romeis V. *Microscopic technique* // Publishing house of foreign literature. – 1954. – 718 p.
- 21 Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. *Микроскопическая техника*// Советская наука. – 1957. – с. 234
- 22 Martoja R., Martoja-Pierson U. *Unition aui techniques de l'histologie animal*// Paris: Masson. – 1967. – 345 p.
- 23 Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. *Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов*// РАМН. – М. : Медицина. – 1996. – 544 с.
- 24 Нуртазин С.Т., Кобегенова С.С., Жаркова И.М., Решетова О.А. Морфологическое исследование внутренних органов отдельных видов рыб, обитающих в реке Иле в районе плотины// *Вестник КазНУ. Серия экологическая*. №3 (32). – 2011. – С.202-208.
- 25 Салмурзаулы Р., Нуртазин С.Т., Икласов М.К., Жаркова И.М. Экосистемы дельты реки Иле. Современное состояние и тенденции изменений: монография – Алматы: КазНУ – 2018. – С. 156-157

References

- 1 A.B. Suyunova, M.V. Zabolotnyh. (2016) *Ekologicheskij monitoring zagryazneniya ihtiofauny nefteproduktami i tyazhelymi metallami Kazahstanskogo sektora Kaspijskogo morya* [Environmental monitoring of fish fauna pollution by oil products and heavy metals in the Kazakhstan sector of the Caspian Sea]. *Vestnik KRASGAU*, pp. 83-90.
- 2 A. K. Mineev. (2015) *Morfofunkcional'nye izmeneniya u leshcha Abramis brama Saratovskogo vodohranilishcha* [Morphological and functional changes in the bream *Abramis brama* of the Saratov reservoir]. *Voprosy rybolovstva*, p. 334.
- 3 A. K. Mineev. (2015) *Morfofunkcional'nye izmeneniya u leshcha Abramis brama Saratovskogo vodohranilishcha* [Morphological and functional changes in the bream *Abramis brama* of the Saratov reservoir]. *Voprosy rybolovstva*, p. 345.
- 4 Débora M. S. Santos, Mércia Regina S. Melo, Denise Carla S. Mendes, Iolanda Karoline B. S. Rocha, Jakeline Priscila L. Silva, Sildiane M. Cantanhêde, Paulo C. Meletti. (2014) *Histological Changes in Gills of Two Fish Species as Indicators of Water Quality in Jansen Lagoon (São Luís, Maranhão State, Brazil)*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, pp. 12928-12934
- 5 K.V. Kramar. (2017) *Soderzhanie rtuti v organah i tkanyah ryb* [The content of mercury in the organs and tissues of fish]. *Simvol nauki: Mezhdunarodnyj nauchnyj zhurnal*, pp. 18-21.

- 6 Klishin A.YU. (2014) Morfunktional'nye izmeneniya lamell i filamentov zhabr shchuki (*Esox lucius*) [Morfunktional changes in gill lamellae and filaments of pike (*Esox lucius*)]. Nauchno-issledovatel'skie publikacii, pp. 25-29.
- 7 Müller-Belecke A., Zienert S. (2008) Out-of-season spawning of pike perch (*Sander lucioperca* L.) without need for hormonal treatments. *Aquaculture Research*, pp.1279 – 1285.
- 8 M. P. Grushko, N. N. Fyodorova, M. N. Nasihanova. (2013) Sostoyanie zhiznenno vazhnyh organov sudaka Volgo-Kaspijskogo bassejna [The state of the vital organs of the pike perch in the Volga-Caspian basin]. *Vestnik Astrahanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe hozyajstvo*, pp. 108-112.
- 9 Martoja R., Martoja-Pierson U. (1967) Unition aux techniques de l'histologie animal [Unition with techniques of animal histology]. Paris: Masson, p. 345
- 10 Márcio Moreira, Denise Schrama, Ana Paula Farinha, Marco Cerqueira, Cláudia Raposo de Magalhães, Raquel Carrilho, Pedro Rodrigues. (2021) Fish Pathology Research and Diagnosis; a Proteomics Perspective. *Animals (Basel)*, p. 125.
- 11 N. N. Fedorova, M. P. Grushko, N. A. Kanieva. (2019) Patomorfologicheskie izmeneniya zhiznenno vazhnyh organov volzhskih ryb [Pathomorphological changes in the vital organs of the Volga fish]. *Vestnik AGTU. Ser.: Rybnoe hozyajstvo*, no 4, pp.104-109.
- 12 N. V. Kosticyna, O. P. Kuz'menko. (2014) Harakteristika morfologicheskikh parametrov respiratornoj poverhnosti zhabr obyknovennogo peskarya *Gobio gobio* (L.) iz raznotipnyh vodoemov Permskogo kraja [Characteristics of the morphological parameters of the respiratory surface of the gills of the common gudgeon *Gobio gobio* (L.) from different water bodies of the Perm Territory]. *Vestnik Permskogo universiteta*, pp. 68-72.
- 13 Nurtazin S.T., Kobegenova S.S., ZHarkova I.M., Reshetova O.A. (2011) Morfologicheskoe issledovanie vnutrennih organov ot del'nyh vidov ryb, obitayushchih v reke Ile v rajone plotiny [Morphological study of the internal organs of certain fish species living in the Ile River in the area of the dam] *Vestnik KazNU. Seriya ekologicheskaya*, no 3 (32), – pp. 202-208.
- 14 O.Ya. Mezenova, H. Morovvati, S. Keshtkar, E. Romiani. (2019) Exposure of Sparidentex hasta to salinity challenge: a study of gill chloride cells and plasma glucose level. *Izvestiya TINRO*, pp. 63-71.
- 15 P.A. Popov, N.V. Androsova, V.A. Popov. (2019) Harakter nakopleniya rtuti v rybah reki Obi [The nature of the accumulation of mercury in the fish of the Ob River]. *Rossijskij zhurnal prikladnoj ekologii*, pp. 51-56.
- 16 Romeis B. (1954) Microscopic technique. Publishing house of foreign literature, p. 718
- 17 Roskin G.I., Levinson L.B. (1957) Mikroskopicheskaya tekhnika [Microscopic technique]. *Sovetskaya nauka*, p. 234
- 18 Sarkisov D.S., Perov YU.L. (1996) Mikroskopicheskaya tekhnika. Rukovodstvo dlya vrachej i laborantov [Microscopic technique. Guide for doctors and laboratory technicians]. M. : Medicina. p. 544
- 19 Santos T., Gomes V., Passos J. et al. (2011) Histopathological alterations in gills of juvenile Florida pompano *Trachinotus carolinus* (Perciformes, Carangidae) following sublethal acute and chronic exposure to naphthalene. *Pan- American J. of Aquatic Sciences*, vol. 6(2), pp. 109–120.
- 20 Steblevskaya M., S.V. CHusovitina, N.V. Polyakova, E.A. ZHad'ko. (2016) Izuchenie elementnogo sostava tkanej i organov nekotoryh vidov promyslovyh ryb buhty Severnaya zaliva Petra velikogo (Yaponskoe more) [Study of the elemental composition of tissues and organs of some species of commercial fish in the Northern Bay of Peter the Great Bay (Sea of Japan)]. *Rybohozyajstvennaya toksikologiya*, pp. 96-102.
- 21 T. YA. Loparëva, O. A. SHaripova, L. V. Petrushenko. (2016) Uroven' nakopleniya toksikantov v myshechnoj tkani ryb v vodnyh bassejnah Respubliki Kazahstan [The level of accumulation of toxicants in the muscle tissue of fish in the water basins of the Republic of Kazakhstan] *Vestnik Astrahanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe hozyajstvo*, pp. 115-122.
- 22 T. A. Gileva, e. A. Zinov'ev, n. V. Kosticyna. (2014) Soderzhanie tyazhelyh metallov v organah i tkanyah ryb, obitayushchih v raznotipnyh vodoemah permskogo kraja [The content of heavy metals in the organs and tissues of fish inhabiting the different types of water bodies of the Perm Territory]. *Agrarnyj vestnik Urala*, no 8 (126), pp. 73-77.
- 23 V. A. Kolobov. (2014) Ul'trastruktura hloridnyh kletok zhabernogo epiteliya molodi simy *Oncorhynchus masou* (SALMONIDAE) pri izmenenii solyonosti vody [The ultrastructure of chloride cells of the branchial epithelium of juvenile *Sima Oncorhynchus masou* (SALMONIDAE) upon changes in water salinity]. *Voprosy ihtiologii*, pp. 620-623.
- 24 ZHaparova S.B., Hamidullina ZH.K. (2017) Ocenka ekologicheskogo sostoyaniya malyh vodoemov Akmolinskoj oblasti [Assessment of the ecological state of small reservoirs of the Akmola region]. *Vestnik Omskogo regional'nogo instituta*, pp. 129-134.
- 25 R. Salmurzauly, S.T. Nurtazin, M.K. Iklasov, I.M. ZHarkova. (2018) Ekosistemy del'ty rekintle Ile. Sovremennoe sostoyanie i tendencii izmenenij: monografiya [Ecosystems of the Ile River Delta. Current state and trends: monograph]. Almaty: KazNU, pp. 156-157

МАЗМҰНЫ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

1-бөлім Ботаника	Section 1 Botany	Раздел 1 Ботаника
<i>Р.Ж. Әбдужерім, Ш.К. Масалимова</i> Фитосанитарная оценка состояния тропических и субтропических растений в условиях закрытого грунта		4
<i>Z.A. Inelova, E. Boros, Ye. Zaparina</i> Systematic analysis of aquatic and semi-aquatic flora of the unique water chemical composition of Zhalanashkol lake of the Almaty region		18
<i>A. Ахмет, А.У. Исаева</i> Фосфор қалдыктарының тест-өсімдіктерге фитоуыттылығын бағалау		27
<i>S.A. Abiev, A.N. Sarsenova, T.E. Darbayeva</i> The mycobiota oak forests of the Ural river valley within the West Kazakhstan region.....		37
<i>A.A. Құлбекова, Ж.Ж. Құжантаева, А.А. Бідырыс, Ж.М. Ералиева, Д.С. Батаева</i> <i>Triticum L.</i> және <i>Secale L.</i> туыстарының мәдени түрлеріне биохимиялық талдау жасау		46
<i>Zh.T. Tergenbaeva, L.N. Karasholakova, A.A. Kitapbaeva, K.Zh. Dakieva and A.A. Sumbembayev</i> Distribution and coenoflora of <i>Daphne altaica</i> (Thymelaeaceae) – a rare endemic species from eastern Kazakhstan.....		58
2-бөлім Биотехнология	Section 2 Biotechnology	Раздел 2 Биотехнология
<i>Н.Ш. Акимбеков, Қ.Т. Тастамбек, Д.К. Шерелхан, А.Б. Мылтыбаева, Н.П. Алтынбай, Х. Расулбекқызы, Р.Х. Гулам, П. Қуанышбек</i> Разработка биофункционализованного мелиоранта на основе угольной золы, насыщенной гумусом для улучшения здоровья почвы		72
<i>A.K. Daurova, D.V. Volkov, D.L. Daurov, K.K. Zhapar, Z.B. Sapakhova, D.A. Gritsenko, A. Pozharskiy, A. Abdrachmanova, M.Kh. Shamekova, K.Zh. Zhabakin</i> Production mutant lines of turnip rape (<i>Brassica rapa</i>) and its interspecific hybrids in the isolated microspore culture.....		100
3-бөлім Зоология	Section 3 Zoology	Раздел 3 Зоология
<i>Н.Ә. Бижанова, Ю.А. Грачев</i> Морфометрическая характеристика и заметки по половому диморфизму по черепам обыкновенной рыси (<i>Lynx lynx</i> Linnaeus, 1758)		110
<i>С.В. Ялышева, А.М. Абдыбекова</i> О распространении эхинококкоза в Республике Казахстан.....		119
4-бөлім Молекулалық биология және генетика	Section 4 Molecular biology and genetics	Раздел 4 Молекулярная биология и генетика
<i>А.В. Жигайлов, Р.Ж. Акбергенов, Н.С. Полимбетова</i> Исследование роли РНК-интерференции в регуляции дискретной фрагментации 18S рРНК растений		126
<i>Л.Т. Надирова, Д.К. Бейсенов, Г.Э. Станбекова, М.К. Сапарбаев, Б.К. Искаков</i> Клонирование кДНК-гена рибосомного белка S6 из <i>Arabidopsis thaliana</i> , его экспрессия в <i>Escherichia coli</i> и выделение рекомбинантного белка AtRPS6A1		138

5-бөлім
Адам және жануарлар
физиологиясы

Section 5
Molecular
biology and genetics

Раздел 5
Физиология
человека и животных

И.С. Алиев

Влияние физических нагрузок на биохимические показатели у футболистов-подростков 150

A.V. Kim, M.P. Yakhyarova, B.B. Kassenova, A.M. Kalimagambetov

Efficacy of using culture media in assisted reproductive technology programs 159

6-бөлім
Цитология
және гистология

Section 6
Human and Animal
Physiology

Раздел 6
Цитология
и гистология

Ж.Б. Олжабаева, Б.А. Абдуллаева, И.М. Жаркова, А.Ж. Тукпетова

Сравнительное гистологическое исследование жабр и печени сазана и судака, обитающих в озере Балхаш 170