

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

---

№1 (94)

Алматы  
“Қазақ университеті”  
2023



ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498

# ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ №1 (94) наурыз



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)  
Конуспаева Г.С., PhD, профессор (Қазақстан)  
Мухитдинов Н.М., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)  
Нуртазин С.Т., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)  
Туруспекан Е.К., б.ғ.к., қауымдастырылған профессор (Қазақстан)

Берсимбаев Р.И., б.ғ.д., профессор (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)  
Құрманғалиев Е., PhD (США)

## ТЕХНИКАЛЫҚ ХАТШЫ

Смекинов Изат, PhD (Қазақстан)

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

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



## Жоба менеджері

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

## Компьютерде беттеген

Ұлжан Молдашева

Баспа журналдың ішкі мазмұнына жауап бермейді.

Пішімі 60x84/16. Көлемі 12.25 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.

© Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, 2023

1-бөлім  
**БОТАНИКА**

---

Section 1  
**BOTANY**

---

Раздел 1  
**БОТАНИКА**

R. Iskenderova<sup>1,2</sup> , R. Yelnazarkyzy<sup>3\*</sup> , D. Kazkeyev<sup>1</sup> ,  
B. Raymbekova<sup>1</sup> , A. Ryskaliyeva<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>NAO Kazakh national agrarian research university, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>LLP «Agricultural experimental station of cotton and melon growing», Turkestan region, Kazakhstan, Atakent

<sup>3</sup>NAO Kazakh national agrarian research university, Kazakhstan, Astana

\*e-mail: rahia@mail.ru

## PHYTOSANITARY MONITORING OF COTTON PESTS

The article describes the route calculation of pests found in cotton fields sown in different periods of practice by farms of the Turkestan region. In connection with the current market economic competition for cotton crops, the most important direction in today's field of science is to increase productivity with minimal costs. Phytosanitary monitoring work is the main part of protecting cotton from pests. A determining factor for making the right decision in the approach to pest control in the field of plant protection and determining the number of treatments and timing of spraying. Therefore, a route survey was carried out in the conditions of the Turkestan region.

In a directional study, it was found that cotton moths settle on cotton fields on average on 1m<sup>2</sup>-0.5-2 pieces. In the conditions of the Turkestan region, 18-20 pieces per 100 plants were found in the cotton crop, exceeding the threshold of economic harm with pest drugs Dimilin 48% H. K., (0.1 l/ha), Tagrel E. K., (1.5 l/ha); Lyatrin E. K., (0.5 l/ha); Petra 5% H. K., (0.5 l/ha); Karate, 050 H. K., (0.5 l/ha) spraying was carried out. The spread of cotton root rot was 1.5% -11%, the development was 1.0 – 12%, and the spread and development of cotton gommosis was 1-3%.

**Key words:** cotton, pests, cotton trowel, caradrina, winter trowel, common spider mite, cotton root rot, gommosis, monitoring.

Р. Искенди́рова<sup>1,2</sup>, Р. Елназарқызы<sup>3</sup>, Д. Казкеев<sup>1</sup>,  
Б. Раимбекова<sup>1</sup>, А. Рыскалиева<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Мақта және бақша ауыл шаруашылығы тәжірибе станциясы, жауапкершілігі шектеулі серіктестігі, Түркістан облысы, Қазақстан, Атакент қ.

<sup>3</sup>Сакен Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университет, Қазақстан, Астана қ.

\*e-mail: rahia@mail.ru

### Мақта зиянкестерінің фитосанитарлық мониторингі

Мақалада Түркістан облысы шаруа қожалықтарының тәжірибе мөлтегінде әр мерзімде егілген мақта егісінде кездесетін зиянкестерге маршруттық есептеу жұмыстары жайлы баяндалған. Мақта дақылын қазіргі заман талабына сай нарықтық экономикалық бәсекеге байланысты, шығынды аз жұмсап, өнімді жоғарылату бүгінгі ғылым саласының ең басты бағыты. Фитосанитарлық мониторинг жұмысы мақтаны зиянкестерден қорғаудың негізгі бөлігі. Өсімдік қорғау саласындағы зиянкестермен күресу тәсілінде дұрыс шешім қабылдауға және өңдеу саны мен бүрку мерзімдерін анықтаушы фактор. Сондықтанда Түркістан облысы жағдайында маршруттық зерттеу жұмыстары жүргізілді.

Бағыттағы зерттеуде мақта алқаптарына мақта көбелегі орта есеппен 1м<sup>2</sup> жерде -0,5-2 дана қоныстанғаны анықталды. Түркістан облысы жағдайында мақта дақылында 100 өсімдікке 18-20 данадан кездесті, экономикалық зияндылық шегінен асқанда зиянкестерге қарсы препараттармен Димилин 48% с.к., (0,1л/га), Тагрел э.к., (1,5л/га); Лятрин э.к., (0,5 л/га); Петра 5% э.к., (0,5 л/га); Каратэ, 050 э.к.,(0,5л/га) бүрку жұмыстары жүргізілді. Мақта тамыр шірігінің таралуы – 1,5%-11%, дамуы 1,0-12%, ал, Мақта гоммозының таралуы мен дамуы 1-3%-ды құрады. Жапырақтың зақымданған жерлері бірнеше күннен кейін астынан қоңырланып, үстінен қызарып шыға келеді.

**Түйін сөздер:** мақта, зиянкес, мақта көбелегі, карадрин жер үсті көбелегі, күздік көбелек, кәдімгі өрмекші кене, тамыр шірігі, гоммоз, мониторинг.

Р. Искендинова<sup>1,2</sup>, Р. Елназаркызы<sup>3</sup>, Д. Казкеев<sup>1</sup>, Б. Раимбекова<sup>1</sup>,  
А. Рыскалиева<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ТОО «Сельскохозяйственная опытная станция хлопководства и бахчеводства»

Туркестанская область, Казахстан, г. Атакент

Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина, Казахстан, г. Астана

\*e-mail: rahia@mail.ru

### Фитосанитарный мониторинг вредителей хлопчатника

В статье рассказывается о маршрутном мониторинге вредителей встречающихся посеянном в опытах крестьянских хозяйств в разные сроки на хлопковом поле Туркестанской области. В связи с современной рыночной экономической конкуренцией хлопчатника повышение урожайности при минимальных затратах является важнейшим направлением современной науки. Фитосанитарный мониторинг является один из основных мероприятий по защите хлопчатника от вредителей. Определяющим фактором в борьбе с вредителями в защиты растений является своевременное применение обработки и сроки опрыскивания. Поэтому в условиях Туркестанской области были проведены маршрутные обследования. Изучены вредители хлопчатника при маршрутном обследовании в хозяйствах Туркестанской областей. Установлено, что хлопковая совка встречаются в среднем на 1 м<sup>2</sup> по – 0,5- 2 экз/шт. В условиях Туркестанской области на хлопковой культуре встречается 18-20 штук на 100 растений. При превышении экономического порога вредоносности использованы препараты Димелин 48% с.к., (0,1 л/га), Тагрел э.к., (1,5 л/га); Лятрин э.к., (0,5 л/га); Петра 5% э.к., (0,5 л/га); Каратэ, 050 э.к., (0,5 л/га). Пораженные растения с корневыми гнилями и гоммоза составляли – 1,0-12%, и 1-3%.

**Ключевые слова:** хлопчатник, вредители, хлопковая совка, карадрина, озимая совка, обыкновенный паутинный клещ, гниль корней хлопчатника, гоммоз, мониторинг.

### Introduction

The cotton industry is one of the most valuable raw materials for the production of food products. In its importance, it is on the same line as wheat in the country's economy. The value of cotton for the national economy is determined by a huge range of its use. For example, from 1 T of cotton raw materials, you can get 320 – 340 kg of fiber, 560 – 580 kg of cotton. In turn, from 34 kg of fiber, you can get 3500 m<sup>2</sup> of fabric, and from 580 kg of cotton – 112 kg of vegetable oil, 10 kg of soap, 270 kg of sesame seeds, 170 kg of husks and 8 kg of lint. It is the basis for the production of various types of refined oils, soaps, washing powders, linoleum, sealing tapes, artificial leather [1].

“I don't know,” he said, “ but I don't know, and I don't know, but I don't know, and I don't know, and I don't know, and I don't know, and I don't know, and I don't know.” Currently, there is a reduction in acreage and a decrease in crop yields. Cotton is grown in the country in the southern regions of Kazakhstan, including Zhetysai, Maktaaral, Shardara, Keles, Saryagash and Turkestan, Ordabasinsky districts [2].

Phytopathology monitoring is considered the main part of protecting cotton from pests. The determining factor for making the right decision in the ap-

proach to pest control in the field of plant protection and the number of treatments and timing of spraying.

Currently, the introduction and development of crop rotation in cotton production, the use of a correct and effective tillage system, improving the reclamation status of irrigated land, moisture and precipitation in the soil composition on the ground – in addition to the effective use of water, irrigation in winter, improving the culture of the agricultural system, the organization of seed production, the use of organic, inorganic and mineral fertilizers in accordance with the peculiarities of biological development of crops, the formation of mechanization of all advanced agrotechnical measures, the timely application of rational directions of Agriculture in general.

The high yield of cotton per hectare directly depends on the introduction of agrotechnical measures into production. It is necessary to carry out a set of other measures: tillage, sowing methods, the amount of sowing, the use of local and mineral fertilizers in the required amount, weeding and the use of agrotechnical and chemical methods, protection from pests and diseases, mechanization of weeding and harvesting operations and irrigation.

In recent years, the issue of rational use of irrigated cotton crops by peasant farms, protection

against diseases, pests and weeds, timely use of insecticides in accordance with the requirements of the time, improving the quality of cotton products, and the ability to carry out phytosanitary monitoring in a timely manner is also relevant.

Within the framework of timely phytosanitary monitoring, it is possible to get a high-quality, rich harvest only by applying various agrotechnical methods to cotton, spraying pests without bringing them to the limit of economic harmfulness. In the data of phytosanitary monitoring, depending on the density of harmful organisms in cotton crops, the threshold of economic harmfulness, there is a need to correctly apply effective methods of plant protection systems.

In the conditions of the Turkestan region, cotton crops are affected by numerous pests and specialized ones: common spider mites, moths: autumn, caradrin and cotton moths; aphids (cotton or garden, alfalfa or Acacia, large cotton) [3,4,5]. Larvae of multi-feeding pest rodent butterflies (autumn and wild butterflies), starworms and caterpillars of crested and planed beetles, etc [6,7].

In order to protect cotton crops from pests, phytosanitary monitoring was carried out in Turkestan region.

### Objects and methods of research

The distribution of phytophages in cotton fields was determined on the basis of periodic route studies in the Turkestan region. Before sowing cotton in the unprocessed area in early spring 2020, as in autumn, an inspection was carried out. To calculate the wintering pupa, a sample was taken in 20 microdistricts with a size of 0.25 m<sup>2</sup> (50x50cm) in an uncultivated area with a depth of up to 10cm; in an uncultivated area with a depth of up to 20cm was taken.

100 plants (5 plants in each sample) were examined in each field to take into account the eggs of cotton butterflies and starworms. The samples were numbered and placed at the same distance on two diagonals, and the eggs of the cotton brown butterfly and caradrin land moth and its entomophages, the number of starworms according to their age, the type of entomophages and the stage of development (Imago, larva, egg) were examined and calculated. During each examination, the upper buds of the Cotton, the lower and upper sides of the leaves, the fruit organs – flowers, nodes, tops-were examined.

In spring and summer, the flight of cotton butterflies in cotton and corn fields continued from May until the end of the growing season, placing

pheromone traps on the microdistricts and hanging them in 2-3 pieces on a field with an area of 3 hectares.

Work on the calculation of the butterfly was carried out every 5 days and the data was entered in the log [8,9,10]. Indicators of the number of butterflies caught in the trap with the period of mass flight of the cotton butterfly, the peak of flight was established and the period of egg laying during the mass flight of butterflies was determined. In autumn, after harvesting cotton crops, in the same microdistrict and in the fields of corn and alfalfa, along the road, the number of pupae for wintering on 1 m<sup>2</sup> was calculated, which was taken to predict the growth and spread of pests next year. The method of verification works is the same as the calculation works in the spring.

The effectiveness of protective measures to combat the cotton moth depended on setting deadlines for their implementation. Starworms stay on the surface of damaged plants for a short time, then enter cotton husks or corn cobs, and therefore bioagents (trichogram, gabrobrakon, chrysopidae) were sent to a stationary microdistrict [11,12,13, 14]. For the reproduction of trichograms, gabrobrakon, goldenrod, it was not allowed to infect them with ticks, and grain and nutrient mixtures with warehouse pests. Products imported from the warehouse and granary were sterilized in autoclaves before use [15,16,17].

Testing or spraying of insecticides against cotton pests was carried out according to the methodological instructions of preparations registered in agriculture. When carrying out plant protection measures, an assessment of their biological, economic and economic efficiency was made. The biological effectiveness of the use of insecticides against pests was determined by the Abbot equation below:

$$Be = \frac{a - b}{a} \times 100$$

here:

B<sub>e</sub>-biological efficiency, % number of pests or reduced damage to various plant organs;

a – the number of live individuals of the pest under control (per plant or per square meter) as of the reporting day;

b – the number of live individuals of the pest (per plant or per square meter) or affected plants in the experiment as of the reporting day [18]. According to the product indicators of each variant, the economic efficiency of the tested chemical preparations

was determined. Mathematical processing of the obtained data on product indicators was carried out by the method of dispersion analysis [19].

In experimental microdistricts, where experimental work is carried out, control works are carried out in full in the spring and throughout the growing season, when pests appear, in the resulting microdistricts. After processing the degree of damage to the plant, the total number of plants and their damage were calculated at the same calculated distances in the microdistrict for 3,7,14 days. The economic effectiveness of using biological agents against harmful moths in cotton was determined by collecting all raw cotton products in the microdistrict by hand (1st, 2nd collection) or by combine harvesters. If necessary, the volume of stored products was determined by collecting products in Model microdistricts [20].

The limit of economic harmfulness of the cotton moth (ESR) is 6-8 eggs per 100 plants in cotton, or 8-10 starworms or pheromone traps – 8-10 butterflies per day in 1 holder, where spraying was carried out and entomophages (trichograms, golden eyes and poisons) were released [3,21, 22]. The effectiveness of protective measures to combat the cotton moth also depended on the timing of their implementation. The starworm was only a short time in the affected cotton leaf, then penetrated into the cotton husk and corn cob, and was not destroyed after sowing insecticides, so trichograms were sent to the cotton field against the cotton moth 3 times in each generation, and *gastrobracon* to the starworm [23,24,25,26].

### Research results and their discussion

Research in experimental microdistricts of peasant farms located in the Turkestan region, the number of pests encountered in the work on calculating the route route for pests found in cotton fields sown in different periods (Table 1).

A type of pest found in the cotton field: the Cotton brown butterfly – *Heliothis armigera* Hub., caradrin, or small terrestrial butterfly-*Spodoptera exigua* Hbn., the common spider mite – *Tetranychus urtica* Koch., the great cotton Beetle – *Acyrtosiphon gossypii* Mordv., garden aphids or cotton aphids – *Aphis gossypii* Glov., alfalfa aphids-*A. craccivora* Koch., autumn butterfly (*Agrotis segetum* Schiff), wild butterfly (*Euxoa conspiciua* Hb).

There were many polyphages in cotton, and only about 10 species of multi-feed pests and specialized pest species caused significant crop losses.

The economic and biological effectiveness of phytosanitary monitoring and protection measures against pests that planted cotton crops in different seasons and cultivated them in different technological ways was demonstrated. The species composition of pests found in cotton crops is determined.

Cotton moth-*Helicoverpa armigera* Hubn. The pest is distributed in the south and south-east of Kazakhstan. Foci of spread and damage of the cotton moth are distributed in the cotton fields of Turkestan region, in the corn fields of Almaty region, in the fields of corn and melons of Zhambyl region.

Wintering pupae of the cotton moth spring research work was carried out on a total area of 9,610 thousand hectares. The population was 1,3,5,7 thousand hectares. The population density of cotton butterfly dolls ranged from 0.3 to 3 pieces per square meter. In the conditions of the Turkestan region, 75% of pupae (13% sick and 12% dead) overwintered comfortably. Summer studies of the cotton moth starworm were carried out on an area of 206,190 thousand hectares. The settled area was 47,947 thousand hectares. The area of land to be cultivated was 34,870 thousand hectares.

The flight of the first generation of the cotton butterfly was recorded in the first decade of May. The first generation of starworms appeared in the third decade of May, its number per square meter was 0.5-2 pieces. The flight of the second generation of the cotton butterfly was recorded in the first decade of July, the appearance of starlings occurred in July, in the conditions of the Turkestan region, the cotton crop reached 15-18 pieces per 100 plants. The flight of the third generation of cotton butterflies was recorded in the first decade of August, and pupation was recorded in the third decade of August.

The density of pupae for wintering in Turkestan region is up to 3 pieces per square meter, and in Ordabasy district-0.2-1.0 pieces per square meter.

Forecast: in 2021, the planned volume of chemical treatment against cotton moth starworms amounted to 36,666 thousand hectares, including 26,366 thousand hectares in cotton fields and 10.3 thousand hectares in corn fields.

**Table 1** – Phytopsanitary monitoring of pests and diseases in cotton fields, data, 2020-2021.

Peasant farms	District, ga	Cotton butterfly, per 100 plants/ piece	Caradrin or ground butterfly, per 100 plants / piece	Common spider mite per 100 plants / piece	Autumn butterfly, PCs/m <sup>2</sup>	Cotton root with rot damage, %	Cotton gommosis infection, %
Maktaaralsky district, Karakaysky district)	10	10,8	7,1	87,8	0,3	6,5	3,0
Maktaaralsky district, «Tansholpan»	10	11,6	8,3	99,5	0,2	5,2	2,7
Maktaaralsky district, Atameken «Arai»	8	11,2	8,3	99,6	0,3	1,0	1,9
Maktaaralsky district, Nurlybayev «Berek»	5	12,6	8,6	90,5	0,2	12,0	2,8
Saryagash district, «Unity»	5	10,9	7,8	103,3	0,4	1,5	2,6
Shardarinsky district, Zhaushykum «Korasan Ata»	5	11,3	7,1	101,9	0,2	8,9	1,0

Spring research on the common spider mite – land used for agriculture-was carried out on an area of 12,230 thousand hectares, and the settlement amounted to 1,738 thousand hectares. Spider mites were detected in cotton fields of Turkestan region.

During the spring period, overwintering of spider mites, the appearance of weeds was recorded in the first decade of May, up to 4% in the case of Zhambyl region (0.5 pieces per square meter), and more than 18-20% in the case of Turkestan region.

Summer research work on the settlement of the common spider mite was carried out on an area of 256,210 thousand hectares, and its settlement – 46,720 thousand hectares. The land to be cultivated is 31,100 thousand hectares.

In the conditions of the Turkestan region, the density of pest settlement on cotton was 18-20% (in cotton fields, the pest reproduces by giving 13-15 generations). Autumn surveys of agricultural land were carried out on an area of 13.78 thousand hectares, and 2.182 thousand hectares were settled. During the autumn monitoring, in the conditions of the Turkestan region, the population in the studied area did not exceed 8-10%.

Forecast: in 2021, the volume of planned protective measures to control the dynamic number of common spider mites amounted to 32.25 thousand hectares, including 15.15 thousand hectares in cotton fields.

Caradrin, or ground butterfly-*Spodoptera exigua* Hb. In the conditions of the Turkestan region, the pest is covered with a plan of 41.0 thousand hectares, of which summer research on starworms is car-

ried out on an area of 37.2 thousand hectares, and its settlement is recorded on 9,178 thousand hectares. The area with a high number of starworms with a high threshold of economic harm (EIS) was 5.46 thousand hectares, which is 4.99 thousand hectares less than last year (10.45 thousand hectares).

Pupation of caradrin, or ground butterfly starworms, was recorded in the second decade of April. The first flight of butterflies of the first generation was observed on May 8, and the mass flight was observed on May 15. Egg laying is scheduled for June 15. The first birth of starworms of the first generation was recorded on June 18, and the mass birth was recorded on June 24. The pupation was determined on June 26. The flight of the second-generation butterfly began on July 5, and the laying of butterflies began on July 12. The birth of the second generation of starworms began on July 18, pupation-on July 28. The flight of butterflies of the third generation was recorded on August 17, laying eggs on August 21. The release of the third generation of starworms began on August 22, pupation began on September 20, and mass pupation began on September 27.

Forecast: in 2021, the number of cotton pests will not increase, but the development of the pest may be affected by the weather. It is expected that in 2021, chemical treatment will be carried out on an area of 5.46 thousand hectares.

Autumn butterfly-*Agrotis segetum* Schiff. In the southern region, the first pupation of autumn starworm butterflies was recorded on April 22. The first flight of butterflies was recorded on May 2-14, the second – on May 14-19. The birth of starworms was



observed in the third decade of May, with an average density of 0.1-0.4 pieces per 1 square meter. The mass release of starworms was recorded in the first decade of June. Their average density per 1 square meter was 0.2 pieces in cotton field and 0.2 pieces in corn field. The flight of butterflies of the new generation is marked from July 5-10, laying eggs – on July 13. From July 15-18, the birth of starworms was determined. The number of starworms per 1 square meter was 0.2-0.3 pieces.

Forecast: in 2021, the number and harmfulness of rodent butterflies will depend on the wintering of the pest, weather conditions in the spring and summer period, as well as on the results of timely agrotechnical measures.

Cotton root rot-*Thielaviopsis basicola* Ferraris. Monitoring works to detect the disease in the conditions of the Turkestan region were carried out from May 7 to August 29. The first signs of the disease in cotton fields were recorded on May 14 in Zhambyl rural district of Maktaaralsky district on an area of 0.002 thousand hectares to a lesser extent. Then the disease was registered in Zhetysai district. Compared to last year, the infected area has increased due to the climatic conditions of the weather and last year's preservation of the infectious fund. In general, in the conditions of the Turkestan region, 3.18 thousand hectares of land were examined, the infected area amounted to 0.356 thousand hectares, distribution – 1.5% -11%, Development-1.0-12%.

Cotton gommosis-*Xanthomonas campestris* pv. In the conditions of the Turkestan region, a total of 2,860 thousand hectares of land were examined for the study of the disease. Symptoms of the disease were observed on May 29 in the farm "Karakai" of

Maktaaralsky district in the initial degree of development. The total damage amounted to 0.002 thousand hectares. Distribution and development was 1.0-3.0%. Compared to last year, the infected area decreased by 0.003 thousand hectares. This was facilitated by the timely implementation of agrotechnical measures and seed treatment.

Forecast: in 2021, in the absence of compliance with crop rotation, agrotechnical and chemical measures, the spread of cotton gommosis is quite possible.

### Conclusion

In the experimental microdistrict of peasant farms, work was carried out to calculate the route route for pests found in cotton fields sown in different periods. In the study of the route on the route, it was found that the cotton moth settled in cotton fields on an average of 1m<sup>2</sup> – 0.5-2 pieces. Starworms of the first generation of the cotton moth appeared in the third decade of May, its number per square meter was 0.5-2 pieces. Starworms of the second generation of cotton butterflies in the conditions of the Turkestan region were found in the cotton crop in the amount of 18-20 pieces per 100 plants, in microdistricts that exceeded the threshold of economic harmfulness, in the pest control experiment Dimilin 48% s.k., (0.1 L/ha), and in other farms Tagrel e.k., (1.5 l/ha); Lyatrin e.k., (0.5 l/ha); Petra 5% e.k., (0.5 l/ha); karate, 050 e.k., (0.5 l/ha) was sprayed with preparations. The prevalence of cotton root rot was 1.5% -11%, the development was 1.0 – 12%, and the prevalence and development of cotton gommosis was 1-3%.

### References

1. Umbetaev I. technology of ventilation of new domestic varieties of bellows in the south of Kazakhstan. – Almaty: Start. 2005. – P.12.
2. Ombaev A. M., Aldabergenov K. I., Abishev I. A. Umbetov I. "The system of development of agricultural production in Turkestan region". – Almaty: Start. 2006. – P.15.
3. Iskenderova R. A. pests of agricultural crops. – Almaty, 2017. – P.242.
4. Ismukhambetov zh. D. number and composition of entomoacariphages of food agrocenosis in South Kazakhstan. Material of the international scientific conference "protection of crops and environmental sustainability of agrocenoses". "No," she said. 2014. – P.71-72.
5. Byrne D.S. Whitefly biology / Byrne D.S., Wellows T.S. // Ann. Rev. Entomol.-1991.-voh 36. – P.431-457.
6. Sagitov A.O., Ismukhambetov Zh.D., Recommendations for the biological protection of cotton against cutworms in the south of Kazakhstan, Almaty-Rakhat. 2011 – P.3-23.
7. Amanzholov R.A., Ashikbaev N.Zh., Alpysbaeva K.A. and other Biological method of plant protection in Kazakhstan. // J. Bulletin. -Almaty. -2011. -No. 11. -S. 39-45.
8. Sagitov A. O., Ismukhambetov zh. d., Koishibayev M. K., Iskak S. A. methodological recommendations on accounting and detection of particularly dangerous investors and rural areas. – Almaty, 2003. – P. 195.
9. Ismukhambetov zh. d., Sagitov A. O., Dyusembekov B. A. recommendations for biological protection of cotton crops in South Kazakhstan from harmful butterflies.// – Almaty, Bastau. -2011. – P.28.

10. Sagitov A.O., Jumakhanov B.M., Alpysbaeva K.A. Use of biological agents against the cotton moth, a cotton pest. International scientific-practical conference. Shymkent. 2011. – P.36-37.
11. Hassanpour, M., Mohaghegh, J., Iranipour, S., Nouri-Ganbalani, G. and Enkegaard, A. (2011). Functional response of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): Effect of prey and predator stages. *Insect Science*, 18: 217-224.
12. Khan M. A. Integration of Selected Novel Pesticides with *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: *Trichogrammatidae*) for Management of Pests in Cotton / *J. Agr. Sci. Tech.* (2019) Vol. 21(4): – P.873-882
13. Lian-Sheng Zang, Su Wang, Fan Zhang, Nicolas Desneux. Biological Control with *Trichogramma* in China: History, Present Status, and Perspectives. *Annual Review of Entomology* 2021 66:1, – P.463-484
14. Murray D. A. H., Rynne K. P., Winterton S. L. Bean J. A., Lloyd R. J. Effect of Host Plant on Parasitism of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) by *Hyposoter didymator* Thunberg (Hymenoptera: Ichneumonidae) and *Cotesia kazak* (Telenga) (Hymenoptera: Braconidae). *Australian Journal of Entomology*. –Volume. 34, Issue 1. –2004. – P. 71–73.
15. Khan, R.R., Ashfaq, M., Ahmed, S. and Sahi, S.T. 2009. Mortality responses in *Bracon hebetor* (Say) (Braconidae: Hymenoptera) against some new chemistry and conventional insecticides under laboratory conditions. *Pak. J. Agri. Sci.* 46(1):30-33.
16. Lettmann J, Mody K, Kursch-Metz TA, Blüthgen N, Wehner K. *Bracon* wasps for ecological pest control—a laboratory experiment. *PeerJ*. 2021;9:e11540. Published 2021 May 27. doi:10.7717/peerj.11540
17. Shah, N., Ganguli, J., Bhowmick, A. K., & Jaiswal, S. K. (2021). Comparison of the Life Cycle Related Parameters of *Bracon hebetor* say on *Helicoverpa armigera* Hubner Reared on different Hosts. *Biological Forum – An International Journal*, 13(1): 602-606.
18. Alpysbaeva K.A., Abzeitova E.A. The use of beneficial angiosperms against cotton moth (*Helicoverpa armigera* Hbn.), the main pest of cotton in South Kazakhstan // *Zh. Searches, results*. Almaty. 2012. – No. 4. – P.42-47.
19. Dospekhov B.A. Methodology of field experience (with basics of statistical processing of research results). 5th edition revised and supplemented – M.: Agropromizdat, 1985. – P.351.
20. Alpysbaeva K.A., Abzeitova E.A. Use of *Bracon* (*Bracon hebetor* Say.) bioagent to protect cotton crop from cotton moth in South Kazakhstan. // *J. Herald*. Almaty. 2013 – No. 12. – P. 16-18.
21. Thomson L.J., Hoffmann A.A. Laboratory fecundity as predictor of field success in *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) / *J.econ.Entomol.* - 2002.- Vol.95-N 5. – P.912-917.
22. Faradzheva S.A., Gumbatov O.M. *Brakon*: breeding and application // *J. Plant Protection*. – M. 1995. – No. 3. – P. 16-17.
23. Shuping Luo, Steven E. Naranjo, Kongming Wu. Biological control of cotton pests in China / *Biological Control* 68 (2014) 6–14
24. Aslam, M., Razaq M., Rana, S. and Faheem, M. 2004. Efficacy of different insecticides against bollworms on cotton. *Journal of Research Science*, 15(1): 17–22.
25. Razinataj, M., Jokar, M., Mojeni, T., Heravi, P., Haghnama, K., Abravan, P. (2020). Evaluation of the Effectiveness of Some Synthetic Insecticides Against Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 13(4), 141-146. doi: 10.21608/eajbsa.2020.122635
26. Saad, A.S.; Tayeb E.H.; Awad, H.A. and Abdel Rehiem, A.S. (2015): *Trichogramma evanescens* release in correlation with certain pesticides against the spiny Bollworm, *Earias insulana* (Boisd.) (Lep., Noctuidae) infestation in early and late cotton cultivation. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 5(1): 290-296.

<sup>1,2</sup>R.E. Kaparbay , <sup>1</sup>A.D. Tolenova , <sup>1</sup>D.M. Almabek ,  
<sup>3</sup>A.A. Ivashchenko , <sup>1</sup>K.T. Abidkulova , <sup>2</sup>B.B. Arynov 

<sup>1</sup>SNNP «Kolsay kolderi» of CFW MEENR RK, v. Kazakhstan, Saty

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

<sup>3</sup>Institute of Zoology of KN MES RK, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: raushan.kaparbay@mail.ru

## MONITORING OF RARE FLORISTIC ELEMENTS OF THE NORTHERN TIEN-SHAN MOUNTAIN FOREST

Mountain forests of the Northern Tien Shan are distinguished by high floristic diversity and a large number of plant communities. Among the latter there are several unique relict plant communities dominated by *Picea*, *Malus*, *Prunus*, and *Celtis* spp, as well as tugai forests. The most species-rich are forests dominated by *Picea schrenkiana* Fisch. & C.A. Mey. (450-500 species), *Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem. (400 species), and *Armeniaca vulgaris* Lam. (about 250 species). The least species-rich are tugai forests with *Hippophae rhamnoides* L. (140 species) and hackberry forests dominated by *Celtis caucasica* Willd. (119 species). In these forests, there are 24 Red Book species, including *Hepatica falconeri* (Thoms.) Steward, *Epipactis palustris* (L.) Crantz, *Tulipa tarda* Stapf, and *Gymnospermium altaicum* (Pall.) Spach., which are the objects of special research. The article presents the results of the study of natural populations of the last three species, in particular, the numbers and density, age spectra and morphological variability of generative individuals. For one of the rarest species, *Hepatica falconeri*, the results of two years of observations of an introduced population established in the village of Saty near the central estate of Kolsay Koldery National Park. It was created by transferring generative individuals from the largest natural population (Taldy Gorge, 1693 m). Comparative data on the species phenology, including the relationship between the rate of flower opening, illumination and temperature, were obtained. The article emphasizes the lack of study of the distribution of certain rare species within the Northern Tien Shan, as evidenced by new findings of the authors: *Epipactis palustris* and *Paeonia intermedia* C.A. Mey. in the Kolsay Koldery National Park. Based on this, the authors propose to conduct special studies or include the study of rare species in the work plans of specially protected territories.

**Key words:** mountain forests, population, *Hepatica falconeri*, *Epipactis palustris*, *Tulipa tarda*, *Gymnospermium altaicum*.

Р.Е. Қапарбай<sup>1,2\*</sup>, А.Д. Төлөнова<sup>1</sup>, Д.М. Алмабек<sup>1</sup>,  
А.А. Иващенко<sup>3</sup>, К.Т. Абидкулова<sup>1</sup>, Б.Б. Арынов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ҚР ЭГТРМ ОШЖДК «Көлсай көлдері» мемлекеттік ұлттық табиғи паркі РММ, Қазақстан,  
Қ. Ұларақов көш., Қазақстан, Саты ауылы

<sup>2</sup>Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>ҚР БҒМ ҒҚ «Зоология институты» ШЖҚ РМК, Қазақстан, Алматы қ.

\*e-mail: raushan.kaparbay@mail.ru

### Солтүстік Тянь-Шань таулы ормандарының сирек флоралық элементтерінің мониторингі

Солтүстік Тянь-Шань таулы ормандары флоралық әртүрлілігімен және өсімдіктер қауымдастығының байлығымен ерекшеленеді, олардың ішінде бірегей реликтілер: шыршалар, алма ағаштары, өрік ағаштары, таудаған және тоғайлар. Шыршалар ішінде флоралық құрамы бойынша ең байы *Picea schrenkiana* Fisch. & C.A. Mey. (450-500 түр), алма ағаштары *Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem. (400 түр) және өрік ағаштары *Armeniaca vulgaris* Lam. (250 түр шамасында), ең кедейі – тоғай *Hippophae rhamnoides* L. (140 түр) және таудаған *Celtis caucasica* Willd. (119 түр) болып табылады. Бұл ормандардың құрамында Қызыл кітапқа еңген 24 түр, соның ішінде *Hepatica falconeri* (Thoms.) Steward, *Epipactis palustris* (L.) Crantz, *Tulipa tarda* Stapf және *Gymnospermium altaicum* (Pall.) Spach. арнайы зерттеу объектілері болып табылады. Мақалада соңғы үш түрдің табиғи популяциясын, атап айтқанда, генеративтік дарақтардың саны мен тығыздығын, жас спектрлерін және морфологиялық өзгергіштігін зерттеу нәтижелері көрсетілген. *Hepatica falconeri* сирек кездесетін түрлерінің бірі бойынша ең ірі табиғи популяциядан көшірілген генеративтік дарақтардың «Көлсай көлдері» ұлттық паркінің орталық кеңсесі жанындағы

Саты ауылында құрылған интродукциялық популяция базасында 2 жылдық бақылаулардың нәтижелері баяндалады (Талды сайы, 1693 м). Түрдің фенологиясы, оның ішінде жарық пен температураға байланысты гүлдердің ашылу мерзімі туралы салыстырмалы мәліметтер алынды. Мақалада «Көлсай көлдері» ұлттық паркінде *Eriopactis palustris* және *Raeonia intermedia* С. А. Мей авторларының жаңа тұжырымдары көрсеткендей, Солтүстік Тянь-Шаньдағы сирек кездесетін түрлердің таралуын зерттеудің жеткіліксіздігі атап өтілген. Осыған сүйене отырып, авторлар арнайы зерттеулер жүргізуді немесе сирек кездесетін түрлерді зерттеу тақырыптарын ерекше қорғалатын табиғи аумақтардың жұмыс жоспарларына енгізуді ұсынады.

**Түйін сөздер:** таулы ормандар, популяция, *Hepatica falconeri*, *Eriopactis palustris*, *Tulipa tarda*, *Gymnospermium altaicum*.

Р.Е. Қапарбай<sup>1,2\*</sup>, А.Д. Толенова<sup>1</sup>, Д.М. Алмабек<sup>1</sup>, А.А. Иващенко<sup>3</sup>,  
К.Т. Абидулова<sup>1</sup>, Б.Б. Арынов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>«Көлсай көлдері» МҰТП ҚР ЭГЖТРМ ОШЖЖДК, Қ.Ұлтарак к., Саты а., Қазақстан

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

<sup>3</sup>Институт зоологии КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: raushan.kaparbay@mail.ru

### Мониторинг редких флористических элементов горных лесов Северного Тянь-Шаня

Горные леса Северного Тянь-Шаня отличаются флористическим разнообразием и богатством растительных сообществ, среди которых уникальные реликтовые: ельники, яблонники, абрикосники, каркасники и тугай. Самые богатые по флористическому составу ельники из *Picea schrenkiana* Fisch. & С.А. Мей. (450-500 видов), яблонники из *Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem. (400 видов) и абрикосники из *Armeniaca vulgaris* Lam. (около 250 видов), самые бедные – тугай с *Hippophae rhamnoides* L. (140 видов) и каркасники из *Celtis caucasica* Willd. (119 видов). В составе этих лесов встречаются 24 краснокнижных вида, в том числе *Hepatica falconeri* (Thoms.) Steward, *Eriopactis palustris* (L.) Crantz, *Tulipa tarda* Stapf и *Gymnospermium altaicum* (Pall.) Spach., являющихся объектами специальных исследований. В статье излагаются результаты изучения природных популяций трех последних видов, в частности, численности и плотности, возрастных спектров и морфологической изменчивости генеративных особей. По одному из редчайших видов *Hepatica falconeri* излагаются результаты 2-х летних наблюдений на базе интродукционной популяции, созданной в пос. Саты при центральной усадьбе национального парка «Көлсай көлдері» из живых генеративных особей, перенесенных из самой крупной природной популяции (ущ. Талды, 1693 м). Получены сравнительные данные по фенологии вида, в том числе, скорости раскрытия цветков в зависимости от освещенности и температуры.

В статье подчеркивается недостаточность изученности распространения отдельных редких видов в пределах Северного Тянь-Шаня, о чем свидетельствуют новые находки авторов *Eriopactis palustris* и *Raeonia intermedia* С.А. Мей. в национальном парке «Көлсай көлдері». На основе этого, авторы предлагают проводить специальные исследования или включать тематику по изучению редких видов в планы работы особо охраняемых природных территорий.

**Ключевые слова:** горные леса, популяция, *Hepatica falconeri*, *Eriopactis palustris*, *Tulipa tarda*, *Gymnospermium altaicum*.

Mountainous regions (together with the mountain-foothills and desert-steppe plain) occupy a relatively small area, about 15% of the entire territory of the Republic of Kazakhstan. They are famous for their high floristic diversity and a large number of plant communities. These regions host three quarters of all plant species and more than 30 plant communities [1,2]. The mountain vegetation is very important to the biosphere. However, the conditions of its existence are extreme, and it is especially vulnerable to various adverse factors, both natural and man-made (agricultural, technogenic and recreational). In this mountains, unique coniferous forests (over 0.5 million hectares) and

deciduous forests (0.3 million hectares) are concentrated, contributing to climate stabilization, especially in the vicinity of large settlements [2]. The problems of preserving, studying and monitoring not only all forest ecosystems of the mountain regions, but also the rarest and most vulnerable of them, as well as all components of their biological diversity are extremely relevant. Of paramount importance are the mountains of the Northern Tien Shan. They experience the largest anthropogenic load due to relatively easy access and dense population (the presence of settlements at the foot of the mountains making a strong impact on the environment).

## Materials and Methods

The research was carried out mainly in the two state national parks, Ile-Alatau and Kolsay Koldery, as well as in the adjacent territories of the Northern Tien Shan. The identification of natural populations was carried out by the method of reconnaissance routes designed on the basis of literary and herbarium data available for individual species. Ecological and phytocenotic characteristics of species were compiled on the basis of descriptions of geobotanical sample plots established according to the generally accepted methodology [3,4]. To clarify the taxonomic affiliation of individual species, a herbarium was collected; species were identified according to large regional summaries [5,6,7]. Population and cenopopulation density and age distribution of herbaceous species were recorded along transects with a size of 20x1 m or 10x1 m, divided into subplots with a size of 1x1 m (to determine the occurrence in %), and of tree and shrub species, on plots with a size of 25 to 100-400 m<sup>2</sup>.

The surveys were carried out mainly in four age groups: juvenile – *j*, immature – *im*, virgin – *v*, and generative – *g*, in accordance with the methodological instructions of T.A. Rabotnov [8], A.A. Uranov [9], A.A. Uranov and O.V. Smirnova [10], Yu.A. Zlobin and others. [11]. In some cases (if any), sprouts (*p*), senile and sub-senile (*s*, *ss*) individuals

were recorded, whereas generative individuals were divided into several groups – *g<sub>1</sub>*, *g<sub>2</sub>*, etc., according to their size. In introduced naturalized populations (Botanical Garden and Boulevard of Almaty, a collection site in the village of Saty, near the central manor of Kolsay Koldery National Park), more detailed observations were carried out over the past 2-3 years, taking into account phenology and morphological variability. Generally accepted methods of phenological observations were used [12], and the morphometric data were processed in Microsoft Office Excel 2007. Seed productivity was determined according to a method of I.V. Vainagy [13], by using 30-50 fruits at each point, and in introduction, sometimes by surveying all individuals. The taxonomic treatment was according to S.A. Abdullina [14].

## Results and Discussion

Since the early 1990s, research has been carried out by all authors in forest communities of five types: spruce forests, near a stream tugai forests with sea-buckthorn, apricot forests, apple tree forests, and hackberry forests. With the exception of tugai forests, all forest types belong to the category of rare and in need of special protection and monitoring [15]. In the forest ecosystems listed, there are 24 species of rare plants (Table 1) listed in the Red Book of Kazakhstan [16].

**Table 1** – Distribution of rare plant species by mountain forests

№	Species	Spruce forest	Tugai	Apricot forest	Apple tree forest	Hackberry forest
1	2	3	4	5	6	7
	<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	+	+	+	+	+
	<i>Atraphaxis muschketowii</i> Krasn.	-	-	+	+	+
	<i>Berberis iliensis</i> Popov	-	+	-	-	-
	<i>Celtis caucasica</i> Willd.	-	-	+	+	+
	<i>Corydalis semenovii</i> Regel	+	+	-	-	-
	<i>Crocus alatavicus</i> Regel et Semen.	+	-	-	+	-
	<i>Epipactis palustris</i> (L.) Crantz	-	+	-	-	-
	<i>Erysimum croceum</i> Popov	+	-	+	-	-
	<i>Gymnospermium altaicum</i> (Pall.) Spach	-	-	+	+	-
	<i>Hepatica falconeri</i> (Thoms.) Steward	+	-	-	-	-
	<i>Hieracium kumbelicum</i> B. Fedtsch. et Nevski	+	-	-	-	-
	<i>Iridodictyum kolpakowskianum</i> (Regel) Rodion.	-	-	+	+	-
	<i>Iris alberti</i> Regel	-	-	+	+	+
	<i>Kaufmannia semenovii</i> (Herder) Regel	+	-	-	-	-
	<i>Lonicera iliensis</i> Pojark.	-	+	-	-	-
	<i>Malus niedzwetzkyana</i> Dieck	-	-	-	+	-

1	2	3	4	5	6	7
	<i>Malus sieversii</i> (Ledeb.) M. Roem.	+	+	+	+	+
	<i>Paeonia intermedia</i> C.A. Mey.	+	-	+	+	-
	<i>Rheum wittrockii</i> Lundstr.	+	-	+	+	+
	<i>Ribes janczewskii</i> Pojark.	+	-	-	-	-
	<i>Sibiraea tianschanica</i> Pojark.	+	-	-	-	-
	<i>Tulipa ostrowskiana</i> Regel	-	-	+	+	+
	<i>Tulipa tarda</i> Stapf	-	-	+	+	-
	<i>Veronica alata</i> Popov	+	-	-	-	-
	<b>Total</b>	<b>13</b>	<b>6</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>7</b>

We provide a brief description of these forest types based on the results of our survey, taking into account literary sources [17,20].

**The relict forests dominated by *Picea schrenkiana*** Fisch. & C.A. Mey. occupy a fairly large area in the Northern Tien Shan, although the area has significantly decreased over the last century, similarly to the area of all forests, as a result of the ever-increasing anthropogenic pressure. In spruce forests of the area surveyed, at least 450-500 species were found; 630 species have been recorded for the entire Northern Tien Shan [17], including 13 Red Book listed species (Table 1).

The most valuable of all forest types are: Chinturgen moss spruce forests on the preserved permafrost (Ile-Alatau National Park); spruce forests with *Hepatica falconeri*, *Kaufmannia semenovii*, and *Corydalis semenovii* (Kolsay Koldery National Park); and deciduous spruce forests with apple tree and apricot, preserved in separate gorges in the Zailiysky Alatau, the protection of which in the natural monument category was recommended by I.I. Roldugin [17]. Spruce forests are very important as an environment-stabilizing and sanitary-improving ecosystem with a large recreational potential, therefore they are in need of special protection and constant monitoring of their condition. Populations of rare species, especially small ones and located on the border of the distribution range should be the objects of special monitoring.

**Tugai forests** with sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) were surveyed in the valleys of the Chilik (Kungei Alatau), Issyk and Malaya Almaty rivers (Zailiysky Alatau). According to our data, in these forests there are more than 140 species from 38 families, including six Red Book listed species: *Lonicera iliensis*, *Berberis iliensis*, *Armeniaca vulgaris*, *Malus sieversii*, *Epipactis palustris*, and *Corydalis semenovii*.

**Forests dominated by *Armeniaca vulgaris*** occupy smaller areas than the apple tree forests and

are found on drier stony slopes of the southern and southeastern exposures. Stand density and species richness are lower than in the apple tree forests. There are about 250 species including such accompanying tree species as *Crataegus songorica* K. Koch and *C. almaatensis* Pojark., and shrubs *Spiraea hypericifolia* L. and *S. lasiocarpa* Kar. & Kir. The best apricot stands are concentrated in the valley of the Kotyrbulak River, while sparser stands are quite common in other gorges (Turgen, Malaya and Bolshaya Almatinka, and Kazachka). The floristic core of the apricot forests is made up of other species, with *Artemisia santolinifolia* Turcz. ex Besser and *A. dracunculus* L. playing an important role; *Galium verum* L., *Melica transsilvanica* Schur, *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. ex DC., as well as various ephemeroids are common. Of the 12 Red Book listed species, *Iris alberti* and *Tulipa ostrowskiana* are common, while *Atraphaxis muschketowii*, *Paeonia intermedia*, *Gymnospermium altaicum* occur less often.

**Relict forests dominated by *Malus sieversii*** are a valuable source of plant germplasm, which is the progenitor of many cultivated varieties [18]. Wild fruit forests form a special sub-belt in the central part of the Zailiysky Alatau, complementing the high-altitude belt zonation in this region. That is why geobotanists refer to this territory as part of a special Zailiysko-Dzhungar belt type [19]. Apple forests play an important role in preserving plant species diversity. There are 400 species of higher plants from 251 genera and 74 families. The floristic core (occurrence of more than 50%) of these communities consists of 34 species, including 7 tree and shrub species [20]. Of the rare species listed in the Red Book of Kazakhstan [16], in addition to apple tree, there are 12 more species (Table 1).

In the Northern Tien Shan, **forests dominated by *Celtis caucasica*** have been found in two locations only, with the largest stand located in the valley of the Malaya Almaty River. This is a unique

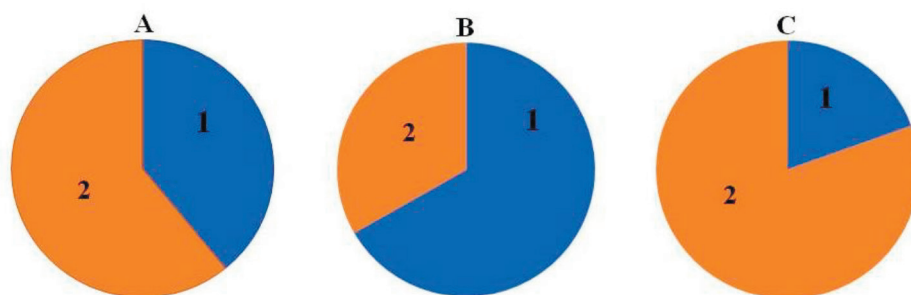
refugium of a relict species located on the northeastern border of the distribution range. There are 119 species of higher plants from 86 genera and 36 families, among which there are 6 more Red Book plants in addition to *Celtis caucasica* (Table 1).

Of the 24 Red Book listed species recorded by us in the above five forest types, four species were studied in detail: *Hepatica falconeri*, *Epipactis palustris*, *Tulipa tarda* and *Gymnospermium altaicum*.

One of the rare, poorly studied elements of the spruce forests is *Hepatica falconeri* (Thoms.) Steward (Ranunculaceae). It is a rhizomatous perennial with a Dzungaro-Primalayan distribution range type [21], the only representative of the genus *Hepatica* in Kazakhstan listed in the Red Book as a “rarest” species [16]. A detailed study of the morphological variability, phenology, population state and numbers are being carried out by the authors on the territory of the Kolsay Koldery National Park, including a study of the largest population in the valley of the river Taldy (1693 m), where in 2016 specialists of the Institute of Botany I. G. Otradnykh and I. A. S’edina established a monitoring plot in a dense spruce forest of the lower part of a rocky slope of the north-western exposition. There, *Hepatica falconeri* was found in abundance [22]. In the fall of 2020, we moved four clumps of generative individuals from this largest population (in the vicinity of the monitoring site) to a site on the central estate of the National Park in the village of Saty (1444 m). Thus, an introduced population was created for regular studies on phenology and adaptation of the species

to different environmental conditions (250 m lower, the site is open, without shading, the soil is soft, practically without stony inclusions). The survival rate of individuals was 100%; in the first year they all bloomed and bore fruit [23]. In 2022, the vegetation period started 12 days earlier than in the previous year, but the difference in the subsequent phases of development gradually decreased: the start of budding, down to 6 days (15.03 as opposed to 21.03), and the start of flowering, down to 4 days (25.03 as opposed to 29.03). Due to a warmer and drier spring of 2022, the first individuals that stopped flowering appeared earlier (06.04 as opposed to 20.04), and the overall life expectancy of the first flowers also decreased (down to 13 days as opposed to 17 days). However, post-generative vegetation continued as in the previous year, until the snow cover settled.

Thanks to the introduction population established in 2022, it was possible to obtain not only new data on the phenology of *Hepatica falconeri* in cultivation, but also to find out the influence of other environmental factors on this process. The first experience of cultivation was gained in the conditions of Almaty [24], where the introduced individuals stopped flowering after two years. We conducted our observations in the introduced population (Saty) on April 18, 2022. The proportion of buds was 39.1%, and that of the opened flowers was 60.9%, respectively. In the Taldy Gorge, on the same slope we observed a very large difference between the ratio of the open flower to bud numbers. Under the spruce canopy, there were 66.7% of buds, and on a sunlit rock, only 19.5%. The remaining flowers had already opened (Fig. 1).



**Figure 1** – Ratio of buds (1) to open flowers (2) of *H. falconeri* recorded on 18.04.2022 in different conditions: A – introduced population in the village of Saty; B – natural population in the Taldy Gorge, under the spruce canopy; C – same as B, on a sunlit rock.

In the last two cases, not only the light intensity, but also the temperature (lower on wet soil under

the spruce canopy and higher on the exposed rock) had the effect on the flowering rate. On the same

day, in the village of Saty the proportion of open flowers was almost by a quarter smaller than on the rock in the Taldy Gorge, despite the differences in the altitude.

The data on the morphology of generative individuals in the three habitats listed above are also of interest. In particular, the average flower numbers in one generative clump were: 5.7 (from 1 to 18) in the first case (Saty); 4.5 (from 3 to 6) in the second case (under the canopy in the Taldy Gorge); and 16.4 (from 7 to 30) in the third case (in the Taldy Gorge, on the exposed rock).

Thus, cultivation of *Hepatica falconeri*, a rare, highly decorative species will be most successful in rockeries (providing the level of atmospheric humidity is sufficiently high).

In the tugai forests of the Northern Tien Shan with *Hippophae rhamnoides* L., the rarest representative of higher plants is *Epipactis palustris* (L.) Crantz (Orchidaceae). This is a species with a wide Palearctic distribution range, growing in wet

swampy meadows and forests, in river valleys of the northern plain and almost the entire mountainous Kazakhstan, from Altai to the Western Tien Shan [6,16]. However, until recently the only reliable record in the Northern Tien Shan was the information obtained more than 60 years ago: the findings of M. G. Popov [25] in the valley of the Chilik River (without precise location). In June 2012, one of the authors managed to describe a single micropopulation consisting of seven generative individuals in a willow-birch tugai forest with sea buckthorn located in the Issyk River delta [26]. The second unique find from this region was made by the authors of this article, R.E. Kaparbay and B.B. Arynov. A small population of *Epipactis palustris* (not larger than 100 individuals) is located in a sea buckthorn forest of the left bank of the Tau-Chilik River (1557 m above sea level). On August 11, 2022, most individuals were in the fruiting phase (immature fruits), with only one individual found in the shade of shrubs still in bloom (Figure 2).



Figure 2 – *Epipactis palustris*

The species composition of the community described is represented by 46 species of higher plants, of which 7 species belong to the trees and shrubs, with the general projective cover (GPC) of 95%. The grassland is dominated by graminoids, as well as by *Rubus saxatilis* L. According to our data, the occurrence of *Epipactis palustris* is 80%, the average density is 6.2 (up to 13) individuals /m<sup>2</sup>. In another isolated area (an open

area along a small stream), the population density was twice as high, 25 individuals/m<sup>2</sup>. According to morphological indicators, we managed to distinguish three age groups: immature (*im*), virgin (*v*), and generative *g*<sub>1</sub> (flowering, but not bearing fruit this year) and *g*<sub>2</sub> (with normally developed fruits from 1 to 14 per individual). The measurements of individuals of the groups listed above are presented in Table 2.



**Table 2** – Morphometric indicators of different age groups of *Epipactis palustris*

Age group	Height, cm	Number of leaves	Number of fruits
<i>im</i>	10.6±0.8	6.3±0.4	-
<i>v</i>	21.9±0.9	7.2±0.3	-
<i>g<sub>1</sub></i>	37.2±1.5	8.0±0.3	-
<i>g<sub>2</sub></i>	44.4±4.8	6.6±0.7	6.6±2.2

The age spectrum of the surveyed population is as follows: *im* – 18.1%; *v* – 36.4%; *g<sub>1</sub>* – 36.4%; *g<sub>2</sub>* – 9.1%. A low regeneration potential of this species should be noted. Since there were no juvenile individuals, and the ratio of young and adult individuals (1.8/8.2) had a clear bias towards the latter, it is possible to classify this population as aging. Consequently, it needs special protection and regular monitoring. We consider it necessary to take special measures to preserve the only known population of *Epipactis palustris*, such as fencing for protection against grazing and blocking a road in this area.

One of the rarest elements of the apricot forests, as it was recently discovered by the authors, is the Northern Tian Shan endemic *Tulipa tarda* Stapf (Liliaceae), hitherto known only as a member of the steppe and shrub communities of Kazakhstan and Kyrgyzstan [16,27]. In 2021-2022, we examined a population of this species on the eastern slope of the left bank of the Kargaly River (1130 m above sea level). There were various types of overexposed apricot forests on a steep (up to 50°) scree slope of the eastern exposition (Figure 3).

**Figure 3** – Apricot forest with *Tulipa tarda* ( the Kargaly Gorge)

The basal area of the tree-shrub layer varied from 0.2 to 0.8; and the total projective cover was from 40% to 90%. There were 44 species from 23 families, including 13 tree and shrub species. In-

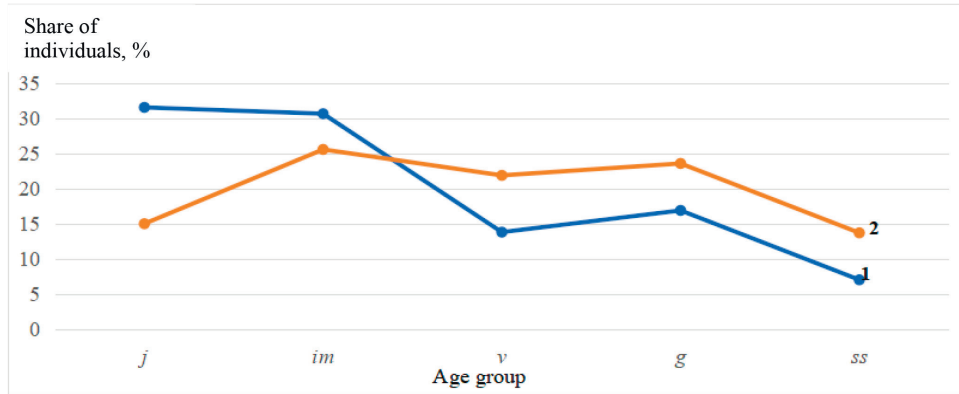
terestingly, in addition to apricot, another 10 species complement the previously published list of communities with *T. tarda* [27]: *Malus sieversii*, *Lonicera tatarica* L., *Clematis orientalis* L., *Erem-*

*urus altaicus* (Pall.) Steven, *Poterium polygamum* Waldst. & Kit., *Rubus caesius* L., *Centaurea squarrosa* Willd., *Lactuca serriola* L., *Hieracium virosium* Pall., and *Scorzonera racemosa* Franch.

On that slope, we examined two cenopopulations of *T. tarda*: the first one was in an overexposed apricot forest on an unstable scree, with a significant area of “bald” spots (projective cover of 40%); the second one had a thicker vegetation cover (projective cover from 70% to 90%), and was dominated by *Rubus caesius* L. and *Poa relaxa* Ovcz. stabilizing the scree on the slope.

In both cenopopulations *T. tarda* is very abundant (cop<sub>1,2</sub>), forming the dominant grass layer. Its density sometimes exceeds 200 individuals/m<sup>2</sup>. In both cases, cenopopulations were complete (i.e. individuals of all age groups were present, from ju-

venile to senile and sub-senile). Their age spectrum is as follows: *j* – 31.6%; *im* – 30.7%; *v* – 13.8%; *g* – 16.9%; *ss* – 7% (CP No.1); *j* – 15%; *im* – 25.6%; *v* – 21.5%, *g* – 23.6%; *ss* – 13.7% (CP No.2). In Figure 4, they are represented by two-peak curves, with peaks of generative (in both cases), juvenile (in the first case) and immature (in the second case). The ratio of young to adult individuals in CP No.1 is 6.2:3.8, and in CP No.2, 4.1:5.9, which makes it possible to describe the first CP as a younger, and the second CP as a more mature. In general, the state of this *T. tarda* population in one plant community turned out to be better than in the steppe-type communities, where the density of the studied species is much lower and its composition is more homogeneous and can be graphically represented as a single-peak curve [28].



**Figure 4** – Age spectrum of different *Tulipa tarda* populations: CP1-1, CP2-2.

One can discuss the best growing conditions of *T. tarda* in forest communities using the development of generative individuals as an example. Table 3 presents data on their morphological variability in the two above-mentioned cenopopulations, as

well as in population No.2 surveyed as a member of a shrub community (*Spiraea hypericifolia* L., *Rosa platyacantha* Schrenk) with a steppe grass layer in the valley of the Karakunuz River (1041 m above sea level) in 2022 .

**Table 3** – Distribution of generative individuals of *Tulipa tarda* by the number of leaves and flowers in different cenopopulations

Popula- tion	CP	Number of flow- ers	Share of individuals with different number of leaves					Total
			2	3	4	5	6	
1	1	1	2.6	25.8	45.2	15.5	0.6	<b>89.7</b>
		2	-	-	1.9	5.8	2.6	<b>10.3</b>
		<b>total</b>	<b>2.6</b>	<b>25.8</b>	<b>47.1</b>	<b>21.3</b>	<b>3.2</b>	
	2	1	3.4	3.0	42.2	8.0	0.6	<b>90.2</b>
		2	-	-	2.9	4.6	1.7	<b>9.2</b>
		3	-	-	-	-	0.6	<b>0.6</b>
<b>total</b>		<b>3.4</b>	<b>36.0</b>	<b>43.1</b>	<b>12.6</b>	<b>2.9</b>		

2	1	1	2.9	33.6	47.2	11.4	1.4	<b>96.5</b>
		2	-	0.7	-	0.7	-	<b>1.4</b>
		3	-	-	0.7	0.7	0.7	<b>2.1</b>
		<b>total</b>	<b>2.9</b>	<b>34.3</b>	<b>47.9</b>	<b>12.8</b>	<b>2.1</b>	

In apricot forests, the more favorable growing conditions for *Tulipa tarda* are evidenced by the density of its population compared to that in other habitats (Table 4).

**Table 4** – Density and occurrence of *Tulipa tarda* in various habitats

Location, elevation a.s.l.	Density, individuals/m <sup>2</sup>		Occurrence, %
	Mean	Confidence interval	
Kargaly, 1135 m, CP №1	64.1	2-219	100
Karakunuz, 1041 m	17.3	0-51	90
Kastek, 1484 m, rocky slope	18.3	0-73	90
Kastek, 1480 m, grassy slope	6.2	0-63	67
Zhamanty, 1656 m	18.3	3-55	100

Consequently, the *T. tarda* population described by us in the apricot forest in the Kargaly Gorge needs special protection and regular monitoring of its condition. In our opinion, it is necessary to establish a specialized botanical reserve, as in the Karakunuz Gorge, which has a similar status since 1970. Clarification is also required of the species independent status based on genetic studies, since some international taxonomists [29] identify it with the Iranian *Tulipa urumiensis* Stapf.

Another rare species of Northern Tien Shan is *Gymnospermium altaicum* (Pall.) Spach (Berberidaceae). In the Trans-Ili Alatau it occurs fragmentarily; for example, it is absent in the central part of the ridge, abundant in the gorges of Tauturgen, Turgen, Soldatsay, and Kotyrbulak, but not found to the west of Almaty, from Aksai and Kaskelen [30]. In the Kotyrbulak gorge of the Zailiysky Alatau, it is found in a hawthorn forest, karagach plantation and in an apple tree stand (Figure 5).



**Figure 5** – Locations of the three *Gymnospermium altaicum* cenopopulations in the Kotyrbulak Gorge: 1- hawthorn forest; 2- karagach plantation; 3- apple tree stand.

The first cenopopulation (952 m) is located in a hawthorn (*Crataegus songorica* C. Koch) forest in the lower part of a grassy slope of the south-eastern exposure; the basal area of the tree-shrub layer is 0.7-0.8; GPC – 95%. There are 39 species from 24 families, of which 11 are tree and shrub species. The floristic composition is described in more detail in one of the previous publications [30].

The second cenopopulation (1337 m) is located in an *Ulmus scabra* Mill. plantation in the lower part of a slope of the north-eastern exposure; the basal

area of the tree-shrub layer is 0.5, GPC – 90%. There are 19 species from 14 families, including four tree and shrub species.

The third cenopopulation (1424 m) is located in the dry right slit in a sparse apple tree forest, in the lower part of a slope of the west-north-west exposure; the basal area of the tree layer is 0.1; GPC – 95%. There are 36 species from 18 families, and the tree layer is formed by apple tree.

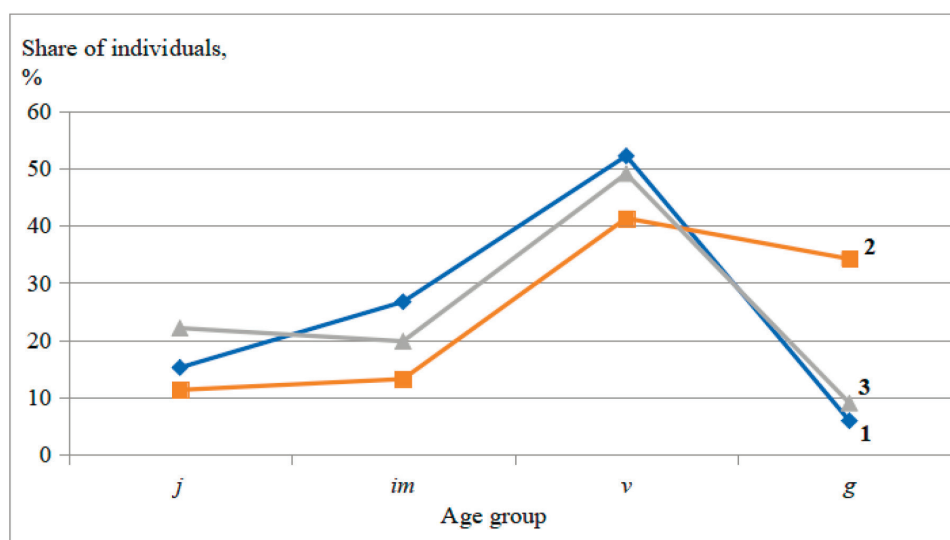
In the sample plots, the density and occurrence of the studied species was uneven (Table 5).

**Table 5** – Density and occurrence of *Gymnospermium altaicum* in cenopopulations (the Kotyrbulak Gorge)

Cenopopulation, elevation a.s.l.	Density, individuals/m <sup>2</sup>		Occurrence, %
	Mean	Confidence interval	
CP №1, 952 m	22.1	3-57	100
CP №2, 1337 m	8.6	0-62	50
CP №3, 1424 m	12.3	0-30	95

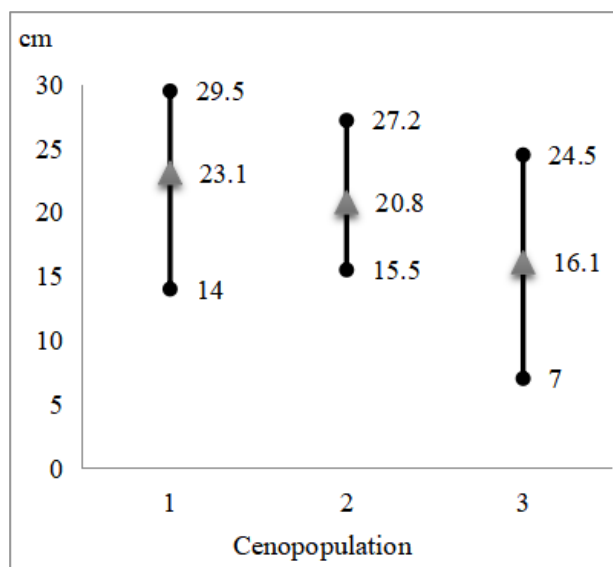
In all cases, the cenopopulations were complete (i.e. individuals from juvenile to generative were present). It was not possible to identify sub-senile and senile individuals without complete excavation of plants. The age spectrum of all coenopopulations was identical, with a maximum in the virgin age group: 52.3%, 41.3% and 49.1%, respectively (Figure 6). At the same time, in the age composition

of CP1 located at the lower boundary of the species habitat, the proportion of immature individuals was high (26.7%), and that of generative individuals, very low (5.9%), whereas in CP2 (1337 m), the second largest age group consisted of generative individuals (34.2%), while juvenile and immature individuals were poorly represented, 11.32% and 13.2%, respectively.

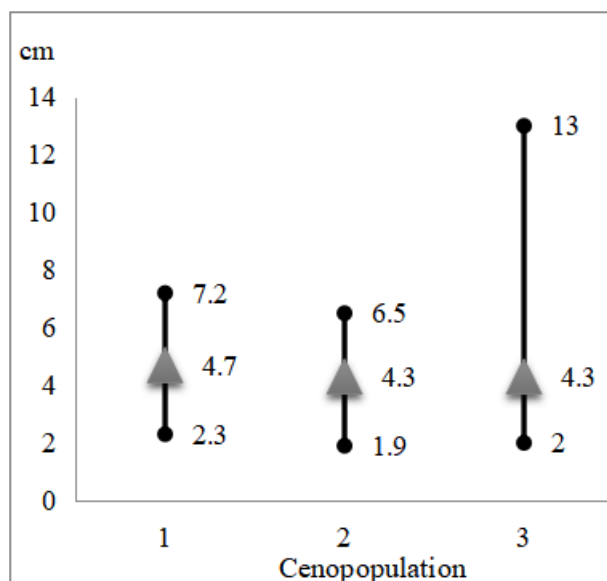


**Figure 6** – Age spectrum of *Gymnospermium altaicum* in three coenopopulations gorge (the Kotyrbulak Gorge): 1-CP No.1; 2- CP No.2; 3-CP No.3.

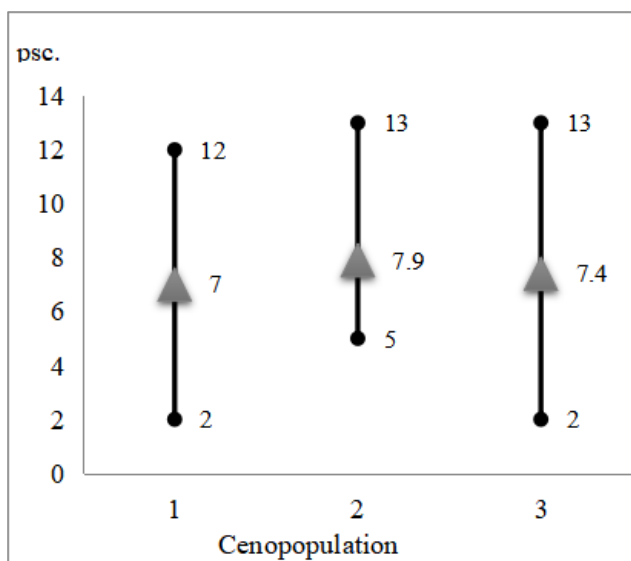
Morphometric parameters were also measured in generative individuals of *G. altaicum* in all cenopopulations (Figs. 7-10).



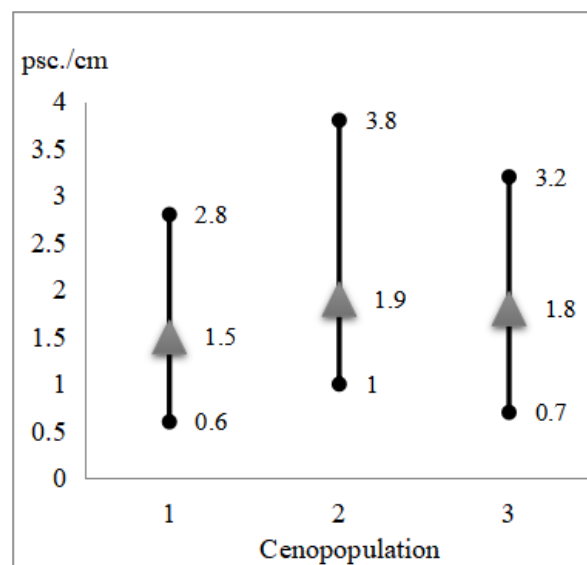
**Figure 7** – Height of generative individuals of *G. altaicum* in different cenopopulations



**Figure 8** – Length of inflorescence of *G. altaicum* in different cenopopulations



**Figure 9** – The number of flowers of *G. altaicum* in different cenopopulations



**Figure 10** – Density of inflorescence of *G. altaicum* in different cenopopulations

The maximum average height of generative individuals (23.1 cm) was recorded in CP No.1, in a hawthorn forest, and the minimum (16.1 cm), in CP No.3, in the sparse apple tree forest; the difference in plant height was also the largest there (Figure 7). The average inflorescences length varied from 4.7 to

4.3 cm, but the maximum difference in the inflorescences length was observed in CP No.3, in the apple tree forest (Figure 8). The average number of flowers varied from 7 in CP No.1 to 7.9 in CP No.2, and the maximum number (12-13 flowers) was almost the same in all cenopopulations, while the minimum

was 2 flowers in CP No.1 and CP No.3, and 5 flowers in CP No.2 (Figure 9). The maximum difference (11) was observed in CP No.3, in the sparse apple tree forest.

The average inflorescence density ranged from 1.5 to 1.8-1.9 pcs./cm (Figure 9). The maximum difference in density was observed in CP No.2 in the karagach plantation and was 2.8 pcs./cm.

In terms of the density of cenopopulations, occurrence, average height of generative individuals and the inflorescences length, the best condition of *G. altaicum* was recorded in CP No.1 in the hawthorn forest (952 m), while the density of the inflorescence varied slightly in all three cenopopulations.

As a result of our observations, a preliminary analysis of the condition and abundance of 24 rare species recorded by us in five types of forest communities was provided. There are seven most threatened species to date. Five of them (*Malus niedzwetzkyana*, *Epipactis palustris*, *Veronica alataavica*, *Ribes janczewskii*, *Corydalis semenovii*) are represented by single individuals or a few isolated populations with a total population from ten to a hundred individuals. Two more species (*Hepatica falconeri*, *Kaufmannia semenovii*) are represented by a dozen populations with a total population numbers of hardly more than 1000 individuals. The total population numbers of the remaining 17 species significantly exceed the above figures, although they also need protection and regular monitoring.

On the territory of Kolsay Koldery National Park and in the immediate environs, verification is required of the presence of such rare forest elements as *Fraxinus sogdiana* Bunge recorded in the Kungei Alatau ridge by S. K. Mukhtubayeva [31]; *Lonicera iliensis* Pojark. collected in the floodplain of the Taldybulak River by V. P. Goloskokov (24.07.1953) and the Kensu Gorge; and *Gymnospermium altaicum* as well as the first species recorded by S.K. Mukhtubayeva [31] in the Kungei Alatau without any specific data.

For one of these dubious species mentioned in the above monograph without a specific collection point, *Paeonia intermedia* C.A. Mey. (*Paeonia hybrida* var. *intermedia* (C.A.Mey.) Krylov) confirmation has already been found. This is the finding of inspector A.T. Nurpeis of a micropopulation of a dozen generative individuals on a slope of the Karasai Gorge in the spruce forest belt (2630 m above sea level), which once again confirms the need for additional research on the distribution of rare plant species in the Northern Tien Shan.

## Conclusion

Summing up the initial stages of monitoring populations of some rare floristic elements of the forests of the Northern Tien Shan, it should be emphasized that spruce forests and apple tree forests are the richest in rare species (13 species in each), and tugai forests and hackberry forests are the poorest (6-7 species). This corresponds to the area occupied by these forest types in the surveyed region: the first forest type has the largest, and the last forest type, the smallest area. A detailed study of populations of four species (*Hepatica falconeri*, *Epipactis palustris*, *Tulipa tarda*, *Gymnospermium altaicum*) suggests their relatively good condition, since they are, with the exception of *Tulipa tarda*, in protected areas. A certain drawback in the scientific research of these protected areas is insufficient attention to the monitoring of rare species. Thus, only 11 Red Book listed species (*Armeniaca vulgaris*, *Atraphaxis muschketowii*, *Malus sieversii*, *Celtis caucasica*, *Ribes janczewskii*, *Crocus alataavicus*, *Iris alberti*, *Tulipa ostrowskiana*, *Paeonia media*, *Rheum wittrockii*, *Gymnospermium altaicum*) are found on 17 monitoring sites in Ile-Alatau National Park, and only four (*Crocus alataavicus*, *Hepatica falconeri*, *Rheum wittrockii*, *Kaufmannia semenovii*) are found on seven monitoring sites in Kolsay Kolderi National Park. Several more species of this category can be found on phenological sites, where the only phenological observations are conducted by an inspector, which does not allow for an assessment of the state and dynamics of the populations.

Thus, we consider it expedient to increase the number of monitoring sites, taking into account the distribution of the Red Book listed species, as well as the advancement of research on their distribution. The lack of study is evidenced by the findings of recent years (*Paeonia intermedia*, *Epipactis palustris*) in Kolsay Koldery. There is also the need for a special study of the status and dynamics of populations of highly threatened species.

## Acknowledgments.

The authors are sincerely grateful to their colleagues who organized many site visits, in particular, O.V. Belyalov, M.E. Abidkulov, as well as to the employees of Ile Alatau National Park and Kolsay Koldery National Park: P.V. Korobko, R.M. Turekhanova, E.Zh. Ismagulov, inspectors A.T. Nurpeis and A. Mergenbayev, and other inspectors who provided assistance on the routes, and valuable information and photographs of rare plants.

## References

- 1 Национальная стратегия и план действий по сохранению и сбалансированному использованию биологического разнообразия Республики Казахстан. Кокшетау. – 1999. – С.336.
- 2 Арыстангалиев С.А. Очерки по геоботанике. Растительный покров горных районов Казахстана. Алматы: LEM, 2022. – С. 144.
- 3 Быков Б.А. Геоботаника. – Алма-Ата, 1978. – С.288.
- 4 Полевая геоботаника. Тт. 1-5. М.–Л.: Наука, 1959-1976
- 5 Флора СССР. Тт. 1-30. – М.–Л., 1934-1964.
- 6 Флора Казахстана. Тт. 1-9. – Алма-Ата, – 1956-1966.
- 7 Определитель растений Средней Азии. Критический конспект флоры. Тт. – 1-10. – Ташкент, 1968-1993.
- 8 Работнов Т.А. Жизненные состояния вида в растительном сообществе // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1960, т. 64, вып.3.
- 9 Уранов А.А. Онтогенез и возрастной состав популяций (вместо предисловия) // Онтогенез и возрастной состав популяций цветковых растений, М.: Наука, 1967, С. 3-8.
- 10 Уранов А.А., Смирнова О.В. Классификация и основные черты развития популяций многолетних растений // Бюлл. МОНП. Отд. биол. – 1969. Т.74. Вып. 1. – С.119-135.
- 11 Злобин Ю.А., Скляр В.Г., Клименко А.А. Популяции редких видов растений: теоретические основы и методика изучения. Сумы: Университетская книга. – 2013. – 439 с.
- 12 Методики интродукционных исследований в Казахстане. Алма-Ата: Наука, 1987. – С.4-11.
- 13 Вайнагий И.В. О методике изучения семенной продуктивности растений / Ботан. ж. – 1974. – Т. 59. – № 6. – С. 826 – 831.
- 14 Абдулина С.А. Список сосудистых растений Казахстана. – Алматы. – 1999. – С.187.
- 15 Kurochkina L., Rachkovskaya E., Roldugin I., Makulbekova G., Ogar N., Stogova L. Map-Scheme of Endangered Plant Communities Distribution // The National Strategy and Action Plan on Conservation and Sustainable Use of Biological Diversity of the Republic of Kazakhstan. – Kokshetau, 1999. – P. 91-93.
- 16 Красная книга Казахстана. Т.2, Ч. 2. Растения. – Астана: LTD «Art-Print XXI», 2014. – 452 с.
- 17 Roldugin I.I. Spruce forests of the Tien Shan (flora classification and dynamics) // Alma-Ata: Nauka. – 1989. – P. 304.
- 18 Dzhangaliev A.D., Salova T.N., Turekhanova R.M. The wild fruit and nut of Kazakhstan // Horticultural Reviews. Vol. 29. Wild Apple and Fruit of Central Asia. 2003. – P.305-370.
- 19 Рачковская Е.И., Сафронова И.Н., Волкова Е.А. Ботаника – географическое районирование // Ботаническая география Казахстана и Средней Азии (в пределах пустынной области). М. – СПб, 2005. – С.192-222.
- 20 Иващенко А.А. Редкие растения и растительные сообщества Иле-Алатауского национального парка: распространение и состояние // Terra. Научный журнал. – 2012. – Вып.13. – С. 53-65.
- 21 Ogisu M., Awan M.R., Mabuchi T., Mikanagi Y. Morphology, phenology and cytology of *Hepatica falconeri* in Pakistan // Kew Bull. – 2002. – Vol. 57 (4). – P.948-953.
- 22 Капарбай Р.Е., Иващенко А.А., Мухитдинов Н.М., Арынов Б.Б. Қазақстандағы фальконер бауыршөбі (*Hepatica falconeri* (Thoms.) Steward) сирек кездесетін түрдің таралуы мен экологиясына арналған материалдар // Experimental Biology. №1 (86). 2021. Алматы. – С. 27-36.
- 23 Капарбай Р.Е., Иващенко А.А. Печеночница фальконера (*Hepatica falconeri* (Thoms.) Steward) в Кунгей Алатау: изучение в природе и опыт культивирования // Материалы Международной научно-практической конференции «Независимость Казахстана: Аспекты сохранения биоразнообразия» посвященная 80-летию доктора биологических наук, профессора, Почетного члена Национальной академии Наук Республики Казахстан, академика КазНАЕН Мухитдинова Наштая Мухитдиновича. (Алматы. 26 ноября 2021 г.) – Алматы: Изд. Казак университети, С. 86-88.
- 24 Съедина И.А., Отрадных И.Г. Опыт первичной интродукции редких видов Северного Тянь-Шаня в условиях предгорий Зайлийского Алатау // «Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии» – XVIII Международная научно-практическая конференция. Барнаул. – 2019. С.623-626.
- 25 Попов М.Г. Флора Алматинского государственного заповедника. – Алма-Ата, 1940. – С.50.
- 26 Иващенко А.А., Белялов О.В. Новые флористические находки на юге и юго-востоке Казахстана // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. Кемерово, 2015. Вып. 21. – С.94-100.
- 27 Tolonova A.D., Ivashchenko A.A., Moysiyenko I.I. Plant communities with the participation of *Tulipa tarda* Stapf in Kazakhstan: floristic composition and analysis // The Bulletin Of KazNU., Ser. ecological. – 2021. №1 (66). – С. 61-74.
- 28 Иващенко А.А., Алмабек Д.М., Толенова А.Д., Абидкулова К.Т. Редкие виды эфемероидных геофитов степного пояса Казахстанского Тянь – Шаня.// Материалы IV международной научной конференции, Костанай -2022 – С.303-310.
- 29 Christenhusz M. J. M., Govaerts R., David J.C., Hall T., Borland K., Roberts P.S., Tuomisto A., Buerki S., Chase M. W., Fay M.F. Tiptoe through the tulips – cultural history, molecular phylogenetics and classification of *Tulipa* (Liliaceae) // Bot. Journ. Linn. V. 172. Soc. 2013.
- 30 Abidkulova D.M., Ivashchenko A.A., Sramko G., Kurbatova N.V., Abidkulova K.T. *Gymnospermium altaicum* (Pall.) Spach (Berberidaceae), an early spring element of wild fruit forests of the Trans-Ili Alatau // Вестник КазНУ. Серия биологическая, 2021. Vol.86. – Is. 1, pp. 14-26. doi:10.26577/eb.2021.v86.i1.02
- 31 Мухтубаева С. К. Конспект флоры восточной части хребта Кунгей Алатау. – Алматы, 2017. – 272 с.

## References

- 1 Abdulina S.A. (1999) Spisok sosudistykh rastenij Kazahstana. Almaty, pp. 187
- 2 Abidkulova D.M., Ivashchenko A.A., Sramko G., Kurbatova N.V., Abidkulova K.T. (2021) *Gymnospermium altaicum* (Pall.) Spach (Berberidaceae), an early spring element of wild fruit forests of the Trans-Ili Alatau. *Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya*, vol.86, is. 1, pp. 14-26. doi:10.26577/eb. 2021.v86.i1.02
- 3 Arystangaliev S.A. (2022) Ocherki po geobotanike. Rastitelnyj pokrov gornyh rajonov Kazahstana. Almaty: LEM, pp.144  
Botanika – geograficheskoe rajonirovanie. Botanicheskaya geografiya Kazahstana i Srednej Azii (v predelakh pustynnoj oblasti). M.-SPb, pp.192-222.
- 4 Bykov B.A. (1978) Geobotanika. Alma-Ata, pp.288
- 5 Christenhusz M. J. M., Govaerts R., David J.C., Hall T., Borland K., Roberts P.S., Tuomisto A., Buerki S., Chase M. W., Fay M.F. (2013) Tiptoe through the tulips – cultural history, molecular phylogenetics and classification of *Tulipa* (Liliaceae). *Bot. Journ. Linn.*, vol. 172, soc.
- 6 Dzhangaliev A.D., Salova T.N., Turekhanova R.M. (2003) The wild fruit and nut of Kazakhstan. *Horticultural Reviews*. Vol. 29. Wild Apple and Fruit of Central Asia, pp. 305-370.
- 7 Flora Kazahstana (1956-1966) Alma – Ata, Vv. 1-9.
- 8 Flora SSSR (1934-1964) M.-L., Vv. 1-30.
- 9 Ivashchenko A.A. (2012) Redkie rasteniya i rastitelnye soobshchestva Ile-Alatau skogo nacionalnogo parka: rasprostranenie i sostoyanie. *Terra. Nauchnyj zhurnal*, vol.13, pp. 53-65
- 10 Ivashchenko A.A., Almabek D.M., Tolenova A.D., Abidkulova K.T. (2022) Redkie vidy efemeroidnykh geofitov stepnogo poyasa Kazahstanskogo Tyan’ – Shanya. *Materialy IV mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii, Kostanaj*, pp. 303 – 310.
- 11 Ivashchenko A.A., Belyalov O.V. (2015) Novye floristicheskie nahodki na yuge i yuge-vostoche Kazahstana. *Botanicheskie issledovaniya Sibiri i Kazahstana. Kemerovo*, vol. 21, pp. 94 – 100.
- 12 Kaparbaj R.E., Ivashchenko A.A. (2021) Pechenochnica falkonera (*Hepatica falconeri* (Thoms.) Steward) v Kungej Alatau: izuchenie v prirode i opyt kultivirovaniya. *Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii «Nezavisimost Kazahstana: Aspekty sohraneniya bioraznoobraziya» posvyashchennaya 80-letiyu doktora biologicheskikh nauk, professora, Pochetnogo chlena Nacionalnoj akademii Nauk Respubliki Kazahstan, akademika KazNAEN Muhitdinova Nashtaya Muhitdinovicha*, Almaty: Izd. Kazak universiteti, pp. 86-88.
- 13 Kaparbaj R.E., Ivashchenko A.A., Muhitdinov N.M., Arynov B.B. (2021) Kazakstandagy falkoner bauyrshobi (*Hepatica falconeri* (Thoms.) Steward) sirek kezdesetin tyrdii taraluy men ekologiyasyna arnalgan materialdar. *Experimental Biology*, vol. 1, no. 86, pp. 27-36.
- 14 Krasnaya kniga Kazahstana (2014) Vol 2, no. 2 Rasteniya, Astana: LTD “Art-Print XXI”, pp. 452.
- 15 Kurochkina L., Rachkovskaya E., Roldugin I., Makulbekova G., Ogar N., Stogova L. (1999) Map-Scheme of Endangered Plant Communities Distribution. The National Strategy and Action Plan on Conservation and Sustainable Use of Biological Diversity of the Republic of Kazakhstan, Kokshetau, pp.91-93.
- 16 Metodiki introdukcionnykh issledovaniy v Kazahstane (1987) Alma-ata: Nauka, pp.4-11.
- 17 Muhtubaeva S. K. (2017) Konspekt flory vostochnoj chasti hrebta Kungej Alatau. Almaty, pp. 272.
- 18 Nacionalnaya strategiya i plan dejstvij po sohraneniyu i sbalansirovannomu ispolzovaniyu biologicheskogo raznoobraziya Respubliki Kazahstan (1999) Kokshetau, pp. 336
- 19 Ogisu M., Awan M.R., Mabuchi T., Mikanagi Y. (2002) Morphology, phenology and cytology of *Hepatica falconeri* in Pakistan. *Kew Bull*, vol. 57, no. 4, pp. 948-953.
- 20 Opredelitel rastenij Srednej Azii. Kriticheskij konspekt flory (1968-1993) Tashkent, Vv. 1-10.
- 21 Polevaya geobotanika (1959-1976) M. – L.: Nauka Vv. 1-5.
- 22 Popov M.G. (1940) Flora Almatinskogo gosudarstvennogo zapovednika. Alma-Ata, pp. 50.
- 23 Rabotnov T.A. (1960) Zhiznennye sostoyaniya vida v rastitelnom soobshchestve. *Bull. MOIP. Otd.biol*, vol 64, no. 3.
- 24 Rachkovskaya E.I., Safronova I.N., Volkova E.A. (2005) Botanika –
- 25 Roldugin I.I. (1989) Spruce forests of the Tien Shan (flora classification and dynamics). Alma-Ata: Nauka, pp. 304.
- 26 S’edina I.A., Otradnyh I.G. (2019) Opyt pervichnoj introdukcii redkih vidov Severnogo Tyan’-Shanya v usloviyah predgorij Zailijskogo Alatau. «Problemy botaniki Yuzhnoj Sibiri i Mongolii» – XVIII Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferenciya, Barnaul, pp. 623 – 626.
- 27 Tolenova A.D., Ivashchenko A.A., Moysiyenko I.I. (2021) Plant communities with the participation of *Tulipa tarda* Stapf in Kazakhstan: floristic composition and analysis. *The Bulletin of KazNU., Ser. Ecological*, vol. 1, no. 66, pp. 61 – 74.
- 28 Uranov A.A. (1967) Ontogenez i vozrastnoj sostav populyacij (vmesto predisloviya). *Ontogenez i vozrastnoj sostav populyacij cvetkovykh rastenij*, M: Nauka, pp.3-8.
- 29 Uranov A.A., Smirnova O.V. (1969) Klassifikaciya i osnovnye cherty razvitiya populyacij mnogoletnih rastenij. *Bull. MOIP. Otd.biol.*, vol 74, no. 1, pp.119-135.
- 30 Vajnnagij I.V. (1974) O metodike izucheniya semennoj produktivnosti rastenij. *Botan.zh.*, vol.59, no. 6, pp. 836-831.
- 31 Zlobin Yu.A., Sklyar V.G., Klimenko A.A. (2013) Populyacii redkih vidov rastenij: teoreticheskie osnovy i metodika izucheniya. *Sumi:Universitetskaya kniga*, pp.439



В.К. Мурсалиева\* , А.Т. Алғазы , Д.Н. Сатыбалдиева , Т.М. Муханов 

РГП на ПХВ «Институт биологии и биотехнологии растений», Казахстан, г. Алматы

\*e-mail:gen\_mursal@mail.ru

## КУЛЬТУРА *IN VITRO* АДВЕНТИВНЫХ КОРНЕЙ ТУРКЕСТАНСКОГО МЫЛЬНОГО КОРНЯ *ALLOCHRUSA GYPSOPHILOIDES* (REGEL) SCHISCHK

### Сокращения и обозначения

АК – адвентивные корни; ИМК – индолил-3-масляная кислота; Кр – коэффициент прироста; МС – питательная среда Мурасиге и Скуга; НУК –  $\alpha$ -нафтилуксусная кислота, ТМК – туркестанский мыльный корень

В статье приведены экспериментальные данные по культуре адвентивных корней *in vitro* для эндемичного вида *Allochrusa gypsophiloides*, туркестанского мыльного корня – супер-продуцента тритерпеновых сапонинов. Первичная культура изолированных корней получена от исходных семян, собранных из природных популяций *A. gypsophiloides* на юге Казахстана. Изучено влияние экзогенных ауксинов, ИМК и НУК в жидкой питательной среде МС на рост корневых эксплантов, дифференцировку адвентивных корней, коэффициент прироста биомассы и биосинтетический потенциал культуры по уровню накопления тритерпеновых сапонинов *in vitro*. Установлена общая динамика роста культуры адвентивных корней: накопление максимальной биомассы и увеличение прироста на 40-50 сутки инкубации с дальнейшим снижением в ходе двухмесячного цикла культивирования. Выявлено, что стимулирующее действие ауксинов питательной среды связано с инициацией корневых апексов в индуцированной каллусной ткани, приводящая к развитию адвентивных корней и интенсивному росту дифференцированной корневой биомассы в изолированной культуре. Превышение прироста биомассы на опытных вариантах среды составило 215 % к контрольной среде с более ранним стимулирующим эффектом ИМК. Выявлено, что содержание сапонинов в экстрактах, полученных из культуры адвентивных корней превышал их средний уровень в аналогичных экстрактах из нативных корней: в 2 раза на контрольной среде, в 3 раза на среде с внесением НУК и ИМК. Повышенное содержание сапонинов *in vitro* коррелировало с увеличением прироста биомассы на ауксинсодержащих средах. Высокий уровень сапонинов в бутанольных экстрактах из остаточной культуральной среды свидетельствует об активной экссудации метаболитов из корневой биомассы в жидкую среду МС. Разработаны биотехнологические основы получения культуры *in vitro* адвентивных корней с высоким ростовым индексом и повышенным уровнем сапонинов на индуцирующих средах для альтернативного производства вторичных метаболитов из культивируемой биомассы туркестанского мыльного корня *A. gypsophiloides*.

**Ключевые слова:** культура тканей *in vitro*, *Allochrusa gypsophiloides*, туркестанский мыльный корень, адвентивные корни, коэффициент прироста биомассы, сапонины.

V.K. Mursaliyeva\*, A.T. Algazy, D.N. Satybaldiyeva, T.M. Mukhanov

Institute of Plant Biology and Biotechnology, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail:gen\_mursal@mail.ru

### Adventitious root *in vitro* cultures of turkestan soaproot *allochrusa gypsophiloides* (regel) schischk

### Abbreviations

AR – adventitious roots; IBA – indole-3-butyric acid; GI – growth index; MS – Murashige and Skoog medium; NAA –  $\alpha$ -naphthalene acetic acid, TSR – turkestan soaproot

The experimental data on establishment of adventitious roots cultures of endemic species *Allochrusa gypsophiloides* (turkestan soaproot), a super-producer of triterpene saponins, are presented. The primary isolated roots culture was obtained from initial seeds collected from natural populations of *A. gypsophiloides* in the south of Kazakhstan. The influence of different types of exogenous auxins,

NAA and IBA of MS nutrient liquid medium on the root explants growth, the growth index of induced adventitious roots, and their biosynthetic potential by the saponins accumulation in vitro was studied. The general dynamics of growth was established: an increase in root biomass on 40-50's culture days with a further decrease during a two-month cycle. It was revealed that the auxin stimulating effect is associated with the initiation of root apexes in the induced callus tissue, leading to the development of adventitious roots and intensive growth of differentiated root biomass in an isolated culture. The excess of biomass accumulation in the experimental variants of the medium averaged 215% compared to the control medium with an earlier inducing effect of IBA. It was found that the level of saponins in the extracts obtained from the adventitious roots culture, exceeded their content in similar extracts from native roots: 2 times in the control medium, 3 times in the medium with NAA and IBA. Saponins level increasing in culture correlated with biomass growth index on medium supplemented with auxins. The high saponins content in the extracts from the residual growth medium indicates the active exudation of saponins from the root biomass into the nutrient medium. Biotechnological bases for obtaining in vitro culture of adventitious roots with a high growth index and an increased saponins level on inducing medium for alternative production of secondary metabolites from the cultivated biomass of turkestan soaproot *A. gypsophiloides* have been developed.

**Key words:** tissue culture, *Allochrysa gypsophiloides*, turkestan soap root, adventitious roots, biomass growth rate, saponins.

В.К. Мурсалиева\*, А.Т. Алғазы, Д.Н. Сатыбалдиева, Т.М. Муханов

Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Қазақстан, Алматы

\*e-mail:gen\_mursal@mail.ru

### **Түркістандық сабынтамырдың *allochrysa gypsophiloides* (regel) schischk in vitro жағдайдағы адвентивті тамырлар дақылдары**

#### **Қысқартулар**

АТ – адвентивті тамырлар; ИМҚ – индолил -3-май қышқылы; Кр – өсуінің коэффициенті; МС – Мурасиге және Скуг қоректік; НСК –  $\alpha$ -нафтилсірке қышқылы, ТМК – түркістандық сабынтамыр

Мақалада үштерпенді сапониндердің үздік өндірушісі болып табылатын эндемик түр түркістандық сабынтамырдың *Allochrysa gypsophiloides* in vitro жағдайдағы адвентивті тамырларының дақылдары бойынша тәжірибелік мәліметтер берілген. Оқшауланған тамырлардың біріншілік дақылдары *A. gypsophiloides*-тің Қазақстанның оңтүстігіндегі табиғи популяциясынан жиналған бастапқы тұқымдардан алынды. Мурасиге және Скуг сұйық қоректік ортасының құрамындағы экзогенді ауксиндердің – индолил май қышқылы мен нафтилсірке қышқылының тамыр экспланттарының өсуіне, адвентивті тамырлардың дифференциациясына, биомасса өсуінің коэффициентіне және дақылдың in vitro жағдайда үштерпенді сапониндердің жинақтау деңгейі бойынша биосинтетикалық потенциалына әсері зерттелді. Адвентивті тамырлар дақылдарының өсуінің жалпы динамикасы анықталды: өсірудің екі ай мерзім кезеңінде инкубацияның 40-50 тәулігінде биомассаның максималды жинақталуы және өсудің ұлғаюы мен одан кейін биомассаның төмендеуі анықталды. Қоректік орта құрамындағы ауксиндердің ынталандыратын әсері индукцияланған каллус ұлпасында адвентивті тамырлардың дамуы мен дифференциацияланған тамыр биомассасының қарқынды өсуіне әкелетін тамыр апекстерінің қалыптасуымен байланысты болатыны анықталды. Ортаның тәжірибелік нұсқаларында биомасса өсуінің артуы бақылау нұсқасына санағанда 215% және мұнда ИМҚ ынталандырушы әсері ерте болды. Адвентивті тамырлар дақылдарынан алынған экстракттарда сапониндердің мөлшері табиғи тамырлардан алынған экстракттардағы орташа деңгейінен жоғары болды: бақылау ортасында 2 есе, НСК және ИМҚ қосылған орталарда 3 есе жоғары. In vitro жағдайдағы сапониндердің жоғары мөлшері құрамында ауксиндер бар орталардағы биомасса өсуінің артуымен байланысты. Қалған дақылдық ортадан алынған бутанолды экстракттардағы сапониндердің жоғары деңгейі тамыр биомассасынан МС сұйық қоректік ортасына сапониндердің белсенді бөлініп шығуын көрсетеді. Түркістандық сабынтамырдың *A. gypsophiloides* өсірілетін биомассасынан екінші реттік метаболиттердің баламалы өндірісі үшін ынталандырушы қоректік орталарда өсу индексі мен сапониндер деңгейі жоғары in vitro адвентивті тамырлар дақылдарын алудың биотехнологиялық негіздері жасалды.

**Түйін сөздер:** in vitro ұлпа дақылдары, *Allochrysa gypsophiloides*, түркістандық сабынтамыр, адвентивті тамырлар, биомасса өсуінің коэффициенті, сапониндер.

## Введение

Аллохруза качимовидная *Allochrusa gypsophiloides* (сем. Caryophyllaceae Juss.) – травянистый, поликарпический с моноциклическим типом развития многолетник, высотой до 90 см с мощным стержневым корнем и сильно разветвленным, шаровидным кустом «перекати-поле». Вид имеет относительно ограниченный ареал, произрастает только в Западном Тянь-Шане и Памиро – Алае в предгорных пустынных лессовых степях, по сухим склонам рек, на щебнистых склонах гор на высоте 400-1300 м н. ур. м. [1].

Редкий вид *A. gypsophiloides*, занесенный в Красную книгу Казахстана с 1981 г, является одним из ценнейших лекарственных и технических растений природной флоры Средней Азии и Казахстана [2]. Вид, широко известный как туркестанский мыльный корень (ТМК), длительное время в советские годы экспортировался и использовался для получения технического сапонина с высокой поверхностной активностью и эмульгирующей способностью [3]. ТМК содержит комплекс тритерпеновых сапонинов олеанолового ряда, из которых выделены сапонины – производные гипсогенина и квиллаевой кислоты [4].

*A. gypsophiloides* является фармакопейным видом, на основе корней которого получали отхаркивающие, мочегонные, слабительные средства и др. фитопрепараты [5]. Недавние исследования показали иммуностимулирующую и противовирусную эффективность экстрактов ТМК [6].

В настоящее время истощение естественных запасов и деградирующее состояние природных популяций эндемичного вида в результате активной хозяйственной деятельности в ареале его произрастания [7] обуславливают необходимость сохранения генетических запасов *A. gypsophiloides*. В связи с этим, актуальной проблемой становится разработка альтернативных подходов, позволяющих заменить дикорастущее сырьё ТМК на гарантированно получаемую растительную биомассу, содержащую в достаточном количестве биологически активные метаболиты для дальнейшего научно-практического использования уникального потенциала ценной лекарственной и технической культуры.

Эффективным инструментом для решения этой задачи является инновационная технология культуры клеток, тканей и органов

(далее культура *in vitro*), экономическая целесообразность применения которой обусловлена преимуществами изолированной системы: независимость процесса от внешних факторов (сезонные условия, достаточность сырьевой базы и др.), возможность применения различных стратегий для повышения биосинтетической активности культуры; стандартизация и автоматизация процесса для крупномасштабного производства вторичных метаболитов в биореакторах и др. [8].

Вторичный метаболизм – это генетически детерминированная особенность дифференцированных клеток и тканей растений, которая свойственна специализированным органам и на определенных фенологических фазах растений [9]. Используя исходные высокопродуктивные генотипы и дифференцированные ткани с хорошим биосинтетическим потенциалом в качестве эксплантов для инициации культуры, можно получить ценные вторичные метаболиты на уровне близком к характерному для интактных растений или повысить его выход за счет сокращения временных затрат [10].

Культура корней обладает рядом особенностей по сравнению с другими *in vitro* системами. Корни растений развиваются как экстенсивно разветвленная система, способная быстро накапливать биомассу и детерминированная на синтез и запасание вторичных метаболитов. При этом адвентивные корни (АК) развиваются естественным способом в ответ на различные стресс-факторы, не только из главного корня, но и из других частей растений (листья, побег, черешок и др.), как правило, из клеток камбия или из недифференцированной каллусной ткани, образующейся при механическом повреждении [11].

Существенным преимуществом культуры АК по сравнению с суспензией клеток является их генетическая и биосинтетическая стабильность [12]. В отличие от бородавчатых корней (hairy root), полученных в результате трансформации бактерией *Agrobacterium tumefaciens*, культура АК не содержат чужеродные для растения опинозные гены, активация которых может привести к выработке небезвредных для человека продуктов биосинтеза [10, 13].

В условиях *in vitro* АК развиваются из различных эксплантов или суспензионных культур под индуцирующим действием фитогормонов в питательной среде. При этом индуцированная культура, как правило, сохраняет

способность к интенсивному росту, быстрому накоплению биомассы и синтезу метаболита, характерного для данного таксона. Оптимизация основных трофических и гормональных факторов питательной среды позволяет добиться интенсивного роста дифференцированной биомассы и стабильного уровня биологически активного метаболита в изолированной культуре.

Культуры изолированных корней широко используются как удобные модельные системы в физиолого-биохимических, молекулярно-генетических исследований и биотехнологических разработках для выяснения влияния экзогенных факторов (регуляторов роста, элиситоров, иммобилизаторов и др.) на их рост и вторичный метаболизм [14].

В настоящее время культуры АК получены для свыше 35 видов лекарственных растений, некоторые из них применяются для коммерческого производства тритерпеновых панаксозидов (*Panax ginseng*), производных кофеиновой кислоты (*Echinaceae purpurea*), фенольных соединений (*Astragalus membranaceus*, *Hypericum perforatum*), антрахинонов (*Morinda citrifolia*), алкалоидов (*Hyoscyamus niger*, *Scopolia parviflora*) и других вторичных метаболитов, описания технологий получения которых приведены в обзорах [10, 12, 15, 16].

В мире активно разрабатываются культуры АК для сапонинопродуцирующих растений: мыльнянки лекарственной *Saponaria officinalis* [17, 18], качима метельчатого *Gypsophila paniculata* [19], женьшеня обыкновенного *Panax ginseng* [20, 21] и других видов [22, 23].

Таким образом, учитывая коммерческую ценность ТМК как супер-продуцента медицинского и технического сапонина, а также эндемичный статус редкого вида, разработка альтернативного биотехнологического способа получения вторичных метаболитов методом культуры *in vitro* является актуальной задачей.

Целью исследований являлось получить культуру адвентивных корней туркестанского мыльного корня *Allochrusa gypsophiloides* и изучить влияние гормонального состава питательной среды на рост и развитие изолированных корней, на накопление корневой биомассы и её метаболическую активность по уровню накопления сапонинов *in vitro*.

## Материалы и методы

### Получение семенных проростков *in vitro*

Исходным растительным материалом для получения культуры изолированных корней служили семена, собранные в 2017 году от дикорастущих растений *A. gypsophiloides* из природных популяций на территории Туркестанской области, в корнях которых ранее было выявлено значительное содержание тритерпеновых сапонинов с высокой пенообразующей и гемолитической активностью [24].

Для сохранения всхожести семенной материал в течение трех лет депонировали в криобанке в условиях жидкого азота (-196°C). Для размораживания семена предварительно выдержали в холодильной камере при 2°C в течение недели. Предобработку семян проводили 0,01 % р-ром гибберелловой кислоты в течение 2 часов и затем их переносили в условиях ламинара на питательную среду Кнопа для оценки всхожести *in vitro* и получения асептических проростков. Посадку семян проводили ежемесячно с двукратной повторностью по 30 семян в каждой. Энергию прорастания определяли на 9 день, всхожесть и частоту корнеобразования на 15 день выращивания на среде Кнопа в стационарных условиях световой комнаты: температура 25-26°C, 16-ти часовой фотопериод, освещение 3000 люкс/м<sup>2</sup>.

### Культивирование корневых эксплантов

В экспериментах *in vitro* использовали общепринятую методику культивирования эксплантов [25]. В качестве первичных эксплантов для получения культуры АК от асептических проростков двухнедельного возраста изолировали кончики главных и боковых корней длиной 10-12 см. Культивирование корневых эксплантов проводили в колбах объемом 100 мл, содержащие 50 мл питательной среды, на орбитальных качалках (IKA, Germany) со скоростью 100 оборотов/мин при комнатной температуре в условиях искусственного затенения.

В качестве контроля *in vitro* использовали основную жидкую питательную среду Мурасиге и Скуга с половиной концентрацией макро- и микросолей (½ МС) без регуляторов роста, опытные варианты – ½ МС с внесением ауксинов в концентрации 1 мг/л: индолил-3-масляная кислота (ИМК) или α-нафтил-уксусная кислота

(НУК). В работе использовали сухие питательные смеси и регуляторы роста производства фирмы Sigma-Aldrich (США).

В культуральную колбу инокулировали по 10 корневым эксплантам с общим средним сырым весом 7,6 мг. Повторность опытов 3-5 кратная в каждом варианте. Длительность цикла культивирования составила 70 суток, в ходе которой проводились фенологические наблюдения и отбор материала с интервалом 10 дней для определения сырого и сухого веса корневой биомассы. Полученные средние данные по биомассе выражали в г/колбу, содержащую исходно 50 мл питательной среды.

Коэффициент прироста корневой биомассы (Кг) определяли на 30, 40, 50 и 70 сутки культивирования и рассчитывали, как: (конечная масса – начальный вес)/ начальный вес. Полученные данные обрабатывали стандартными биометрическими методами [26] с вычислением средней арифметической, ошибки средней и достоверности по критерию Стьюдента при уровне значимости  $p < 0,05$  с применением программы Microsoft Excel (2016).

*Получение суммарных экстрактов сапонинов.*

Этанольные экстракты из нативных корней получали из растительного материала, собранного в фазе цветения – начале плодоношения на территории Туркестанской области. Для анализа использовали корни со средними параметрами: вес 0,2 – 0,4 кг, длина 30 -50 см и диаметр 4-6 см.

Для получения суммарных спиртовых экстрактов, использовали стандартные методики с некоторыми модификациями [27]. Сухое растительное сырье корней (5 г) предварительно очищали от нежелательных примесей хлороформом с последующей экстракцией 90° этанолом (1:100) в течение 2 ч в аппарате Сосклета и далее этанольные извлечения отгоняли под вакуумом до сухого остатка с определением веса полученного экстракта.

Для получения суммарных экстрактов из культуры *in vitro*, биомассы АК общим сухим весом 2 г, полученные за период от 30-до 70-суточный период культивирования на контрольной и на опытных вариантах среды ½ МС, экстрагировали 90° этанолом по описанной выше методике.

Получение экстрактов из остаточной питательной среды после извлечения АК проводили по следующей схеме. Предварительно культуральную среду после 1,5 месячной культуры

фильтровали от остатков корней и упаривали до 30 мл на водяной бане при 80°C. Концентрат фильтрата переносили в делительную воронку и дважды добавляли равный объем бутанола для экстрагирования сапонинов, которые (как полярные соединения) при разделении переходили в верхний слой. Бутанольные фракции объединяли и отгоняли на роторном испарителе. Остатки из отгоночной колбы переносили небольшим количеством 90% этанола в выпарительную чашку с известным весом для выпаривания до сухого осадка.

*Количественное определение сапонинов в экстрактах.*

Определение сапонинов проводили: 1) в этанольных экстрактах из нативных корней (контроль *in vivo*); 2) в этанольных экстрактах из объединенной корневой биомассы, индуцированной *in vitro* за временной интервал от 30 до 70 суток инкубации; 3) в бутанольных экстрактах, полученных из остаточной питательной среде ½ МС после извлечения адвентивных корней на 45 сутки культивирования.

Общее содержание сапонинов определяли спектрофотометрическим методом, в основе которого лежит специфическая реакция ванилина и серной кислоты с ОН группой при  $C_3$  атоме как в свободной, так и в гликозирированной форме сапонинов [28, 29]. Измерения оптической плотности растворов проводили при длине волны 544 нм на спектрофотометре Jenway 6305 (Англия). Результаты в пересчете на стандарт олеаноловой кислоты по концентрационной кривой ( $y=4,9976x + 0,0019$ ,  $R^2= 0,9876$ ) выражали в мг эквивалент на г экстракта (мгэкв/г). Статистическая обработка полученных данных по количественному анализу выполняли с использованием параметрического критерия Стьюдента согласно ГФ XI [30].

## Результаты и обсуждение

*Введение in vitro семенного материала.*

Для получения культуры изолированных корней от исходных семян, собранных из природных популяций, на первом этапе работы, важно индуцировать прорастание семян и получить асептические проростки в качестве источника корневых апексов.

По литературным данным семена ТМК характеризуются скачкообразным длительным прорастанием и неравномерностью появления всходов, что является особенностью данной

культуры и одним из способов сохранения семенного потомства от неблагоприятных условий произрастания [31]. Семена ТМК по классификации типов покоя семян по М. Николаевой [32] относят к группе С<sub>1</sub> промежуточного типа покоя с умеренным характером физиологического торможения, у которых прерывание покоя может быть индуцировано различными приемами: дозреванием семян в ус-

ловиях сухого хранения, обработкой регуляторами роста и стратификацией [33].

Введение семян ТМК *in vitro* после длительного депонирования выявила зависимость темпов их прорастания от сроков посадки на среду Кнопа.

В таблице 1 приведены показатели энергии прорастания на 9 день, всхожести и корнеобразования – на 15 день после посадки семян *in vitro*.

**Таблица 1** – Семенная всхожесть ТМК на среде Кнопа в зависимости от сроков посадки (%)

Месяц посадки	Энергия прорастания	Всхожесть	Корнеобразование
I-II	69,91 ± 20,29 <sup>ab</sup>	77,32 ± 11,14 <sup>a</sup>	60,65 ± 0,65 <sup>a</sup>
III-IV	46,78 ± 7,55 <sup>ab</sup>	54,23 ± 15,03 <sup>ab</sup>	45,99 ± 5,95 <sup>b</sup>
V	46,67 ± 12,07 <sup>abc</sup>	58,57 ± 13,01 <sup>ab</sup>	46,95 ± 12,42 <sup>abc</sup>
VI	29,67 ± 1,16 <sup>c</sup>	34,63 ± 6,69 <sup>b</sup>	23,10 ± 3,75 <sup>c</sup>
VII	12,25 ± 1,14 <sup>d</sup>	14,40 ± 2,43 <sup>c</sup>	6,62 ± 1,14 <sup>d</sup>
VIII	1,96 ± 0,72 <sup>c</sup>	2,78 ± 0,15 <sup>d</sup>	0,5 ± 0,09 <sup>c</sup>
IX-X	35,42 ± 2,95 <sup>ac</sup>	55,63 ± 12,60 <sup>ab</sup>	64,24 ± 3,32 <sup>a</sup>
XI-XII	51,95 ± 0,61 <sup>b</sup>	69,16 ± 13,63 <sup>a</sup>	58,66 ± 15,61 <sup>ab</sup>

Примечание: a, b, c, d, e – достоверные отличия между вариантами в столбце при p ≤ 0,05

Вывявлено, что семена, высаженные на среду Кнопа в зимний период, имели высокие показатели всхожести до 77 % и основные всходы появлялись равномерно, в течение первой недели после посадки. При посадке семян весной показатели всхожести постепенно снижались без достоверной разницы до средних значений; всхожесть до 56 %, энергия прорастания и корнеобразование – до 47 %. Начиная с июля месяца отмечалось резкое понижение семенной всхожести до минимальных параметров в августе, 2 %, 2,78% и 0,5 % соответственно. В осенне-зимний период, с сентября по декабрь, всхожесть семян с высокой степенью достоверности повышалась до 69 %, энергия прорастания до 52 %, корнеобразование до 59 %.

В раннее проведенных исследованиях [34] по оценке лабораторной всхожести семян ТМК, установлено, что свежесобранные семена (в августе) не прорастают, что связано, с необходимостью их дозревания в ходе двухмесячного хранения. Постепенное повышение семенной всхожести было выявлено с октябрь по февраль, затем отмечалось снижение показателя до минимального значения в летний период с последующим подъемом осенью до средних показателей.

Сопоставление экспериментальных данных выявило, что основная динамика прорастания, характерная для семян ТМК, сохраняется в

культуре *in vitro*: минимальная всхожесть в летний период и повышение показателей в осенне-зимний период, которые сохраняются на среднем уровне в весенний сезон. Следовательно, оптимальным сроком введения семян ТМК в условия *in vitro* является зимне-весенний период.

#### Культура адвентивных корней ТМК.

Адвентивное корнеобразование — это комплексный морфофизиологический процесс, который включает редифференцировку специализированных клеток, и их переключение на дифференцировку корневых примордий и развитие корней. Условно выделяют три последующие фазы процесса: 1) индукция – молекулярные и биохимические изменения в клетках, приводящие к дедифференцировке, 2) инициация – клеточные деления и закладка корневых примордий; 3) экспрессия – рост корневых примордий и появление корней. Механизм адвентивного корнеобразования реализуется при установлении в растении необходимого гормонального баланса, который меняется в ходе инициации клеточного деления, пролиферации клеток и инициации корневых апексов [8, 13].

В культуре *in vitro* деление, растяжение и дифференциация адвентивных корней осуществляется аналогично ювенильным корням целых растений в начальные фазы их роста. Индукторами различных типов дифференцировки являются фитогормоны

или имитаторы их действия, регуляторы роста. Ранние физиологические процессы, обеспечивающие индукцию и инициацию корневых примордий, могут быть запущены под воздействием ауксинов в питательной среде. Ключевая роль ауксина в закладке и формировании адвентивного корня установлена, однако молекулярные основы процессов, в том числе гены, отвечающие за формирование адвентивных корней, ещё остаются неизученными [10].

Согласно гипотезе, Skoog и Miller (1957), решающее значение на индукцию ризогенеза *in vitro* имеет высокое отношение ауксинов к цитокинину – фитогормонов необходимых для клеточного деления и пролиферации ткани. Предполагают, что экзогенный ауксин необходим лишь на раннем этапе индукции клеточного деления, приводящего к формированию меристематических очагов. На последующем этапе закладки корневых апексов высокие концентрации ауксина выполняют ингибирующую роль. На этапе роста и развития корневых примордий требуется преобладающий уровень цитокинина, необходимого для дифференцировки тканей корня. Конкретная роль экзогенных фитогормонов в инициации роста и дифференцировки тканей *in vitro* до конца не изучена. При этом эффективность действия различных ауксинов на индукцию и пролиферацию АК различается в зависимости от исходного вида и условий культивирования [35, 36].

В связи с этим для каждой культуры необходимо оптимизировать гормональный состав

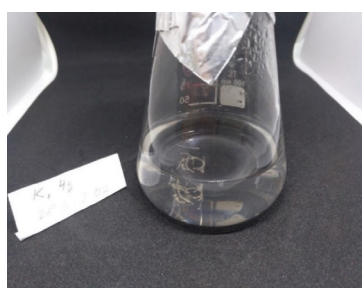
питательной среды на стадии индукции и инициации адвентивного корнеобразования. Для получения эффективной культуры АК *in vitro* необходимо прежде всего создать оптимальные условия для дифференцировки, интенсивного роста и накопления корневой биомассы, детерминированной на синтез биологически активного метаболита.

Выявлено, что выращивание апикальных эксплантов асептических корней ТМК способствует их росту и дифференцировке дополнительных адвентивных корней *in vitro*. При этом темпы и характер роста изолированных корешков варьировали в зависимости от гормонального состава питательной среды  $\frac{1}{2}$  МС.

На рисунке 1 приведены фотоснимки культуральных колб с эксплантами и индуцированными корневыми биомассами на контрольной среде и опытных вариантах  $\frac{1}{2}$  МС среды с внесением ауксинов ИМК и НУК.

В контроле на первом этапе культивирования отмечалась закладка и рост корешков второго порядка, затем их рост растяжением и незначительным ветвлением на второй неделе культивирования (рисунок 1 а, г).

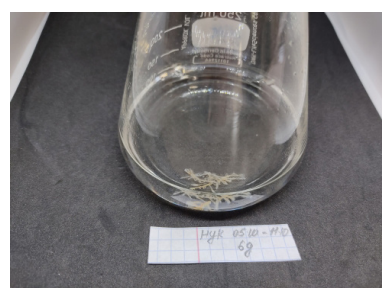
В опытных вариантах, на первом этапе происходила дедифференцировка тканей с образованием каллуса на первичных эксплантах (рисунок 1 б, в), на втором этапе – последующая массовая дифференцировка корневых апексов и отрастание адвентивных корешков. На второй неделе инкубации отмечалось развитие придаточных (латеральных) корней по всей поверхности первичных эксплантов.



а



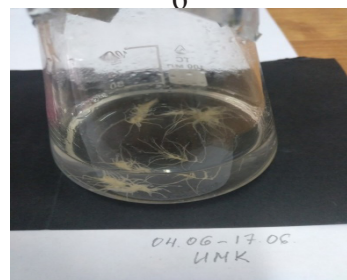
б



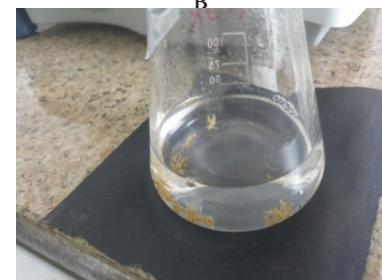
в



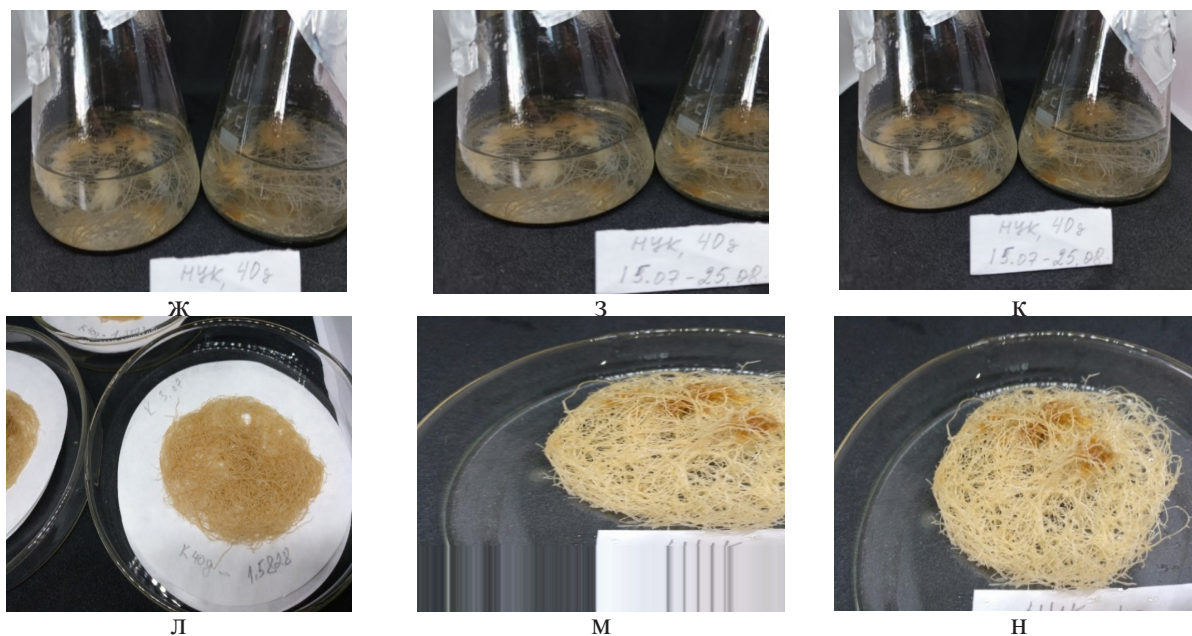
г



д



е



4 сутки культуры: а – контроль, б – ИМК, в – НУК; вторая неделя культуры: г – 12 день, контроль, д – 13 день, ИМК, е – 12 день, НУК; 1,5 месячная культура адвентивных корней; ж – контроль, з – ИМК, к – НУК; выход сырой биомассы адвентивных корней: л – контроль, 1,58 г/колба, м – ИМК, 3,24 г/колба; н – НУК, 1,42 г/колба

**Рисунок 1** – Культура адвентивных корней ТМК в контроле (I) и на опытных вариантах ½ МС среды с внесением ИМК (II) и НУК (III) в концентрации 1 мг/л

На приведенных фотоснимках в опытных вариантах отчетливо видны плотные участки каллусной ткани – центры дифференцировки адвентивных корешков, которые сохраняли регенерационный потенциал длительный период, в течение двух месяцев культивирования (рисунок 1 з, е). В отличие от контроля, роста растяжением корешков не наблюдалось.

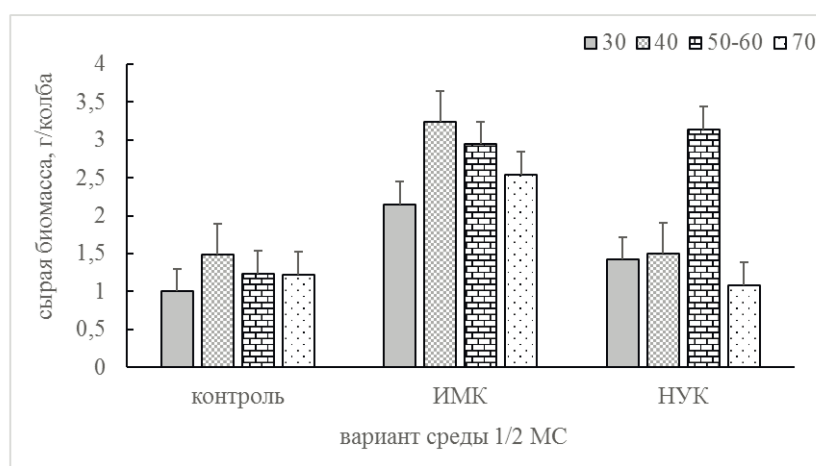
В ходе дальнейшего культивирования в течение 1,5 месяцев биомасса культуры АК нарастала как на ауксинсодержащих средах, так и на контрольной среде. Пролиферативная активность индуцированной культуры на этом этапе приводило к быстрому разрастанию корневой биомассы. По темпам роста и развития адвентивных корешков на опытных вариантах отмечались различия: культура на среде с ИМК

развивалась более интенсивно, чем на среде с НУК (рисунок 1 д, е).

Выявлено стимулирующее действие экзогенных ауксинов на процесс дифференцировки адвентивных корней, накопление их биомассы и индекс роста *in vitro*. При этом эффективность и сроки индуцирующего действия на накопление биомассы варьировали в зависимости от типа ауксина. Обнаружено, что выход сухой массы корней достоверно не отличался между вариантами и составил в среднем: в контроле – 11,66 %, на ИМК – 9,42 %, на НУК – 11,27 %.

На рисунке 2 приведены средние данные по сырой биомассе адвентивных корней с интервалом 10 дней на контрольной и опытных вариантах среды в ходе двухмесячного цикла культивирования.





НУК – нафтилуксусная кислота, ИМК – индолилмасляная кислота, 30,40,50-60,70 – сутки культивирования

**Рисунок 2** – Накопление биомассы адвентивных корней *in vitro* на  $\frac{1}{2}$  МС без гормонов (контроль), с внесением НУК и ИМК в концентрации 1 мг/л

Выявлена общая динамика накопления биомассы в ходе культивирования, которая проявлялась как в контроле, так и в опытных вариантах: максимальное увеличение биомассы – на 40-50 дни выращивания, и снижение в ходе дальнейшего культивирования.

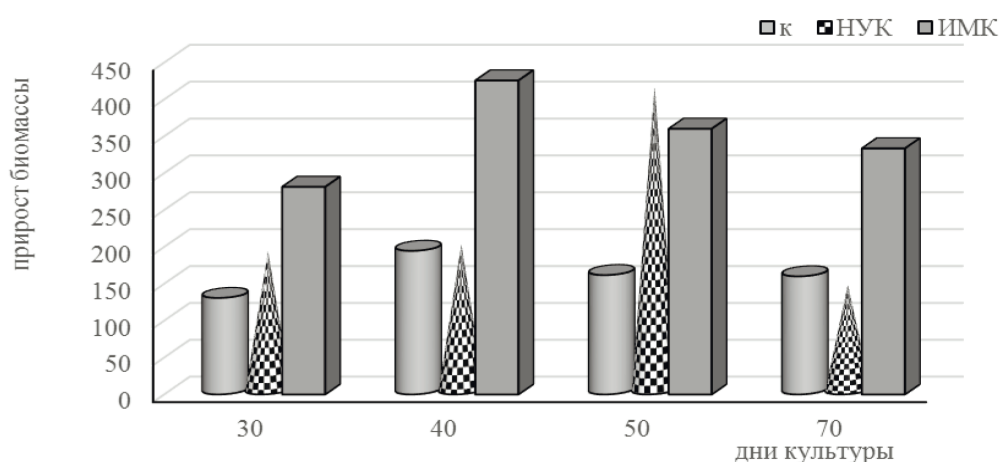
Культивирование эксплантов на контрольной среде в течение месяца приводило к накоплению в среднем 1 г сырой биомассы и 0,11 г сухого веса (с. в.) на колбу. При удлинении сроков инкубации эксплантов до 40 дней отмечалось максимальное накопление сырой биомассы в среднем 1,48 г (с. в. 0,16 г). В последующем, на 50-е и 70-е дни культивирования биомасса корней незначительно уменьшалась без достоверной разницы. В целом, в контроле накопление сырого веса корней существенно не менялось и сохранялось на уровне 1,2 г.

На среде с внесением НУК сырой вес корней 1,42 г (с. в. 0,16 г) 30-дневной культуры практически соответствовал максимальному весу контрольных на 40-дни. Максимальная биомасса корней на среде с НУК составила 3,13 г (с. в. 0,45 г) на второй месяц выращивания, которая затем снижалась до 1 г (с. в. 0,09 г) на 70-сутки культуры.

Наиболее выраженный ускоренный эффект на увеличение корневой биомассы оказывал экзогенный ауксин ИМК. Добавление ИМК в питательную среду стимулировало накопление 1,41 г сырой биомассы (0,12 г с. в.) на 20-дни культуры, аналогичное контролю на 40-сутки и варианту с НУК – на 30-сутки культуры. При удлинении срока выращивания на среде с ИМК до 30 и 40 дней, накопление сырого веса корней увеличилось до 2,1 г (с. в. 0,26 г) и 3,2 г (с. в. 0,33 г), соответственно.

Таким образом, в варианте среды с НУК отмечалось ускорение роста культуры на 10 дней и двукратное превышение максимальной биомассы корней по сравнению с контролем. Максимальный средний прирост биомассы достигался на среде с НУК на второй месяц культуры, тогда как на среде с ИМК на 40-сутки выращивания.

На рисунке 3 приведены средние данные по коэффициенту прироста биомассы  $K_t$  по отношению к исходному сырому весу первичных эксплантов (7,6 мг) в ходе культивирования на индуцирующих средах и в контроле на 30-е, 40-е, 50-е и 70-е дни инкубации.



к – контроль, НУК – нафтилукусная кислота, ИМК – индолилмасляная кислота

**Рисунок 3** – Прирост биомассы адвентивных корней *in vitro* на контрольной и опытных вариантах среды  $\frac{1}{2}$  МС с 1 мг/л НУК и ИМК

К концу первого месяца инкубации Кг составил: в контроле – 131, на среде с НУК – 187, на среде с ИМК 282. Максимальное увеличение биомассы на всех вариантах среды отмечалось на 40-50 дни выращивания, которое в ходе дальнейшего культивирования снижалось.

В контроле показатель прироста биомассы увеличивался от 131 до 195 на 40-е дни инкубации, и далее постепенно снижался до Кг 160 к концу второго месяца.

Прирост биомассы корней на среде с НУК отмечался на уровне контроля в начальный период культуры, затем повышался до значения 412 к 50-м дням культуры и к концу второго месяца снижался ниже контроля, до 142.

В варианте опыта с ИМК на 40-е дни культуры отмечался максимальный прирост Кг 425,8 на всем протяжении культивирования, с двукратным превышением контроля и варианта с НУК аналогичного срока культуры. В ходе дальнейшего

культивирования показатель прироста постепенно снижался до 334 к 70 дню культуры.

Таким образом, полученные максимальные показатели следующие: на среде с ИМК – биомасса 3,24 г/колба, Кг 426 на 40-е дни культуры; на среде с НУК – 3,13 г., Кг 412 на второй месяц культуры; в контроле – 1,5 г, Кг 195 через полтора месяца культуры. Максимальное превышение на опытных вариантах среды с ИМК и НУК по отношению к контролю не отличалось и составило: по биомассе 212 % и 216 %, по Кг – 211 % и 218%, соответственно.

*Сравнительный анализ содержания сапонинов ТМК в культуре in vitro.*

В таблице 2 приведено содержание сапонинов в этанольных экстрактах, полученных из нативных корней ТМК (корни *in vivo*), из суммарной корневой биомассы АК и в бутанольных экстрактах остаточной питательной среды, полученных за полтора месяца культивирования.

**Таблица 2** – Содержание сапонинов в суммарных экстрактах ТМК

Вариант $\frac{1}{2}$ МС* среды	Содержание сапонинов, мгэкв/г экстракта	
	биомасса адвентивных корней	остаточная питательная среда
Контроль (без ауксинов)	14,63 ± 0,50 <sup>a</sup>	32,29 ± 3,54 <sup>a</sup>
1 мг/л НУК	29,77 ± 2,14 <sup>b</sup>	39,26 ± 11,21 <sup>a</sup>
1 мг/л ИМК	30,77 ± 5,15 <sup>b</sup>	41,53 ± 3,70 <sup>a</sup>
корни <i>in vivo</i>	21,92 ± 2,58 <sup>c</sup>	

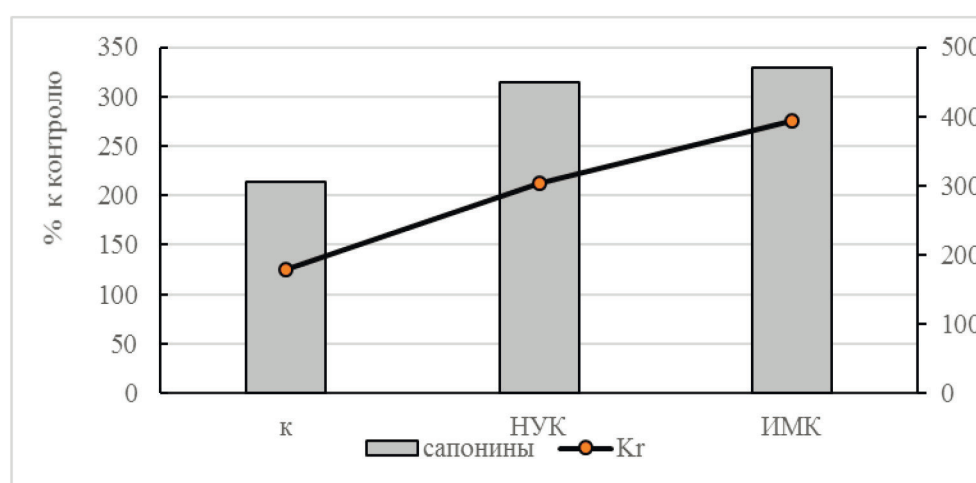
\* – среда Мурасиге и Скуга с половинным содержанием макро- и микросолей; <sup>a,b,c</sup> – достоверные отличия между вариантами в столбце при  $p \leq 0,05$

Из приведенных в таблице 2 данных следует, что уровень сапонинов в корневой биомассе, полученной на контрольной среде был почти в два раза ниже, чем в корнях, индуцированных на среде с внесением ИМК и НУК. При этом уровень сапонинов в контрольных корнях *in vitro* достоверно был ниже по сравнению с аналогичными экстрактами из нативных корней.

Выявлено, что экстракты из остаточной культуральной среды существенно не отличались по накоплению в них сапонинов: 32,3 мгэкв/г в контроле, 41,5 мгэкв/г в варианте с ИМК, и около

40 мгэкв/г – в среде с НУК. Высокий уровень сапонинов, выявленный во всех экстрактах культуральной среды, свидетельствует об активном выходе сапонинов из корней в окружающую жидкую среду, что облегчает процесс извлечения конечных метаболитов из культуры.

На рисунке 4 приведены обобщённые диаграммы, отражающие уровень сапонинов в экстрактах, полученных от 30-45 дневной культуры *in vitro* по отношению к их содержанию в нативных корнях и коэффициенты прироста по вариантам среды.



к – контрольная среда, НУК – нафтилуксусная кислота, ИМК – индолилмасляная кислота, Кг – коэффициент прироста биомассы

**Рисунок 4** – Уровень сапонинов в экстрактах ТМК, полученных из культуры адвентивных корней к их содержанию в нативных корнях и коэффициенты прироста биомассы адвентивных корней на 30-сутки культуры

При сопоставлении суммарного содержания сапонинов в изолированной культуре с показателем нативных корней, выявлено, что в культуре *in vitro* превышение составило: на контрольной среде 214 %, на среде с НУК и ИМК, 315 % и 330 %, соответственно. Повышенный уровень сапонинов коррелирует с увеличением прироста биомассы адвентивных корней на индуцирующих средах с добавлением ауксинов.

Обзор литературы по теме исследований показал, что стимулирующий эффект ауксинов на увеличение биомассы адвентивных корней установлен для разных видов. При этом эффективность действия различных ауксинов на пролиферацию АК различается в зависимости от вида растения. Так, в культуре адвентивных

корней женьшеня *Panax ginseng* в стандартных условиях выращивания на среде МС с 24,6  $\mu\text{M}$  (5 мг/л) ИМК накопление биомассы за два месяца составило 2,1 г/100 мл среды, содержание сапонинов не превышало 0,72 мг/г сырого веса [20]. Высокий уровень сапонинов 29,5 мг/г сырого веса выявлен в культуре корней первоцвета *Primula veris* на индуцирующей среде с ауксином в сочетании с кинетином [37]. В культуре изолированных корней *Gypsophilla* ssp. накопление сапонинов варьировало от минимального, 7 мг/г, до максимального уровня, 65 мг/г, в зависимости от линии исходных корней [19]. В работе М. Simao с соавторами [38] показана эффективность действия НУК по сравнению с другими ауксинами на

пролиферативную активность адвентивных корней пасифлоры *Passiflora pohlii* Mast.

### Заключение

Полученные данные позволяют утверждать, что разработка культуры адвентивных корней туркестанского мыльного корня является перспективной в качестве инновационной технологии для альтернативного получения коммерчески ценных тритерпеновых сапонинов эндемичного вида аллохрузы качимовидной *A. gypsophiloides*.

Ключевыми факторами для получения высокоэффективной культуры адвентивных корней ТМК являются использование корневых эксплантов от исходных высокопродуктивных генотипов, детерминированных на накопление вторичных метаболитов и оптимальный гормональный состав питательной среды, обеспечивающий быстрый рост культуры и активный синтез вторичных метаболитов в изолированной культуре.

На основании исследований и анализа экспериментальных данных можно сделать следующие выводы:

1. Оптимальными для получения культуры адвентивных корней являются экспланты корешков проростков от исходных семян с оптимальным сроком их введения *in vitro* в зимне-весенний период.

2. Стимулирующее действие экзогенных ауксинов связано с индуцированием каллусо-

генеза на первичных эксплантах с последующей массовой дифференцировкой в каллусной ткани корневых апексов, массовым развитием адвентивных корешков с образованием разветвленной корневой сети. Индуцированный ризогенез на ауксинсодержащих средах приводил к двукратному накоплению корневой биомассы по сравнению с контрольной средой и трехкратному повышению уровня сапонинов в культуре *in vitro* относительно их содержания в нативных корнях.

3. Тип ауксина (НУК или ИМК) не оказывал существенного влияния на максимальные значения ростового индекса культуры, показатели накопления биомассы и содержания сапонинов, но влиял на скорость протекания индуцированных процессов. Ауксин ИМК оказывал более раннее стимулирующее действие: по отношению к контрольной среде на 20 дней, к варианту с НУК на 10 дней.

### Конфликт интересов

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

### Источник финансирования

Проведенные исследования выполнены при грантовом финансировании Министерства образования и науки Республики Казахстан (№AP09258985), договор № 121/36-21-23 от 6 апреля 2021 года.

### Литература

1. Кукунов М.К. Ботаническое ресурсосведение Казахстана. – Алматы: Гылым, 1999. – 160 с.
2. Красная книга Казахстана. – Изд. 2-е, переработанное и дополненное. Том 2: Растения (колл. авторов). – Астана, ТОО «ArtPrintXXI», 2014. – С. 60.
3. Eisenman S.W., Strume L., Zurov D.E. Medical plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan. – Springer Science & Business Media, 2012. – P. 15-273. DOI: <https://www.springer.com/gp/book/9781461439110>.
4. Battger S., Melzig M.F. Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family // *Phytochemistry Letters*. – 2001. – Vol. 4, N. 2. – P. 59-68. DOI: 10.1016/j.phytol.2010.08.003.
5. Грудзинская Л.М., Гемеджиева Н.Г., Нелина Н.В., Каржаубекова Ж.Ж. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана. – Алматы, 2014. – С. 55.
6. Tumagambetova A., Alexyuk P., Bogoyavlenskij V., Zaitseva E., Omirtaeva M., Alexyur M., Sokolova N. Adjuvant activity of saponins from Kazakhstani plants on the immune response to the subunit influenza vaccine // *Archives of Virology*. – 2017. – T.162. – № 12. – С. 3817-3826. DOI: 10.1007/s00705-017-3560-5.
7. Гемеджиева Н., Мурсалиева В., Муханов Т. Оценка современного состояния природных популяций *Allochrysa gypsophiloides* в Южно-Казахстанской области // *Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская*. – 2016. – № 1(313). – С. 22-29. DOI: <http://www.biological-medical.kz/ru/archive/%E2%84%961.html>.
8. Murthy H.N., Lee K., Paek K. Production of secondary metabolites from cell and organ culture: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation // *Plant Cell Tissue Organ Culture*. – 2014. – Vol.118, N.1. – P. 1-16. DOI: 10.1007/s11240-014-0467-7.

9. Пасешниченко В.А. Растения-продуценты биологически активных веществ // Соровский образовательный журнал. – 2001. – №7 (8). – С. 13-19. DOI: [http://window.edu.ru/resource/599/20599/files/0108\\_013.pdf](http://window.edu.ru/resource/599/20599/files/0108_013.pdf).
10. Khanam M. N., Anis M., Javed S., Mottaghapisheh J., Csupor D. Adventitious root culture – an alternative strategy for secondary metabolite production: a review. – *Agronomy*. – 2022. – Vol. 12, N. 5, 1178. DOI:10.3390/agronomy12051178
11. Steffens B., Rasmussen A. The physiology of Adventitious Roots // *Plant Physiology*. – 2016. – Vol. 170, N. 2. – P. 603-617. DOI: [www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.15.01360](http://www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.15.01360).
12. Tien, Le. Root cultures for secondary products. In *Plant Roots*, edited by Yildirim E., Turan M., Ekin M. – London: IntechOpen, 2020. DOI: 10.5772/intechopen.94419
13. Murthy H., Dandin V., Paek K. Tools for biotechnological production of useful phytochemicals from adventitious root cultures // *Phytochemistry Reviews*. – 2014. – V.15, N. 1. – P. 129-145. DOI: 10.1007/s11101-014-9391-z.
14. Espinosa-Leal C., Puente-Garza C., Garcia-Lara S. In vitro plant tissue culture: means for production of biological active compounds // *Planta*. – 2018. – Vol. 248, N.1. – P.1-18. DOI: 10.1007/s00425-018-2910-1.
15. Karuppusamy S. A review on trends in production on secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures // *Journal of Medicinal Plants research*. – 2009. – Vol. 3, N. 13. – P. 1222- 1239. DOI: 10.5897/JMPR.9000026
16. Rahmat E., Kang Y. Adventitious root culture for secondary metabolite production in medicinal plants: a review // *Journal of Plant Biotechnology*. – 2019. – Vol. 46, N. 3. – P. 143-157. DOI: 10.5010/jpb.2019.46.3.143.
17. Cola D., Domenico D., Poma C., Spano L. Saponin production from in vitro cultures of the soapwort *Saponaria officinalis* L. // *Plant Cell Reports*. – 1997. – Vol. 17, P. 55–59. DOI: 10.1007/s002990050351.
18. Fulcheri C., Morard P., Henty M. Stimulation of the growth and the triterpenoid saponins accumulation of *Saponaria officinalis* cell and *Gypsophila paniculata* root suspension cultures by improvement of the mineral composition of the media // *J. Agric. Food Chem*. – 1998. – Vol. 46 (5). – P. 2055- 2061.
19. Gevrenova R., Stancheva T., Voyinikov Y., Mattar L.D., Henry M. Root in vitro cultures of six *Gypsophila* species and their saponin contents // *Enzyme and Microbial technology*. – 2010. – Vol. 47. – P. 97-104. DOI:10.1016/j.enzmictec.2010.05.007.
20. Langhansová, L., Marsík, P. and Vaněk, T. Alternative production of saponins from *Panax ginsens* // *Acta Horticulture*. – 2005. – Vol. 678. – P. 45-50. DOI: <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.678.5>.
21. Choi S.M., Song S.U., Yun S.R., Kwon O.W., Seon S.H., Paek K.Y. Pilot-scale culture of adventitious roots of ginseng in a bioreactor system // *Plant cell, tissue organ culture*. – 2000. – Vol. 62. – P. 187-193. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1006412203197>.
22. Kikowska M., Thiem B., Sliwinska E., Rewers M., Kowalczyk M., Stochmal A., Oleszek W. The effect of nutritional factors and plant growth regulators on micropropagation and production of phenolic acids and saponins from plantlets and adventitious root cultures of *Eryngium maritimum* L. // *J. Plant Growth Regul.* – 2014. – Vol. 33. – P. 809-819.
23. Biswas T., Dwivedi U. Plant triterpenoid saponins: biosynthesis, in vitro production, and pharmacological relevance // *Protoplasma*. – 2019. – Vol. 256, N. 6. – P. 1463-1486. DOI: 10.1007/s00709-019-01411-0.
24. Мурсалиева В.К., Кожебаева Ж.С., Рахимбаев И.Р., Гемеджиева Н.Г. Качественный и количественный анализ сапонинов туркестанского мыльного корня *Allochrusa gypsophiloides* (Regel) Schischk // *Вестник КазНУ им. аль-Фараби. Серия биологическая*, 2016. – №3(68). – С.114 – 123. DOI: <https://bb.kaznu.kz/index.php/biology/article/view/1208>.
25. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. – Киев: Наукова думка, 1980. – 487 с.
26. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Наука, 1990. – 352 с.
27. Ковалев В.Н., Попова Н.В., Кисличенко В.С. Исакова Т.И. Практикум по фармакогнозии. – Харьков: Золотые страницы, 2003. – С. 294 – 316.
28. Hiai S., Oura H., Nakajima T. Color reaction of some saponin and saponins with vanillin and sulfuric acid // *Planta Medica*. – 1976. – Vol.29, N. 02. – P. 116-122.
29. Deepika J., Shrivastava S. Estimation of Total Phenolic, Flavonoid and Saponin Content in Different Extracts of *Butea monosperma* Bark. // *International Journal of Engineering Technology Science and Research*. – 2017. – Vol. 4, N. 7. – P. 177-182. DOI: [http://ijetsr.com/images/short\\_pdf/1500000401\\_ieted149\\_ijetsr.pdf](http://ijetsr.com/images/short_pdf/1500000401_ieted149_ijetsr.pdf).
30. Государственная фармакопея СССР. Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. 11 изд. – М.: Медицина, 1991. – 400 с.
31. Беспаяев С.Б. Колючелистник качимовидный в Казахстане. (морфология, систематика, фитоценология, испытания в культуре): дис ... канд. биол. наук: 02.06.1966 / Казахский государственный университет им С.М. Кирова. – Алматы, 1966.– 183 с.
32. Nikolaeva M. Покой семян и факторы, его регулирующие. В кн.: Физиология и биохимия покоя и прорастание семян [Seed dormancy and factors that regulate it. In: Physiology and biochemistry of dormancy and seed germination] Moscow: Kolos, 1982. – С. 72-94.
33. Finch-Savage, W., and Leubner-Metzger, G. Seed dormancy and the control of germination // *New Phytologist*. – 2006. – Vol. 171, N. 3. – P. 501-523. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x.
34. Mursaliyeva V., Imambayeva A., Parkhatova R. Seed germination of *Allochrusa gypsophiloides* (Caryophyllaceae), an endemic species from Central Asia and Kazakhstan // *Seed Science and Technology*. – 2020. – Vol. 48, N. 2. – P. 289-295. DOI: 10.15258/sst.2020.48.2.15.
35. Nandogopal S., Kumari B. Effectiveness of auxin induced in vitro root culture in chicory // *Journal of Central European Agriculture*. – 2007. Vol. 8(1). – P. 73-80. DOI: 10.5513/JCEA.V8I1.435

36. Muhammad A., Abbasi. B. Adventitious roots formation for enhanced and sustainable production of antioxidants in Brassica oleracea var. acephala (Brassicaceae) // Inter. J. of Secondary Metabolite. – 2019. – Vol. 6(2). – P. 162-171. DOI: 10.21448/ijsm.530027.
37. Okslar V., Plaper I., Kovac M., Eriavec A., Obermaier T., Rebec A., Rebec A., Ravnikar M., Zel J. Saponins in tissue culture of *Primula veris* L. // In vitro Cell Biol: Plant. – 2007. – Vol. 43. – PP. 644-51. DOI: 10.1007/s11627-007-9072-3.
38. Simao M., Fonseca E., Garcia R., Mansur E., Pacheco G. Effects of auxins and different culture systems on the adventitious root development of *Passiflora pohlii* Mast. and their ability to produce antioxidant compounds // Plant Cell Tiss Organ Cult. – 2016. – Vol. 124. – PP. 419-430. DOI: 10.1007/s11240-015-0904-2.

## References

- Battger S., Melzig M.F. (2001) Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family. *Phytochemistry Letters*, vol. 4, no 2, pp. 59-68. DOI: 10.1016/j.phytol.2010.08.003.
- Bespaev S.B. (1966) *Kolyuchelistnik kachimovidnyj v Kazakhstane. (morfologiya, sistematika, fitocenologiya, ispytaniya v kul'ture)* [Kachimovidny thorn in Kazakhstan: morphology, systematics, phytocenology, tests in culture] dis ... kand. biol. nauk: / Kazakhskij gosudarstvennyj universitet im S.M. Kirova, Almaty, 183 p. [In Russian].
- Biswas T., Dwivedi U. (2019) Plant triterpenoid saponins: biosynthesis, in vitro production, and pharmacological relevance. *Protoplasma*, vol. 256(6), pp. 1463-1486. DOI: 10.1007/s00709-019-01411-0
- Choi S.M., Song S.U., Yun S.R., Kwon O.W., Seon S.H., Paek K.Y. (2000) Pilot-scale culture of adventitious roots of ginseng in a bioreactor system. *Plant cell, tissue organ culture*, vol. 62, pp. 187-193. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1006412203197>
- Cola D., Domenico D., Poma C., Spano L. (1997) Saponin production from in vitro cultures of the soapwort *Saponaria officinalis* L. *Plant Cell Reports*, vol. 17, pp. 55–59. DOI: 10.1007/s002990050351.
- Deepika J., Shrivastava S. (2017) Estimation of total phenolic, favonoid and saponin content in different extracts of *Butea monosperma* Bark. *International Journal of Engineering Technology Science and Research*, vol. 4(7), pp. 177-182. DOI: [http://ijetsr.com/images/short\\_pdf/1500000401\\_ieted149\\_ijetsr.pdf](http://ijetsr.com/images/short_pdf/1500000401_ieted149_ijetsr.pdf).
- Eisenman S.W., Strume L., Zaurov D.E. (2012) *Medical plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan*. Springer Science & Business Media, p. 15-273. DOI: <https://www.springer.com/gp/book/9781461439110>
- Espinosa-Leal C., Puente-Garza C., Garcia-Lara S. (2018) In vitro plant tissue culture: means for production of biological active compounds. *Planta*, vol. 248(1), pp. 1-18. DOI: 10.1007/s00425-018-2910-1.
- Finch-Savage, W., and Leubner-Metzger, G. (2006) Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, vol. 171(3), pp. 501-523. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x
- Fulcheri C., Morard P., Henty M. (1998) Stimulation of the growth and the triterpenoid saponins accumulation of *Saponaria officinalis* cell and *Gypsophila paniculata* root suspension cultures by improvement of the mineral composition of the media. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 46 (5), pp. 2055- 2061.
- Gemedzhieva N., Mursaliyeva V., Mukhanov T. (2016) Ocenka sovremennogo sostoyaniya prirodnyh populyacij *Allochrysa gypsophiloides* v Yuzhno-Kazakhstanskoj oblasti [Assessment of the current state of *Allochrysa gypsophiloides* (Regel) Schischk. natural populations in the South-Kazakhstan region], *Izvestiya NAN RK. Seriya biologicheskaya i medicinskaya* [News of the National academy of sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biological and medical], no. 1(313), pp. 22-29. DOI: <http://www.biological-medical.kz/ru/archive/%E2%84%961.html>. [In Russian].
- Gevrenova R., Stancheva T., Voyinikov Y., Mattar L.D., Henry M. (2010) Root in vitro cultures of six *Gypsophila* species and their saponin contents. *Enzyme and Microbial technology*, vol. 47, pp. 97-104. DOI:10.1016/j.enzmtec.2010.05.007.
- Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR. (1991) Vyp.2. Obshchie metody analiza. *Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e*. 11 izd. [State Pharmacopoeia of the USSR. Vol.2. General methods of analysis. Medicinal plant raw materials. 11th edition] Medicina, Moscow, 400 p. [In Russian].
- Grudzinskaya L.M., Gemedzhieva N.G., Nelina N.V., Karzhaubekova Zh. Zh. (2014) Annotirovannyj spisok lekarstvennyh rastenij Kazakhstana [Annotated list of medicinal plants of Kazakhstan]. Almaty, p.55. DOI: <http://www.biological-medical.kz/ru/archive/%E2%84%961.html>. [In Russian].
- Hiai S., Oura H., Nakajima T. (1976) Color reaction of some saponin and saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta Medica*, vol. 29, no. 02, pp. 116-122.
- Kalinin F.L., Sarnackaya V.V., Polishchuk V.E. (1980) *Metody kul'tury tkanej v fiziologii i biohimii rastenij* [Methods of tissue culture in plant physiology and biochemistry]. Kiev: Naukova Dumka, 487 p. [In Russian].
- Karuppusamy S. (2009) A review on trends in production on secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures. *Journal of Medicinal Plants research*, vol. 3, N. 13, pp. 1222- 1239. DOI: 10.5897/JMPR.9000026
- Kovalev V.N., Popova N.V., Kislichenko V.S. Isakova T.I. (2003) *Praktikum po farmakognozii* [Workshop on pharmacognosy]. Kharkiv: Golden Pages, pp. 294-316. [In Russian].
- Khanam M. N., Anis M., Javed S., Mottaghipisheh J., Csupor D. (2022) Adventitious root culture – an alternative strategy for secondary metabolite production: a review. *Agronomy*, vol. 12, no. 5, 1178. DOI: 10.3390/agronomy12051178
- Kikowska M., Thiem B., Sliwiska E., Rewers M., Kowalczyk M., Stochmal A., Oleszek W. (2014) The effect of nutritional factors and plant growth regulators on micropropagation and production of phenolic acids and saponins from plantlets and adventitious root cultures of *Eryngium maritimum* L. *J. Plant Growth Regul.*, vol. 33, pp. 809-819.
- Krasnaya kniga Kazakhstana (2014) Izd. 2-e, pererabotannoe i dopolnennoe. Tom 2: Rasteniya (koll. avtorov) [Red Book of Kazakhstan, 2nd edition, revised and supplemented], ArtPrintXXI, Astana, p. 60. [In Russian].

22. Kukenov M.K. (1999) Botanicheskoe resursovedenie Kazakhstana [Botanical resource studies of Kazakhstan]. Gylm, Almaty, 160 p. [In Russian].
23. Lakin G.F. Biometriya (1990) [Biometrics]. Nauka, Moscow, 352 p. [In Russian].
24. Langhansová, L., Marsik, P. and Vaněk, T. (2005) Alternative production of saponins from *Panax ginsens*. *Acta Horticulture*, vol. 678, pp. 45-50. DOI: <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.678.5>.
25. Muhammad A., Abbasi. B. (2019). Adventitious roots formation for enhanced and sustainable production of antioxidants in *Brassica oleracea* var. *acephala* (Brassicaceae). *Inter. J. of Secondary Metabolite*, vol. 6(2), pp. 162-171. DOI: 10.21448/ijsm.530027.
26. Mursaliyeva V., Imanbayeva A., Parkhatova R. (2020) Seed germination of *Allochrysa gypsophiloides* (Caryophyllaceae), an endemic species from Central Asia and Kazakhstan. *Seed Science and Technology*, vol. 48(2), pp. 289-295. DOI: 10.15258/sst.2020.48.2.15
27. Mursaliyeva V.K., Kozhebaeva ZH.S., Rahimbaev I.R., Gemedzhieva N.G. (2016) Kachestvennyj i kolichestvennyj analiz saponinov turkestanskogo myl'nogo kornya *Allochrysa gypsophiloides* (Regel) Schischk [Qualitative and quantitative analysis of saponins in *Allochrysa gypsophiloides* (Regel) Schischk]. *KazNU Bulletin. Biology series*, no. 3(68), pp. 114 – 123 [In Russian]. DOI: <https://bb.kaznu.kz/index.php/biology/article/view/1208>.
28. Murthy H., Dandin V., Paek K. (2014) Tools for biotechnological production of useful phytochemicals from adventitious root cultures. *Phytochemistry Reviews*, 15(1), 129-145.
29. Murthy H.N., Lee K., Paek K. (2014) Production of secondary metabolites from cell and organ culture: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, vol. 118, no 1, pp. 1-16. DOI: 10.1007/s11101-014-9391-z.
30. Nandogopal S., Kumari BDR. (2007) Effectiveness of auxin induced in vitro root culture in chicory. *Journal of Central European Agriculture*, vol. 8(1), pp. 73-80. DOI: 10.5513/JCEA.V8I1.435
31. Nikolaeva M. (1982) Pokoj semyan i faktory, ego reguliruyushchie. V kn.: *Fiziologiya i biokhimiya pokoya i prorastanie semyan* [Seed dormancy and factors that regulate it. In: *Physiology and biochemistry of dormancy and seed germination*] Kolos, Moscow, pp. 72-94. [In Russian].
32. Okslar V., Plaper I., Kovac M., Eriavec A., Obermaier T., Rebec A., Ravnikar M., Zel J. (2007). Saponins in tissue culture of *Primula veris* L. *In vitro Cell Dev. Biol: Plant*; vol. 43, pp. 644-51. DOI: 10.1007/s11627-007-9072-3.
33. Paseshnichenko V.A. (2001) Rasteniya-producenty biologicheski aktivnyh veshchestv [Plants as producers of bioactive compounds] *Sorovsky Educational Magazine*, vol. 7(8), pp. 13-19. DOI: [http://window.edu.ru/resource/599/20599/files/0108\\_013.pdf](http://window.edu.ru/resource/599/20599/files/0108_013.pdf). [In Russian].
34. Rahmat E., Kang Y. (2019) Adventitious root culture for secondary metabolite production in medicinal plants: a review. *Journal of Plant Biotechnology*, vol. 46(3), pp. 143-157. DOI: 10.5010/jpb.2019.46.3.143.
35. Simao M., Fonseca E., Garcia R., Mansur E., Pacheco G. (2016). Effects of auxins and different culture systems on the adventitious root development of *Passiflora pohlii* Mast. and their ability to produce antioxidant compounds. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, vol. 124, pp. 419-430. DOI: 10.1007/s11240-015-0904-2.
36. Steffens B., Rasmussen A. (2016) The physiology of Adventitious Roots. *Plant Physiology*, vol. 170(2), pp. 603-617. DOI: [www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.15.01360](http://www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.15.01360)
37. Tien, Le. (2020) Root cultures for secondary products. In *Plant Roots*, edited by Yildirim E., Turan M., Ekinci M. – London: IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.94419
38. Tumagambetova A., Alexyuk P., Bogoyavlenskij V., Zaitseva E., Omirtaeva M., Alexyur M., Sokolova N. (2017) Adjuvant activity of saponins from Kazakhstani plants on the immune response to the subunit influenza vaccine. *Archives of Virology*, Vol. 62(12), pp. 3817-3826. DOI: 10.1007/s00705-017-3560-5.

<sup>1</sup>O.B Tleuberlina , <sup>1</sup>A.T. Mamurova , <sup>1,2</sup> B.B. Osmonali , <sup>3</sup>G. K. Omarova 

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

<sup>2</sup>Institute of Botany and Phytointroduction, Kazakhstan, Almaty,

<sup>3</sup>Astana Medical University, Kazakhstan, Astana

\*e-mail: tleuberlina75@mail.ru

## DISTRIBUTION AND GEBOTANICAL STUDIES OF THE MEDICINAL PLANT *CAPPARIS HERBACEA* WILLD. IN THE SOUTHERN REGIONS OF KAZAKHSTAN

Conservation of biodiversity has now become one of the most important issues in the world. Among them, the conservation of medicinal plants requires special protection. Today, medicinal plants are widely used in scientific medicine. Its main purpose is to prepare medicinal preparations on the basis of medicinal plants. Huge territories of Kazakhstan are provided with rich natural diversity. Our country has unique plants, adapted to life in the desert. In addition, the flora is rich in forest and steppe species. In recent years, the country's environmental problems have become more complex. The issue of conservation of medicinal plants is a pressing environmental concern. The pharmaceutical industry in Kazakhstan is still in need of development. Therefore, the development of the pharmaceutical industry has become an urgent issue in the country. Intensive integrated use (highland pastures, hayfields, developed cattle breeding, as well as use as a recreation area) of mountain and foothill territories, has caused significant anthropogenic changes in flora and vegetation in recent years. The relevance of the study, is the study of the medicinal plant *Capparis herbacea* Willd. which grows mainly in the deserts, semi-deserts and steppes of Central Asia and Kazakhstan. This species is well adapted to different abiotic conditions and was therefore selected for the present study. The research work was carried out in 2020-2022. Classical botanical methods were used in the work. These include: route surveys, ecological systematics, ecological geography, methods of studying cenopopulations. As a result of research work communities are characterized by the following data: Populations which are in Turkestan region and grow in disturbed areas, gradually increase the number of their individuals and thereby restore the local flora or form the conditions for the formation of new communities and populations of other species. And in the Kyrgyz Alatau population, the ecological condition is stable, which is shown by the mosaic distribution of the study species. The study showed that *C. herbacea* can be one of the main dominant species for a particular area or locality and an edifier for some ephemeral or ephemeroïd species.

**Key words:** *Capparis herbacea*, medicinal plant, biodiversity, seeds, population, ecology, current situation.

<sup>1</sup>О.Б Тлеуберлина\*, <sup>1</sup>А.Т. Мамурова, <sup>1,2</sup>Б.Б. Осмонали, <sup>3</sup>Г. К. Омарова,

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

<sup>2</sup>Ботаника және фитоинтродукция институты Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>Астана Медицина Университеті, Қазақстан, Астана қ.

\*e-mail: tleuberlina75@mail.ru

### Қазақстанның оңтүстік облыстарында *Capparis herbacea* willd. дәрілік өсімдігінің таралуы және геоботаникалық зерттеулері

қазіргі уақытта биоалуантүрлілікті сақтау әлемдегі ең маңызды мәселелердің біріне айналды. Олардың ішінде дәрілік өсімдіктерді сақтау ерекше қорғауды қажет етеді. Бүгінгі таңда дәрілік өсімдіктер ғылыми медицинада кеңінен қолданылады. Оның негізгі мақсаты дәрілік өсімдіктер негізінде дәрілік препараттарды дайындау болып табылады. Қазақстанның орасан зор аумақтары бай табиғи әртүрлілікпен қамтамасыз етілген. Біздің елде шөлді өмірге бейімделген ерекше өсімдіктер бар. Сонымен қатар, флора орман және дала түрлеріне бай. Соңғы жылдары елдің экологиялық проблемалары күрделене түсті. Дәрілік өсімдіктерді сақтау мәселесі қоршаған ортаны қорғау саласында өзекті болып табылады. Қазақстандағы фармацевтика өнеркәсібі әлі де дамуды қажет етеді. Сондықтан фармацевтика өнеркәсібін дамыту елдегі өзекті мәселеге айналды. Таулы және тау бөктеріндегі аумақтарды қарқынды кешенді пайдалану (биік таулы жайылымдар, шабындық жерлер, дамыған мал шаруашылығы, сондай-ақ демалыс аймағы ретінде пайдалану) соңғы жылдары флора мен өсімдіктердің айтарлықтай антропогендік өзгерістерін тудырды. Зерттеудің өзектілігі негізінен Орта Азия мен Қазақстанның шөлдерінде, жартылай шөлдерінде және далаларында өсетін *Capparis herbacea* Willd. дәрілік өсімдігін



зерттеу болып табылады. Бұл түр әртүрлі абиотикалық жағдайларға жақсы бейімделген, сондықтан нақты зерттеу нысаны ретінде таңдалды. Зерттеу жұмыстары 2020-2022 жылдары жүргізілді. Жұмыста классикалық ботаникалық әдістер қолданылды. Оларға мыналар жатады: маршруттық зерттеулер, экологиялық систематика, экологиялық география, ценопопуляцияны зерттеу әдістері. Зерттеу жұмыстарының нәтижесінде қауымдастықтар келесі мәліметтермен сипатталады: Түркістан облысында орналасқан және бұзылған аумақтарда өсетін популяциялар біртіндеп өз дараларының санын көбейтіп, сол арқылы жергілікті флораны қалпына келтіреді немесе жаңа қауымдастықтар мен басқа түрлердің популяциясын қалыптастыру үшін жағдай жасайды. Ал Қырғыз Алатауында орналасқан популяцияда зерттелетін түрдің мозаикалық таралуымен көрсетілген экологиялық жағдайы тұрақты. Зерттеу көрсеткендей, *C. herbacea* белгілі бір аумақ немесе аймақ үшін негізгі доминанттардың бірі және кейбір эфемерлік немесе эфемероидты түрлер үшін эдификатор болуы мүмкін.

**Түйін сөздер:** *Sarraris herbacea*, дәрілік өсімдік, биоалуантүрлілік, тұқымдар, популяция, экология, қазіргі жағдай.

<sup>1</sup>О.Б Тлеуберлина\*, <sup>1</sup>А.Т. Мамурова, <sup>1,2</sup> Б.Б. Осмонали, <sup>3</sup>Г. К. Омарова

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

<sup>2</sup>Институт ботаники и фитоинтродукции

<sup>3</sup>Астанинский медицинский университет, Казахстан, г. Астана

\*e-mail: tleuberlina75@mail.ru

### **Распространение и геоботанические исследования лекарственного растения *Sarraris herbacea* Willd. в южных областях Казахстана**

В настоящее время сохранение биоразнообразия стало одной из самых важных проблем в мире. Среди них особой охраны требует сохранение лекарственных растений. Сегодня лекарственные растения широко используются в научной медицине. Ее основной целью является приготовление лекарственных препаратов на основе лекарственных растений. Огромные территории Казахстана обеспечены богатым природным разнообразием. В нашей стране есть уникальные растения, приспособленные к жизни в пустыне. Кроме того, флора богата лесными и степными видами. В последние годы экологические проблемы страны усложнились. Вопрос сохранения лекарственных растений является актуальным в области охраны окружающей среды. Фармацевтическая промышленность в Казахстане все еще нуждается в развитии. Поэтому развитие фармацевтической промышленности стало актуальным вопросом в стране. Интенсивное комплексное использование (высокогорные пастбища, сенокосные угодья, развитое животноводство, а также использование в качестве зоны отдыха) горных и предгорных территории, обусловило за последние годы значительные антропогенные изменения флоры и растительности. Актуальностью исследования, является изучение лекарственного растения *Sarraris herbacea* Willd., который произрастает главным образом в пустынях, полупустынях и степях Средней Азии и Казахстана. Этот вид хорошо адаптирован к различным абиотическим условиям и поэтому был выбран объектом настоящего исследования. Исследовательская работа проводилась в 2020-2022 годах. В работе использовались классические ботанические методы. К ним относятся: маршрутные исследования, экологическая систематика, экологическая география, методы изучения ценопопуляций. В результате исследовательской работы сообществ характеризуется следующими данными: Популяции которые находятся в Туркестанской области и произрастают на нарушенных территориях, постепенно увеличивают число своих особей и тем самым восстанавливают местную флору или образуют условия для обрзования новых сообществ и популяции других видов. А в популяции расположенной в Киргизском Алатау, экологическое состояние стабильное, которое показана мазачным распределением исследуемого вида. Исследование показало, что *C. herbacea* может быть одним из основных доминантов для определенной территории или местности и эдификатором для некоторых эфемерных или эфемероидных видов.

**Ключевые слова:** *Sarraris herbacea*, лекарственное растение, биоразнообразие, семена, популяция, экология, текущая ситуация.

## Introduction

Currently, the conservation of biodiversity has become one of the most important problems in the world. Among them, the preservation of medicinal plants requires special protection. Today medicinal plants are widely used in scientific medicine. Its main purpose is the preparation of medicinal products based on medicinal plants. The subject of medical practice research is the experience of traditional medicine. That is, medicinal plants that are popular with the people are in demand.

Vast territories of Kazakhstan are provided with rich natural diversity. In our country there are unique plants adapted to life in the desert. In addition, the flora is rich in forest and steppe species. In recent years, the country's environmental problems have become more complicated. The issue of preserving medicinal plants is relevant in the field of environmental protection. The effective use of flora for the needs of socio-economic development of society is a requirement of the market situation [1].

The pharmaceutical industry in Kazakhstan still needs to be developed. The availability of medicines does not exceed 10 percent. Therefore, the development of the pharmaceutical industry has become an urgent issue in the country.

Intensive integrated use (high-altitude pastures, hayfields, developed animal husbandry, as well as use as a recreation area) of mountainous and foothill territories has caused significant anthropogenic changes in flora and vegetation in recent years.

The main types of anthropogenic disturbance of many territories are: man-made mechanical disturbances, pollution by various construction wastes, pasture degradation, road digression, soil erosion and deflation, flooding or, conversely, drainage of soils, as well as unregulated use as a recreation area.

Anthropogenic impact on the vegetation cover inevitably leads to a violation of the stability of indigenous communities, a change in floral composition, the formation of derivative communities.

Currently, there is an intensification of anthropogenic pressure on the territory (development of natural territories, operation of industrial facilities, deforestation, development of new lands for farms, increasing residential and recreational loads, the use of chemicals and pollution by industrial emissions and transport) [2; 3].

The foothill plains of the surveyed territories have long been used for irrigation agriculture and horticulture. With a shortage of water resources, rain-fed cultivation of grain crops is used here.

As a result, large oases have emerged with a predominance in the area of vegetable gardens, grain crops, orchards and vineyards. There is practically no natural indigenous vegetation left [4; 5].

The original appearance of the vegetation cover on the cultivated areas of the foothill plains cannot be established even theoretically. At best, we have here only fragments of natural vegetation in the form of steppe areas, remnants of desert vegetation, thickets of shrubs and riverine tugai communities. In place of abandoned agricultural lands, secondary vegetation of deposits and wastelands has formed, which consists of groupings of weeds, mainly segetal and ruderal species. Among the weeds of crops, we will name the following types: *Acroptilon repens*, *A. australe*, *Sonchus arvensis*, *Cirsium setosum*, *Lactuca tatarica*, *L. serriola*, *Malva pusilla*, *Dodartia orientalis*, *Artemisia annua*, *Echinochloa crusgalli*, виды *Brassica*, *Sinapis arvensis* et al. In addition, some representatives of the natural flora are able to increase their abundance on the site of destroyed natural vegetation [3].

A striking example of digressive succession with unregulated use on high-altitude pastures can be the formation of rear areas (parking areas) – small (approximately 500 m<sup>2</sup>) territories covered with a layer of manure up to 10-15 cm. Vegetation in these areas is completely absent not only as a result of prolonged and repeated presence of a large mass of livestock in a relatively small area, but also due to poisoning of the soil surface with animal waste products, mainly nitrates. It is impossible to grow higher vascular plants on thyrles for several years until partial weathering and flushing of substances harmful to life occur.

The relative restoration of natural vegetation at the site of livestock camps occurs over a number of years as a result of the successive stages of ecological succession. Various stages of overgrowth of thyrle can be observed throughout the study area – from pioneer groups of weeds to natural phytocenoses with traces of overgrazing. Depending on the specific ecological and geographical conditions, the set of pioneers of the overgrowth of thyrle may be different [4-6].

The depletion of natural resources has led to environmental problems, such as the depletion of valuable wild plants. The growing areas of medicinal plants have decreased. Monitoring, research and evaluation of medicinal plant populations is an urgent task. In 1992, the Convention on Biological Diversity was adopted in Rio de Janeiro. Today, several levels of organization of living organisms

have been identified, each of which has a special biodiversity [2].

The history of the medicinal properties of medicinal plants goes back to ancient times. In the past, various decoctions and ointments were prepared from plants, which were used for various types of treatment. Hippocrates, who is considered the father of medicine, also used medicinal plants for treatment. Hippocrates gave a scientific description of 230 medicinal plants. In addition, Chinese medicine is based on medicinal plants. Today medicinal plants form the scientific basis of modern official medicine [3].

Kazakhstan's treatment policy is based on the principle of providing citizens with high-quality, effective, safe and affordable medicines. To date, more than 7,000 medicines have been registered in the Register of the Republic of Kazakhstan. Among them, 30% are domestic drugs, the rest are imported. Since the pharmaceutical market depends on imports, at the moment the release of new domestic drugs is a very urgent issue. The study of medicinal plants in our country is a prospect for the development of the pharmaceutical industry.

Currently, the State pays special attention to the conservation of plant biodiversity. The problem of plant protection as an important component of biodiversity is given great attention at different levels. The conceptual directions of solving the problem are set out in international documents:

- Creation of a system of criteria for the inventory of rare species, their identification and determination of the level of protection;
- Population and monitoring studies, as well as the use of generally accepted methods of working with rare and endangered plant species during in vitro cultivation;
- Study of biological features of rare species and mechanisms of influence of limiting factors on them;
- Development of biological principles and methods of conservation of rare species;
- organization of monitoring;
- Creation of a single database [4].

Research at the population level plays a special role in the protection of rare and endangered plant species. Coenopopulation is a special life form of plant species with a known functional structure and complex composition [5]. Currently, the threat to the gene pool of rare endemic and endangered species is primarily posed by anthropogenic environmental changes and habitat fragmentation, population decline and isolation [6].

Relevance of the study: The medicinal plant *Sarragis herbacea* Wild., capers, family Sarragaceae) grows mainly in deserts, semi-deserts and steppes of Central Asia. This species is well adapted to various abiotic conditions (drought, salinization, temperature changes and other environmental factors) and therefore was chosen as the object of this study.

The growing conditions of this plant are unique in nature, such as drought resistance, resistance to high temperatures and the ability to grow even in rocky places. Among many promising medicinal plants, we chose *Capparis herbacea*, a plant rich in biologically active substances. *Capparis herbacea* has not been systematically studied in Kazakhstan. Therefore, the purpose of our work is to study the phytochemical composition and biological activity of the plant, as well as the study of new medicines, the biological activity of phytopreparations or herbal medicines. This species grows and blooms in arid regions during the summer. It does not compete with other species for water in the Mediterranean basin. The plant does not compete with other species for water in the Mediterranean basin. This requires a semi-arid climate with an average annual temperature above 14 °C and an average annual precipitation of at least 200 mm [7]. It is adapted to arid regions, therefore, it tolerates water shocks without any symptoms and withstands strong winds and temperatures above 40 °C in the dry Mediterranean summer [8; 9]. In addition, the stems of capers are well stored in winter; but during the growing season, frost can destroy them. It is usually grown at low altitudes, but some plants are found even at an altitude of 1000 meters above sea level [10]. This plant has a powerful root system associated with nitrogen-fixing bacteria, which allows it to grow in poor soil [11; 12].

### Materials and methods of research

The object of our research is the medicinal plant *Capparis herbacea*. *C. herbacea* is the only species of the Capparidaceae family native to Kazakhstan. It is a deciduous perennial herbaceous aromatic plant that grows wild in arid areas. It is sometimes called "wild watermelon" and "wild onion". It grows in groups in rocky, desert areas. In addition, the branches are curved or straight, with simple spikes. And the leaves are rounded or oval, oblong, elliptical, with a blunt base. The structure of the leaves is bare, very dense, the length can reach 30-50 mm. The stem is hollow or whole, its height reaches 4-6 meters. One of the

characteristic features of *C. herbacea* is the presence of thorns. Therefore, it is popularly called “prickly caper”. Its leaves are arranged alternately. And the flowers bloom from May to the end of August. The roots are thick, hard, up to 12 m long. The flower has many stamens. Stamens are numerous, with filaments up to 5 cm long. The length of the gynophore is 3-6 mm. The fruits are elliptical, oval or oblong, fragrant.

The seeds are large, also brown in color (figure 1). Unlike other plants, they can regulate water metabolism, so they remain active during a prolonged drought. This group of plants is heterogeneous in terms of resistance to extreme growing conditions. For example, some xerophytes shed their leaves and stop growing, some tolerate drought due to a short growing season, etc. [14; 15].



**Figure 1** – Flowers, fruits, seeds of the medicinal plant *Capparis herbacea* Willd

The research work was carried out in 2020-2022. Classical botanical methods were used in the work. These include: route studies, ecological systematics, ecological geography, methods of studying cenopopulations.

In the course of the study, herbariums were collected to clearly define the floral community. In total, about 80 herbarium sheets were collected and processed. In addition, the herbarium material of the collection funds of the Institute of Botany and Phytointroduction (AA) was studied during the work. Herbarium collection was carried out according to the method of A.K. Skvortsov (1977). To determine the collected material, the main conclusions were used: “Flora of Kazakhstan” (1960), “Illustrated Handbook of Plants of Kazakhstan” (1969), “Handbook of Plants of Central Asia” (1972), etc. The plant species were listed according to the reports of Cherepanov (1995). The study of plants was carried out by traditional methods of field geobotanical research. The area of the standard plot: in the steppes and deserts is 15x15 sq. m and every 1 sq. m. Species determination was carried out on

the basis of primary data. The study determined the timing of the development of the phenological period, as well as the appearance of leaves, flowering time, fruit appearance, leaf fall and the duration of the growing season of the studied plant *Capparis herbacea* [13-18].

The expedition took place on the territory of Zhambyl region and Turkestan region. The research was carried out using maps of the territory, as well as using a GPS navigator (GPS ETREX 20, Garmin). All identified plant growth points were recorded and thoroughly studied, geobotanical test areas were laid. All identified plant growth points were recorded and thoroughly studied, as well as geobotanical test areas were laid.

### Results and discussion

Analysis of the geographical distribution of *C. herbacea*

*Sarragis spinosa* grows naturally from the Atlantic coast of the Canary Islands and Morocco to the Black Sea, in Crimea and Armenia, and to

the eastern side of the Caspian Sea and Iran. It is common in North Africa, Europe, West Asia, Afghanistan and Australia. The plant may have originated in the tropics and then spread to the Mediterranean basin and Central Asia. Different subspecies and varieties have specific geographical distributions. *C. herbacea* is widespread in Southern Europe, North Africa, including the Sahara, the Arabian Peninsula and the Middle East to China. *Rupestris* is widely distributed in France, Italy, Spain, Slovenia, Malta, Croatia and Albania, as well as in Turkey, Greece, Algeria, Libya and Tunisia. The Mediterranean regions may be seriously affected by global warming, which will lead to extensive consequences for agroecosystems and crop production. Particular attention should be paid to plants adapted to arid conditions for use

in agricultural systems under the current climate change scenario [19].

Mediterranean regions could be severely affected by global warming, with extensive consequences for agro-ecosystems and crop production. Special attention should be given to plants adapted to drought conditions for use in agricultural systems under the current climate change scenario.

Despite the fact that *C. herbacea* is quite widespread, according to many researchers, this species does not spread evenly across the territory of Kazakhstan. It is found in 6. Caspian; 9. Turgay; 10a. Ulytau; 13. Northern Ust-Tark; 16. Betpakdalinsky; 17. Muyunkumsky; 18. Balkhash-Alakolsky; 19. Yuzhno Ust-Tursky; 21. Turkestan; 24. Dzungarian Alatau; 25. Trans-Ili Kungei Alatau; 27. Kirghiz Alatau; 28. Karatau; 29. Western Tien Shan floristic districts (figure 2) [15;16].

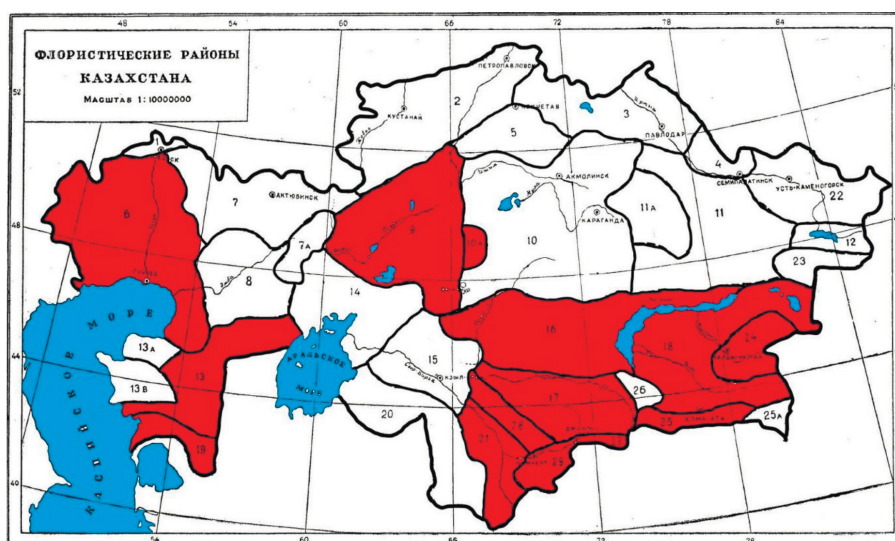
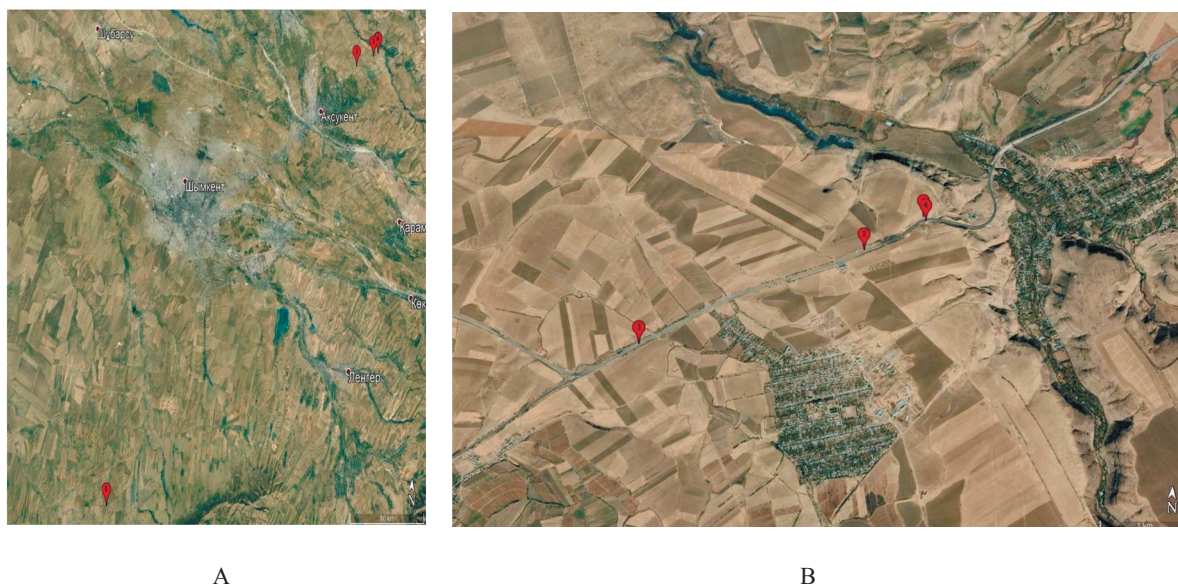


Figure 2 – Distribution *C. herbacea* within Kazakhstan

As we can see from the illustrations shown above, *C. herbacea* is distributed unevenly across the floristic regions of Kazakhstan, and is scattered in the steppe and desert zones, and extends into zones with a high-altitude belt. But the fact that we see in the previous figure is confusing, as no species has been noted in the Chu-Ili Mountains, and this species is found all around it. There are also a lot of questions about the distribution of this species, but it requires a lot of time and resources to perform work on a worldwide scale.

#### Analysis of expedition work

As a result of the expedition work in the territory of the Turkestan region, 5 points of growth and dominance of the species *Capparis herbacea* were noted. Descriptions of communities are given for all points, some communities have practically no species composition and are limited to several species. This is due to the fact that the studied species is well adapted to growing even in disturbed habitats, as after a rush of land, on deposits.



**Figure 3** – Points of communities described in the Turkestan region

A – general map; B – map of points 1-4

Description No. 1

The name of the association: grass-cornflower with the participation of capers

Geographical location: Turkestan region, Tulkibas district, Mashat rural district.

Coordinates: N42° 29' 35.00" E69° 56' 54.50" h-658 m.

The general nature of the relief: foothill counters, slope (slope 10-15°).

The position of the association site in relief: south-eastern slope, near the highway, between cultivated crops.

Microrelief: undulating plain.

Other features: moderate anthropogenic impact, near the road, the herbal composition is moderately slightly disturbed. The soil is clay. Weeds.

The size of the trial area: 15x15 m

Canopy closeness: 0

Structure of the tier: – *C. herbacea*

**Table 1** – Characteristics of the rocks that make up the shrub layer

№	Name of breeds	Abundance	Height, m		Phenophase	Life form
			Average	Max.		
1	<i>C. herbacea</i>	Sp	0,5	0,7	C	Shrub

Characteristics of the grass tier

Sample area size: 15x15

Total projective coverage: 50-60% (70)

Aspect (appearance, physiognomy of the association): Mixed

**Table 2** – Characteristics of the plants that make up the herbaceous tier

№	Name of plants	Abundance	Height, cm	Coverage, %	Phenophase
1	2	3	4	5	6
	<i>Centaurea pseudosquarrosa</i> Mikheev ex Gabrieljan et Mikheev	cop1	50	20	C
	<i>Artemisia terrae-albae</i> Krasch.	sp.	50	4	⊃
	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	sp.	30	4	O
	<i>Trifolium pratense</i> L.	Un	35	0,5	O

1	2	3	4	5	6
	<i>Cichorium intybus</i> L.	Rr	90	1	O
	<i>Astragalus rutilobus</i> Bunge	sol.	30	2	□
	<i>Polygonum patulum</i> M. Bieb.	Sp	20	1	O
	<i>Lactuca tatarica</i> (L.) C.A. Mey.	Un	30	2	O
	<i>Tragopogon</i> sp.	Un	50	0,5	+
	<i>Echium vulgare</i> L.	sol.	60	3	O
	Asteraceae	Rr	80	1	+
	<i>Poa pratensis</i> L.	cop1	70	20	#
	<i>Beckmannia eruciformis</i> (L.) Host	sp.	20	4	#
	<i>Calamagrostis pseudophragmites</i> (Haller f.) Koeler	sp.	20	4	#

## Description No. 2

Association name: mixed-herb-caper

Geographical location: Turkestan region, Tulkibas district, Mashat rural district.

Coordinates: N42° 29' 19.10" E69° 56' 22.60" h-689 m.

The general nature of the relief: the foothill counters.

The position of the association site in relief: the top of a small hillock or counter, near the highway, near a forest belt of elm.

Microrelief: undulating plain.

Other features: moderate anthropogenic impact, near the road, the herbal composition is moderately slightly disturbed. Dirt road. The soil is clay. Weeds.

The size of the trial area: 15x15 m

Canopy closeness: 0

Structure of the tier: – *C. herbacea***Table 3** – Characteristics of the rocks that make up the shrub layer

№	Name of breeds	Abundance	Height, m		Phenophase	Life form
			Average	Max.		
1	<i>C. herbacea</i>	cop2	0,3	0,5	C	Shrub

## Characteristics of the grass tier

Sample area size: 15x15

Total projective coverage: 50-60%

Aspect (appearance, physiognomy of the association): Mixed

**Table 4** – Characteristics of the plants that make up the herbaceous tier

№	Name of plants	Abundance	Height, cm	Coverage, %	Phenophase
	<i>Centaurea pseudosquarrosa</i> Mikheev ex Gabrieljan et Mikheev	sp.	40	4	C
	<i>Artemisia terrae-albae</i> Krasch.	sp.	50	4	⊃
	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	sp.	20	4	O
	<i>Trifolium pratense</i> L.	Un	35	0,5	O
	<i>Cichorium intybus</i> L.	Rr	90	1	O
	<i>Polygonum patulum</i> M. Bieb.	Un	20	0,5	O
	<i>Lactuca tatarica</i> (L.) C.A. Mey.	Un	30	2	O
	<i>Tragopogon</i> sp.	Un	50	0,5	+
	<i>Echium vulgare</i> L.	sol.	60	3	O
	Asteraceae	Rr	80	1	+

	<i>Calamagrostis pseudophragmites</i> (Haller f.) Koeler	sp.	70	20	#
	<i>Echium biebersteinii</i> (Lacaita) Dobroc.	Rr	30	1	+
	<i>Pseudosophora alopecuroides</i> (L.) Sweet	sp.	90	5	+
	<i>Rumex</i> sp.	Un	60	0,5	+

### Description No. 3

The name of the association: grass-cornflower with the participation of capers

Geographical location: Turkestan region, Tulkibas district, Mashat rural district.

Coordinates: N42° 28'36.10" E69° 54'27.00" h-652 m.

The general nature of the relief: the foothill counters.

The position of the site of the association in relief: the lowering of a small hillock or counter, near the highway, near a forest belt of elm.

Microrelief: undulating plain.

Other features: moderate anthropogenic impact, near the road, the herbal composition is moderately slightly disturbed. The soil is clay. Weeds.

The size of the trial area: 15x15 m

Canopy closeness: 0

Structure of the tier: – *C. herbacea*

**Table 5** – Characteristics of the rocks that make up the shrub layer

№	Name of breeds	Abundance	Height, m		Phenophase	Life form
			Average	Max.		
1	<i>C. herbacea</i>	cop1	0,5	0,5	C	Shrub

### Characteristics of the grass tier

Sample area size: 15x15

Total projective coverage: 60%

Aspect (appearance, physiognomy of the association): Mixed

**Table 6** – Characteristics of the plants that make up the herbaceous tier

№	Name of plants	Abundance	Height, cm	Coverage, %	Phenophase
	<i>Centaurea pseudosquarrosa</i> Mikheev ex Gabrieljan et Mikheev	cop2	45	30	C
	<i>Artemisia terrae-albae</i> Krasch.	sp.	50	4	⊃
	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	sp.	20	4	O
	<i>Trifolium pratense</i> L.	Un	35	0,5	O
	<i>Cichorium intybus</i> L.	Rr	90	1	O
	<i>Polygonum patulum</i> M. Bieb.	Un	20	0,5	O
	<i>Lactuca tatarica</i> (L.) C.A. Mey.	Un	30	2	O
	<i>Tragopogon</i> sp.	Un	50	0,5	+
	<i>Echium vulgare</i> L.	sol.	60	3	O
	Asteraceae	Rr	80	1	+
	<i>Calamagrostis pseudophragmites</i> (Haller f.) Koeler	sp.	70	20	#
	<i>Echium biebersteinii</i> (Lacaita) Dobroc.	Rr	30	1	+
	<i>Pseudosophora alopecuroides</i> (L.) Sweet	sp.	90	5	+



	<i>Rumex</i> sp.	Un	60	0,5	+
	<i>Astragalus rutilobus</i> Bunge	sol.	30	2	⊃
	<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth	sp.	20	4	#
	<i>Agrostis gigantea</i> Roth	sp.	20	4	#
	<i>Descurainia sophia</i> (L.) Webb ex Prantl	Un	50	0,5	+
	<i>Malva</i> sp.	Rr	90	1	O

In the two following points, the species composition is limited to 2-3 species, since they are located on deposits.

#### Description No. 4

Association name: bluegrass-caper

Geographical location: Turkestan region

Coordinates: N42° 29.553' E69° 56.931' h-765 m.

The general nature of the relief: the foothill counters.

The position of the association site in relief:

Microrelief: undulating plain.

Other features: weak anthropogenic impact, the herbal composition is slightly disturbed. The soil is clay.

The size of the trial area: 15x15 m

Canopy closeness: 0

Structure of the tier: – *C. herbacea*

**Table 7** – Characteristics of the rocks that make up the shrub layer

№	Name of breeds	Abundance	Height, m		Phenophase	Life form
			Average	Max.		
1	<i>C. herbacea</i>	cop2	0,5	0,7	C	Shrub

#### Characteristics of the grass tier

Sample area size: 15x15

Total projective coverage: 70%

Aspect (appearance, physiognomy of association): bluegrass

**Table 8** – Characteristics of the plants that make up the herbaceous tier

№	Name of plants	Abundance	Height, cm	Coverage, %	Phenophase
	<i>Poa pratensis</i> L.	cop2	40	30	#

#### Description No. 5

Association name: Caper

Geographical location: Turkestan region

Coordinates: N42° 02.762' E69° 28.624' h-682 m.

The general nature of the relief: the foothill counters.

The position of the association site in relief:

Microrelief: undulating plain.

Other features: moderate anthropogenic impact, near the road, the herbal composition is moderately slightly disturbed. The soil is clay. Weeds.

The size of the trial area: 15x15 m

Canopy closeness: 0

Structure of the tier: – *C. herbacea*

**Table 9** – Characteristics of the rocks that make up the shrub layer

№	Name of breeds	Abundance	Height, m		Phenophase	Life form
			Average	Max.		
1	<i>C. herbacea</i>	cop2	0,6	1	C	Shrub

Characteristics of the grass tier

Sample area size: 15x15

Total projective coverage: 40%

Aspect (appearance, physiognomy of the association): Alhagi-bluegrass

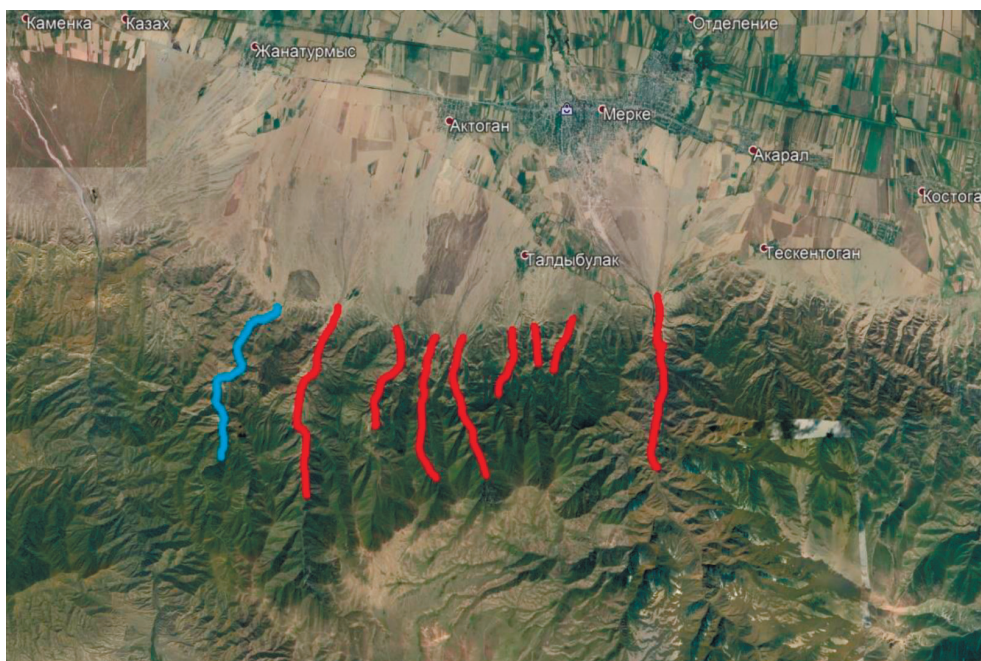
**Table 10** – Characteristics of the plants that make up the herbaceous tier

№	Name of plants	Abundance	Height, cm	Coverage, %	Phenophase
	<i>Poa pratensis</i> L.	cop1	30	20	#
	<i>Alhagi pseudalhagi</i> (M. Bieb.) Fisch.	sp.	50	5	C

Taking into account the data obtained on communities in disturbed territories, we can assume that the studied species feels good in such conditions. This is an indicator that it is not for nothing that this species is medicinal and is also shrubby, and it is learned that the species under study was not oppressed and gave offspring well,

that is, there were also overgrowths that show that the community is still developing and at the stage of restoration.

A more thorough study was also conducted in the Kyrgyz Alatau, where only in the Oiranda gorge (Zhambyl region), a place of growth of this species was found, and in the gorge. as a Measure or other, this species was not marked (Figure 4; 5) (Table 11).



**Figure 4** – A drawing map with the marks of the gorge where the species under study grows and does not grow (blue stripe Oiranda gorge)

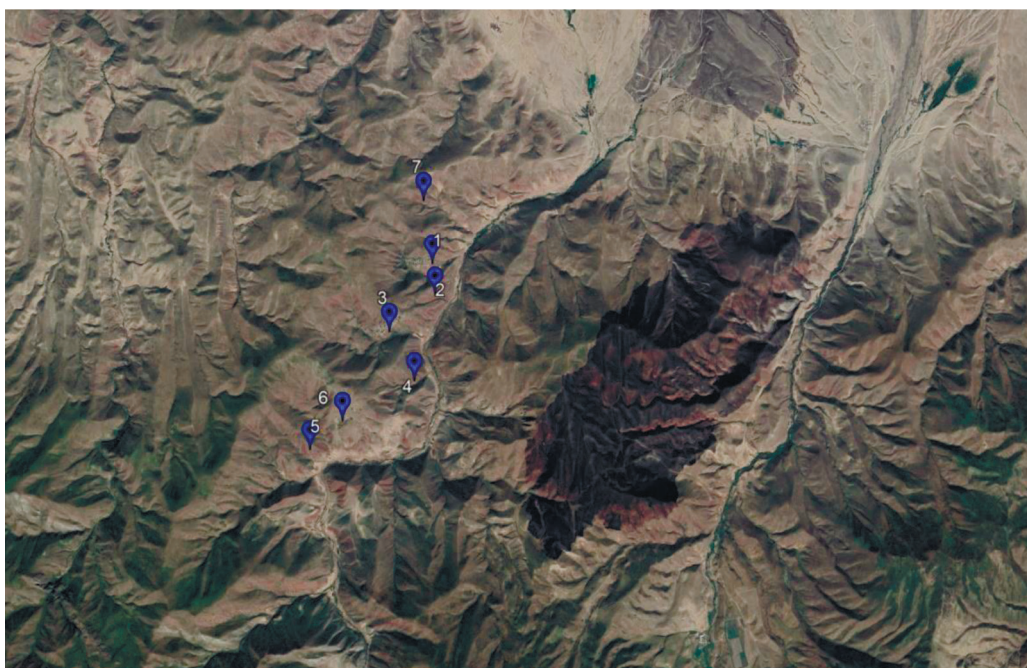


Figure 5 – Oiranda gorge with the indication of the points of the place of growth of *C. herbacea*

Таблица 11 – Floristic diversity of communities with the participation of *C. herbacea* Oiranda Gorge (Kyrgyz Alatau)

Type name	Abundance	Placement by B.A. Bykov	Height, m	Phenophase	
1	2	3	4	5	6
<i>Crataegus chlorocarpa</i> Lenne & K. Koch	Sol	Single	5	Fruits	
<i>Zabelia corymbosa</i> (Regel & Schmalh.) Makino	cop3	Diffuse	4	Fruits	
<i>Spiraea hypericifolia</i> L.	cop 1	Single, unevenly	1-1.5	Vegetation	
<i>Cotoneaster melanocarpus</i> Fisch. ex Blytt	Sp	Single, unevenly	1	Fruits	
<i>Berberis integerrima</i> Bunge	Sp	Single, unevenly	1	Fruits	
<i>Rosa platyacantha</i> Schrenk	Sp	Diffuse	1,5	Fruits	
<i>Juniperus semiglobosa</i> Regel	Sol	Single, unevenly	3-5	Vegetation	
<i>Euonymus semenovii</i> Regel & Herder	Sol	Single, unevenly	1	Seeds	
<i>Lonicera tatarica</i> L.	Sol	Single, unevenly	1,5	Vegetation	
<i>Rhamnus cathartica</i> L.	Sol	in groups, unevenly	6	Fruits	
<i>Ephedra distachya</i> L.	Sol	spots are uneven	0,3	Vegetation	
<i>Ribes meyeri</i> Maxim.	Sol	Single, unevenly	2	Fruits	
<i>Festuca valesiaca</i> Gaudin	cop1	Diffuse	0,6	Seeds	
<i>Capparis herbacea</i> Willd. ( <i>Capparis spinose</i> L.)	sp -cop1	Diffuse, mazaic	0,8	Fruits	
<i>Rubus caesius</i> L.	sp -cop1	Diffuse	0,8	Fruits	
<i>Origanum tyttanthum</i> Gontsch.	Sp	in groups, unevenly	0,5	Seeds	
<i>Leymus angustus</i> (Trin.) Pilg.	Sp	Single, unevenly.	0,7	Seeds	
<i>Galium verum</i> L.	Sp	spots are uneven	0,5	Seeds	
<i>Phleum phleoides</i> (L.) H. Karst.	Sp	Diffuse	0,5	Seeds	
<i>Descurainia sophia</i> (L.) Webb ex Prantl	Sp	in groups, unevenly	0,6	withering away	
<i>Ajania fastigiata</i> (C. Winkl.) Poljakov	sp	Single, unevenly	0,8	Blooms	
<i>Poa transbaicalica</i> Roshev.	Sp	uneven everywhere	0,8	Seeds	

1	2	3	4	5	6
<i>Viola rupestris</i> F.W. Schmidt	sol-sp	Single, unevenly	0,2	Vegetation	
<i>Bothriochloa ischaemum</i> (L.) Keng	sol-sp	in groups, unevenly.	0,3	Blooms	
<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth	Sol	spots are uneven	1,3	Vegetation	
<i>Veronica spuria</i> L.	Sol	Single, unevenly	0,8	Blooms	
<i>Dictamnus angustifolius</i> G. Don ex Sweet	Sol	Single, unevenly	1	Seeds	
<i>Artemisia dracunculus</i> L.	Sol	Single, unevenly	1	Blooms	
<i>Potentilla asiatica</i> (Th. Wolf) Juz.	Sol	in groups, unevenly	0,5	Blooms	
<i>Geranium collinum</i> Stephan ex Willd.	Sol	Single, unevenly	0,6	Blooms	
<i>Hypericum perforatum</i> L.	Sol	Single, unevenly	0,8	Seeds	
<i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam.	Sol	Single, unevenly	0,2	Blooms	
<i>Achillea asiatica</i> Serg.	Sol	Single, unevenly	0,2	Blooms	
<i>Urtica dioica</i> L.	Sol	in groups, unevenly.	1	Vegetation	
<i>Vicia tenuifolia</i> Roth	Sol	Single, unevenly	0,5	Blooms	
<i>Thymus marschallianus</i> Willd.	Sol	in groups, unevenly.	0,1	Seeds	
<i>Sisymbrium loeselii</i> L.	Sol	Single, unevenly	1	Blooms	
<i>Astragalus</i> sp.	Sol	Single, unevenly	0,4	Vegetation	
<i>Verbascum blattaria</i> L.	Sol	Single, unevenly	0,7	blooms	

Based on the above results, we can say that in more stable communities, where there is very little influence of an external factor, in which many species disappear, the species under study also feels good, but is not the main dominant in the community, the bushes are mostly scattered around about 10-15 meters from each other (there are large shrubs). And this shows, in turn, that this species contributes to the preservation of the community and is one of the main components of such a population. In addition, it can be assumed that in the disturbed territories that were previously described from the Turkestan region, communities may also move from dominant to subdominant over time, or be as an edifier species.

General data that can reinforce and supplement the literature data on this species. The plant is adapted to arid regions, so it can withstand hydraulic shocks, strong winds and temperatures above 40 ° C during the dry Mediterranean summer without visible damage. The root system of the plant is well developed. It tolerates sandy or rocky soil [19; 20]. It also prefers saline and halophytic habitats. It also grows wild at the junctions of walls and ancient monuments. *Capparis herbacea* has a low combustibility, so it is often used to fight forest fires in the Mediterranean climate [21].

In addition, the plant *Capparis herbacea* plays a very important role in agriculture. It is used to beautify the landscape, as well as to reduce erosion on steep rocky slopes, highways, sand dunes or in

fragile semi-arid ecosystems. *Capparis herbacea* is very useful for protecting the soil from drought [22]. It plays a special role in soil protection. Capers have also been used as a condiment since ancient times. The plant is rich in biologically active substances and has a wide range of properties of interest to people of culture and the food industry [23]. Its phytochemical value is due to the abundance of bioactive components in various organs, and its cultivation is of great economic importance. In folk medicine, the kidneys, fruits, seeds and roots of this plant are used as a diuretic, rheumatic, expectorant, antidiabetic decoction [24]. This plant also contains phenolic compounds, flavonoids, carotenoids and tocopherols and facilitates cardiovascular diseases, liver damage and nephropathy in animals with diabetes associated with antioxidant phytochemicals [25]. Fruits contain up to 12% sugar, up to 18% protein, essential oils, rutin 0.32%, 150 mg ascorbic acid, about 25-36% edible oil, and the root is the glucoside kapparidin. Medicinal use of the root of *Capparis herbacea* spread from early Arabic medicine to medicine in Central Asia [26]. The root of this plant is used for brucellosis, rheumatism, to calm the nervous system, for toothache and injuries [27]. The root of the plant is a cure for liver diseases and jaundice. The leaves and branches are used to treat diabetes, and the seeds are used to treat headaches [28]. The fruits of the plant treat food diseases, and the decoction – hemorrhoids and

toothache. Well-planned clinical studies are needed to determine the benefits and harms of capers.

It also contains many other useful compounds, such as polyphenols, alkaloids, lipids, vitamins and minerals. Our goal is to identify the main biologically active substances contained in various parts of wild and cultivated plants (leaves, stems, fruits and flowers). If you look at the results of many studies, the morphological characteristics of all ordinary capers are revealed. Such results are of great importance when growing capers in agriculture. In addition, the results of this study indicate the health benefits and chronic diseases of eating capers with antioxidants and their biological properties. The fruits of the medicinal plant *C. herbacea* are also useful. In addition, capers have a pleasant taste, and also contain a large amount of vitamins and trace elements. *C. herbacea* is a very common plant on earth. The plant is found in mountain gorges, and is also heat-resistant. Even his voice has healing properties and is used in folk medicine [23; 24].

For many years, mankind has used herbs to fight various diseases. Of course, they are used to varying degrees in different countries. Many countries have extensive experience in the use of medicinal plants. In 2017, Hamid Wahid, Hassan Rahshande, Ahmad Gorbanı found that prickly capers alleviate cardiovascular diseases, liver damage and nephropathy in diabetic animal models associated with antioxidant phytochemicals such as phenolic compounds, flavonoids, carotenoids [25]. In our further research, we will determine the medicinal properties of the phytochemical composition of the aboveground and underground parts, as well as

study the medicinal properties of the *C. herbacea*.

## Conclusion

As a result of the research work, communities are characterized by the following data: Populations that are located in the Turkestan region and grow in disturbed territories, gradually increase the number of their individuals and thereby restore the local flora or create conditions for the formation of new communities and populations of other species. And in the population located in the Kyrgyz Alatau, the ecological state is stable, which is shown by the mosaic distribution of the studied species.

*Capparis herbacea* is well studied abroad, it is also known for its medicinal properties. In our country, this species has been poorly studied. Therefore, based on foreign data, it is important for us to study the distribution and composition of the medicinal plant *C. herbacea* in Kazakhstan. All vegetation growth points were identified and geobotanical test areas were laid.

In addition, the study showed that *C. herbacea* can be one of the main dominants for a certain territory or locality and an edifier for some ephemeral or ephemeroïd species, as well as the main landscape species. The growth of this species on plains and between mountains indicates its high adaptability to various environmental factors and the factor of anthropogenic impact.

**Conflict of interest:** All authors are familiar with the content of the article and have no conflict of interest.

## References

1. Khan, I., Nisar, M., Khan, N., Saeed, M., Nadeem, S., Ali, F., Karim, N., Kaleem, W.A., Qayum, M., Ahmad, H., Structural insights to investigate Conyopodiol as a dual cholinesterase inhibitor from *Asparagus adscendens*. *Fitoterapia* 2010. 81, 1020–1025.
2. Kulisic-Bilusic, T., Blažević, I., Dejanović, B., Miloš, M., Pifat, G., Evaluation of the antioxidant activity of essential oils from caper (*Capparis spinosa*) and sea fennel (*Crithmum maritimum*) by different methods. *Journal of Food Biochemistry* 2010. 34, 286–302.
3. Kulisic-Bilusic, T., Schmöller, I., Schnäbele, K., Siracusa, L., Ruberto, G., The anticarcinogenic potential of essential oil and aqueous infusion from caper (*Capparis spinosa* L.). *Food Chemistry* 2012. 132, 261–267.
4. Nugroho, A., Choi, J.S., Hong, J.-P., Park, H.-J., Anti-acetylcholinesterase activity of the aglycones of phenolic glycosides isolated from *Leonurus japonicus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2017. 7 (10), 849–854.
5. Orhan, G., Orhan, I., Subutay-Oztekin, N., Ak, F., Sener, B., Contemporary anticholinesterase pharmaceuticals of natural origin and their synthetic analogues for the treatment of Alzheimer's disease. *Recent Patents on CNS Drug Discovery* 2009. 4, 43–51.
6. Paquot, C., Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. Elsevier. Presti, G., Guarrasi, V., Gulotta, E., Provenzano, F., Provenzano, A., Giuliano, S., Monfreda, M., Mangione, M., Passantino, R., San Biagio, P., Bioactive compounds from extra virgin olive oils: correlation between phenolic content and oxidative stress cell protection. *Biophysical Chemistry* 2013. 230, 109–116.
7. Tesoriere, L., Butera, D., Gentile, C., Livrea, M., Bioactive components of caper (*Capparis spinosa* L.) from Sicily and antioxidant effects in a red meat simulated gastric digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007. 55, 8465–8471.

8. Mazarei, F., Jooyandeh, H., Noshad, M., Hojjati, M., Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa* L.) leaf: extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules* 2017. 95, 224–231.
9. Evanno G, Regnaut S, Goudet J Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 2005. 14(8):2611–2620.
10. Fici S A taxonomic revision of the *Capparis spinosa* group (*Capparaceae*) from the Mediterranean to Central Asia. *Phytotaxa* 2014. 174(1):1–24.
11. Fici S A taxonomic revision of the *Capparis spinosa* group (*Capparaceae*) from eastern Africa to Oceania. *Phytotaxa* 2015. 203(1):024–036.
12. Gristina AS, Fici S, Siragusa M, Fontana I, Garfi`a G, Carimi F Hybridization in *Capparis spinosa* L.: molecular and morphological evidence from a Mediterranean island complex. *Flora* 2014. 209:733–741.
13. Скворцов А. К. Гербарий: Пособие по методике и технике. / Отв. ред. проф. Прилипко Л. И. – М.: Наука, 1977. – 199 с.
14. Флора Казахстана. Изд-во АН КазССР. – Т. III. – Алма-ата. – 1960. – С. 185-319.
15. Иллюстрированный определитель растений Казахстана. Изд-во АН КазССР. – Т. 1. – Алма-Ата, 1969. – 641 с.
16. Определитель растений Средней Азии. Изд-во «ФАН» УзССР. – Т. III. – Ташкент, 1972. – 267 с.
17. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. – СПб.: Мир и семья, 1995. – 992 с.
18. Быков Б.А. Геоботаника. – Алма-Ата: Наука, 1978. – 288 с.
19. Hall JC Systematics of *Capparaceae* and *Cleomaceae*: an evaluation of the generic delimitations of *Capparis* and *Cleome* using plastid DNA sequence data. *Botany* 2008. 86(7):682–696.
20. Highton RN, Akeroyd JR Variation in *Capparis spinosa* L. in Europe. *Bot J Linn Soc* 1991. 106:104–112.
21. Inocencio C, Cowan RS, Alcaraz F, Rivera D, Fay MF AFLP fingerprinting in *Capparis* subgenus *Capparis* related to the commercial sources of capers. *Genet Resour Crop Evol* 2005. 52:137–144.
22. Inocencio C, Rivera D, Obo`n MC, Alcaraz F, Barrena` A A systematic revision of *Capparis* section *Capparis* (*Capparaceae*). *Ann Mo Bot Gard* 2006. 93(1):122–149.
23. Jaccard P Nouvelles recherche` sur distribution florale. *Bull Soc Vaud Sci Nat* – 2008. 4:223–270.
24. Jacobs M The genus *Capparis* (*Capparaceae*) from the Indus to the Pacific. *Blumea* 1965. 12:385–541.
25. Liu C, Xue GP, Cheng B, Wang X, He J, Liu GH, Yang WJ Genetic diversity analysis of *Capparis spinosa* L. populations by using ISSR markers. *Genet Mol Res* 2015. 14(4):16476–16483.
26. Mahla HR, Rathore VS, Singh D, Singh JP *Capparis decidua* (Forsk.) Edgew.: an underutilized multipurpose shrub of hot arid region—distribution, diversity and utilization. *Genet Resour Crop Evol* 2013. 60:385–394.
27. Ozbek O, Kara A Genetic variation in natural populations of *Capparis* from Turkey, as revealed by RAPD analysis. *Plant Syst Evol* 2013. 299:1911–1933.
28. Peakall R, Smouse PE GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol* 2006. 6:288–295.

## References

1. Bykov B.A. Geobotanika [Geobotany]. – Алма-Ата: Наука, 1978. – 288 с. [in in Russian]
2. Cherepanov S.K. Sosudistye rasteniia Rossii i sopredelnykh gosudarstv [Vascular plants of Russia and neighboring states]. – СПб.: Мир i semia, 1995. – 992 с. [in in Russian]
3. Evanno G, Regnaut S, Goudet J Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 2005. 14(8):2611–2620.
4. Fici S A taxonomic revision of the *Capparis spinosa* group (*Capparaceae*) from the Mediterranean to Central Asia. *Phytotaxa* 2014. 174(1):1–24.
5. Fici S A taxonomic revision of the *Capparis spinosa* group (*Capparaceae*) from eastern Africa to Oceania. *Phytotaxa* 2015. 203(1):024–036.
6. Flora Kazakhstana [Flora of Kazakhstan]. Изд-во АН КазССР. – Т. III. – Алма-ата. – 1960. – С. 185-319. [in in Russian]
7. Gristina AS, Fici S, Siragusa M, Fontana I, Garfi`a G, Carimi F Hybridization in *Capparis spinosa* L.: molecular and morphological evidence from a Mediterranean island complex. *Flora* 2014. 209:733–741.
8. Hall JC Systematics of *Capparaceae* and *Cleomaceae*: an evaluation of the generic delimitations of *Capparis* and *Cleome* using plastid DNA sequence data. *Botany* 2008. 86(7):682–696.
9. Highton RN, Akeroyd JR Variation in *Capparis spinosa* L. in Europe. *Bot J Linn Soc* 1991. 106:104–112.
10. Illiustrirovannii opredelitel rastenii Kazakhstana [Illustrated determinant of plants of Kazakhstan]. Изд-во АН КазССР. – Т. 1. – Алма-Ата, 1969. – 641 с. [in in Russian]
11. Inocencio C, Cowan RS, Alcaraz F, Rivera D, Fay MF AFLP fingerprinting in *Capparis* subgenus *Capparis* related to the commercial sources of capers. *Genet Resour Crop Evol* 2005. 52:137–144.
12. Inocencio C, Rivera D, Obo`n MC, Alcaraz F, Barrena` A A systematic revision of *Capparis* section *Capparis* (*Capparaceae*). *Ann Mo Bot Gard* 2006. 93(1):122–149.
13. Jaccard P Nouvelles recherche` sur distribution florale. *Bull Soc Vaud Sci Nat* – 2008. 4:223–270.

14. Jacobs M The genus *Capparis* (Capparaceae) from the Indus to the Pacific. *Blumea* 1965. 12:385–541.
15. Khan, I., Nisar, M., Khan, N., Saeed, M., Nadeem, S., Ali, F., Karim, N., Kaleem, W.A., Qayum, M., Ahmad, H., Structural insights to investigate Conyopodiol as a dual cholinesterase inhibitor from *Asparagus adscendens*. *Fitoterapia* 2010. 81, 1020–1025.
16. Kulisic-Bilusic, T., Blažević, I., Dejanović, B., Miloš, M., Pifat, G., Evaluation of the antioxidant activity of essential oils from caper (*Capparis spinosa*) and sea fennel (*Crithmum maritimum*) by different methods. *Journal of Food Biochemistry* 2010. 34, 286–302.
17. Kulisic-Bilusic, T., Schmöller, I., Schnäbele, K., Siracusa, L., Ruberto, G., The anticarcinogenic potential of essential oil and aqueous infusion from caper (*Capparis spinosa* L.). *Food Chemistry* 2012. 132, 261–267.
18. Liu C, Xue GP, Cheng B, Wang X, He J, Liu GH, Yang WJ Genetic diversity analysis of *Capparis spinosa* L. populations by using ISSR markers. *Genet Mol Res* 2015. 14(4):16476–16483.
19. Mahla HR, Rathore VS, Singh D, Singh JP *Capparis decidua* (Forsk.) Edgew.: an underutilized multipurpose shrub of hot arid region—distribution, diversity and utilization. *Genet Resour Crop Evol* 2013. 60:385–394.
20. Mazarei, F., Jooyandeh, H., Noshad, M., Hojjati, M., Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa* L.) leaf: extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules* 2017. 95, 224–231.
21. Nugroho, A., Choi, J.S., Hong, J.-P., Park, H.-J., Anti-acetylcholinesterase activity of the aglycones of phenolic glycosides isolated from *Leonurus japonicus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2017. 7 (10), 849–854.
22. *Opredelitel rastenii Srednei Azii* [The determinant of plants of Central Asia]. Izd-vo «FAN» UZSSR. – T. III. – Tashkent, 1972. – 267 s. [in in Russian]
23. Orhan, G., Orhan, I., Subutay-Oztekin, N., Ak, F., Sener, B., Contemporary anticholinesterase pharmaceuticals of natural origin and their synthetic analogues for the treatment of Alzheimer's disease. *Recent Patents on CNS Drug Discovery* 2009. 4, 43–51.
24. Ozbek O, Kara A Genetic variation in natural populations of *Capparis* from Turkey, as revealed by RAPD analysis. *Plant Syst Evol* 2013. 299:1911–1933.
25. Paquot, C., *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives*. Elsevier. Presti, G., Guarrasi, V., Gulotta, E., Provenzano, F., Provenzano, A., Giuliano, S., Monfreda, M., Mangione, M., Passantino, R., San Biagio, P., Bioactive compounds from extra virgin olive oils: correlation between phenolic content and oxidative stress cell protection. *Biophysical Chemistry* 2013. 230, 109–116.
26. Peakall R, Smouse PE GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol* 2006. 6:288–295.
27. Skvortsov A. K. *Gerbarii: Posobie po metodike i tekhnike* [Herbarium: Manual on methodology and technique] / Otv. red. prof. Prilipko L. I. – M.: Nauka, 1977. – 199 s. [in in Russian]
28. Tesoriere, L., Butera, D., Gentile, C., Livrea, M., Bioactive components of caper (*Capparis spinosa* L.) from Sicily and antioxidant effects in a red meat simulated gastric digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007. 55, 8465–8471.

2-бөлім  
**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

---

Section 2  
**BIOTECHNOLOGY**

---

Раздел 2  
**БИОТЕХНОЛОГИЯ**



**M.H. Kozhakhmetova<sup>1\*</sup>**, **N.Sh. Akimbekov<sup>1</sup>**, **K.T. Tastambek<sup>1,2</sup>**

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

<sup>2</sup>Khoja Akhmet Yassawi International Kazakh-Turkish University, Kazakhstan, Turkistan

\*e-mail: marzhanur.7@mail.ru

## CHARACTERIZATION OF FUNCTIONAL AND MICROBIAL PROFILE OF WHEY RECOVERED FROM COTTAGE CHEESE AND CHEESE MANUFACTURING

### Abbreviations

CFU- colony forming units; LAB – lactic acid bacteria; MRS – De Man, Rogosa and Sharpe agar; MPA – Meat Peptone Agar; BOD- biochemical oxygen demand; COD – chemical oxygen demand

The main reason for selecting whey as a substrate of research and raw material for alcohol production is to reduce industrial waste that adversely impacts the environment, as well as to make a profit on it. The environmental impact of whey is related to its biological oxygen demand (BOD = 230 mg/ml) and chemical oxygen demand (COD = 70 mg / ml). Whey is mainly composed of disaccharide lactose, and the activity of yeast strains plays an important role in its conversion to bioethanol. Lactic acid bacteria, whey composition, and fermentation conditions also play an important role. In this work, the physicochemical properties of milk and cheese whey were studied, and microbiological analysis was carried out. The results show the high quality of the whey of the two selected producers of cottage cheese and cheese. The uniformity of consistency and normal appearance, taste, and smell, corresponding to the whey, testify to the observance of all sanitary norms and rules at the stage of whey collection. No significant differences were found between the characteristics of two different whey samples. The cells of yeast strains isolated from whey had different natures. 4 strains of alcohol-resistant yeasts and 2 strain of lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* W1 and *Leuconostocmesenteroides* W1 were isolated, which could be promising biocatalysts for bioethanol production.

**Key words:** milk whey, fermentation, yeasts, whey microflora.

М.Х. Кожаметова<sup>1\*</sup>, Н.Ш. Акимбеков<sup>1</sup>, К.Т. Тастамбек<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>Қожа Ахмет Яссауи атындағы Халықаралық қазақ-түрік университеті, Қазақстан, Түркістан қ.

\*e-mail: marzhanur.7@mail.ru

### Ірімшік және сүзбе өндірісінде алынған сарысудың функционалды және микробтық профилінің сипаттамасы

### Қысқартулар

КҚБ-колонияқұраушы бірліктер; СҚБ-сүт қышқылды бактериялар; MRS – агар Де Ман, Рогоза және Шарпа; ЕПА – ет-пептонды агар; ОБҚ – оттегіге биохимиялық қажеттілік; ОХҚ – оттегіге химиялық қажеттілік.

Этанол өндірісі үшін зерттеулер мен шикізат үшін субстрат ретінде сарысуды таңдаудың негізгі себебі қоршаған ортаға теріс әсер ететін өндірістік қалдықтардың азаюы, сонымен қатар пайда табу болып табылады. Сарысудың қоршаған ортаға әсері оның оттегіне биологиялық қажеттілігімен (ОБҚ= 230 мг / мл) және оттегінің химиялық қажеттілігімен (ОХҚ = 70 мг / мл) байланысты. Сарысу негізінен дисахаридті лактозадан тұрады, сондықтан ашытқы штамдарының белсенділігі оның биоэтанолға айналуына айтарлықтай әсер етеді. Сүт қышқылы бактериялары, сарысудың құрамы және ашыту шарттары да маңызды рөл атқарады. Бұл жұмыста сүзбе және ірімшік өндірісінен алынған сарысудың физика-химиялық қасиеттері зерттеліп, микробиологиялық талдау жүргізілді. Алынған нәтижелер таңдалған ірімшік пен сүзбе өндірушілердің сарысуының жоғары сапасын көрсетеді. Сарысуға сәйкес келетін консистенцияның біркелкілігі және қалыпты сыртқы түрі, дәмі мен иісі сарысуды жинау кезеңінде барлық санитарлық нормалар мен ережелердің сақталуын көрсетеді. Екі түрлі сарысу үлгілерінің сипаттамалары арасында айтарлықтай айырмашылықтар табылған жоқ. Са-

рысудан бөлініп алынған ашытқы штамдарының жасушалары әртүрлі сипатта болды. Спиртке төзімді ашытқылардың 4 штаммы және биоэтанол өндіру үшін перспективалы биокатализаторлар болуы мүмкін сүт қышқылы бактерияларының 2 *Lactobacillus plantarum* W1 және *Leuconostocmesenteroides* W1 штаммы бөлінді.

**Түйінді сөздер:** сүт сарысуы, ашыту, ашытқы, сарысу микрофлорасы.

М.Х. Кожаметова<sup>1\*</sup>, Н.Ш. Акимбеков<sup>1</sup>, К.Т. Тастамбек<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>Международный казахско-турецкий университет им. Х.А. Ясави, Казахстан, г. Туркестан,

\*e-mail: marzhanur.7@mail.ru

### **Характеристика функционального и микробного профиля сыворотки, полученной при производстве творога и сыра**

#### **Сокращения и обозначения**

КОЕ – колониеобразующие единицы; МКБ – молочнокислые бактерии; MRS – агар Де Ман, Рогоза и Шарпа; МПА – Мясопептонный агар; БПК – биохимическая потребность в кислороде; ХПК – химическая потребность в кислороде.

Основная причина выбора сыворотки в качестве субстрата для исследований и сырья для производства этанола заключается в утилизации промышленных отходов, которые негативно влияют на окружающую среду, а также в получении наибольшей прибыли. Воздействие сыворотки на окружающую среду связано с ее биологической потребностью в кислороде (БПК = 230 мг/мл) и химической потребностью в кислороде (ХПК = 70 мг/мл). Сыворотка в основном состоит из дисахаридной лактозы, поэтому активность дрожжевых штаммов значительно влияет в ее превращении в биоэтанол. Молочнокислые бактерии, состав сыворотки и условия ферментации также играют важную роль. В данной работе были изучены физико-химические свойства творожной и подсырной сыворотки, проведен микробиологический анализ. Результаты показывают высокое качество сыворотки двух выбранных производителей творога и сыра. Равномерность консистенции и визуальные признаки, вкус и запах, соответствующие сыворотке, свидетельствуют о соблюдении всех санитарных норм и правил на этапе сбора сыворотки. Не было обнаружено значительных различий между характеристиками двух разных образцов сыворотки. Клетки дрожжевых штаммов, выделенных из сыворотки, имели разную природу. Выделено 4 штамма спиртоустойчивых дрожжей и 2 штамма молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* W1 и *Leuconostocmesenteroides* W1, которые могут быть перспективными биокатализаторами для производства биоэтанола.

**Ключевые слова:** молочная сыворотка, ферментация, дрожжи, микрофлора сыворотки.

## **1. Introduction**

The rapid growth of industry, the development of cities and megalopolises, and the improvement of their amenities require solving problems associated with the negative impact of human activities on the environment. The food industry is one of the industries necessary to provide people with food. But at the same time, the food industry brings great harm to the environment. To reduce environmental damage, manufacturing is now beginning to use closed cycles, and in this new wave, the food industry has proven that the future is zero-waste. Secondary dairy raw materials are a good resource for the production of new economically significant products. Whey is the liquid that remains after the production of milk and dairy products such as cheese, cottage

cheese and casein. At the moment, there are various ways of commercial uses of whey, as it is produced in large quantities and causes significant harm to the environment due to the content of many organic compounds in it. Cheese whey is the biochemical oxygen demand (BOD = 230 mg/ml) and chemical oxygen demand (COD = 70 mg / ml) [1]. For the utilization of whey, more precisely for its chemical oxidation, about 50 g of oxygen is needed, in comparison, data on the oxidation of wastewater are given, for the oxidation of such waste 0.3 g of oxygen is required. It is for this reason that the whey has a deadly effect on the flora and fauna of the environment into which it will merge. Particular attention should be paid to Lactose, it is she who is largely responsible for the high level of BOD and COD. Isolation of protein and its use in the other direc-

tion reduces COD by only 12%. On the other hand, whey is very rich in nutrients such as peptides, minerals and vitamins, this side of it offers a promising possibility of using whey as a resource [2]. Whey is currently considered as a material for ethanol production based on the bioconversion of lactose.

Bioethanol is a renewable energy source without greenhouse gas emissions obtained by fermenting sugar-containing substances. Ethanol production is an excellent approach to energy independence and one of the best replacements for current polluting fuels such as fuel oil and coal obtained from traditional methods. today ethanol is important product on the fuel market [3]. Ethanol can be obtained in two ways, the first is obtained chemically, the second is enzymatic, using microorganisms that ferment sugars. At the beginning of the 20th century, the second method was used more often than the chemical method, but soon the choice of entrepreneurs changed due to the rise in prices for sugar and starch. In the chemical method for producing ethanol, reactions are carried out to hydrate ethylene; in the case of a fermentation or microbiological method, yeast is most often used to ferment sugars [4-6]. The production of ethanol using the fermentation process of sugar-rich materials is technically feasible, and its use does not affect the environment. In contrast to the production of ethanol using cellulosic materials, the use of whey is the most acceptable from a financial point of view, since cellulosic materials require additional manipulations, such as hydrolysis in order to break down into simple sugar molecules, which is expensive. Moreover, whey is very readily available for ethanol production [7].

Currently, most of bioethanol from secondary raw materials, in large-scale enterprises, is obtained using yeast. The type of yeast is of no small importance, since not all yeast can utilize lactose as the main sugar of whey. For example, *S. cerevisiae* yeast consume sugars such as glucose, fructose, maltose and maltotriose, *S. diastaticus* – dextrins, and in turn *Kluyveromyces fragilis* and *K. lactis* consume lactose. Also used are genetically modified microorganisms such as *Zymomonas mobilis* and *Escherichia coli* for use in alcohol production. the use of such microorganisms doubles the efficiency of lactose fermentation [8].

The composition of whey, its microflora is of great importance in the production of ethanol and the isolation of the same strains from it for use in fermentation. Therefore, it is an important to understand and study the whey source prior to commencing industrial fermentation and whey distillation to

obtain ethanol. The composition and properties of whey depends on many factors: the type of whey, milk pretreatment and processing parameters such as filtration, pasteurization, starter culture, rennet and salting will influence the whey composition [9, 10]. Minor compositional variations are likely to have little effect on the fermentation and distillation process; however, this can be a problem when striving to produce a clean, quality product with high yield. Criteria for the selection of microorganisms for ethanol production are also taken into account when creating a good technology. The tolerance of microorganisms to high temperatures and high ethanol concentrations are important characteristics for industrial use [11,12].

## 2. Materials and methods

### Whey sampling

Two types of whey cottage cheese whey and cheese whey were used in the study. For this purpose, samples were taken from the LLP «Plant of the Kazakh Academy of Nutrition Amiran» dairy plant and the «Stella Alpina» cheese plant from the Almaty region. Samples were freshly collected and sterile packed. Organoleptic characteristics of the used whey were characterized.

### Whey characterization

Fat content (FT), protein (PR), carbohydrates (CH) were evaluated using a scanner Lactoscan S. Additionally, the mass of dry matter, density (DE) and humidity by RADWAG MA 50.R Moisture Analyzer were pre-calibrated and validated, the mean study error is, 025% with determinations performed according to AOAC [13].

### Determination of titratable acidity pH.

The method is based on titration of acidic salts, proteins, carbon dioxide and other components of whey samples with an alkali solution in the presence of phenolphthalein indicator. The titratable acidity is expressed in Turner degrees ( $^{\circ}$  T). In a conical flask with a capacity of 150 cm<sup>3</sup>, we measured 10 cm<sup>3</sup> of whey, and added three potassium phenolphthalein. The resulting mixture is thoroughly mixed and titrated with 0.1 N sodium (potassium) hydroxide solution until a stable faint pink color is obtained [14]. The volume of whey used for titration is multiplied by 10, since the titrated acidity in Turner's degrees is equal to the number of milliliters of 0.1 n alkali solution used to neutralize 100 cm<sup>3</sup> of whey [15].

It is calculated according to the formula (1) No of ml. of 0.1 N NaOH solutions:

% Lactic acid = the amount of 0,1N NaOH used for titration / Weight of sample × 100

i.e. Weight of sample = Volume of whey × specific gravity)

### Study of the microflora

To determine the microflora of whey samples and isolate pure cultures of yeast and lactic acid bacteria, the inoculation was carried out by the Koch method in two repetitions. Dilutions of  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$  and  $10^{-6}$  were selected. Inoculation was performed on solid culture media such as MRS, Sabourand Dextrose Agar and MPA. The cultivation lasted for two days (48 hours) at a temperature of 30 °C. The average values of the number of colonies grown on Petri dishes of two seeding were taken. Identification based on physiological and biochemical characteristics of whey microorganisms were carried out on generally accepted in bacteriological practice methods using determinants [16-18].

### Alcohol resistance test

To determine the resistance of yeast strains to the action of ethanol, nutrient media with the addition of ethyl alcohol were prepared until a concentration from 5 and 20 %. Collection strain *Klyuveromyces marxianus TD7* without alcohol addiction was used as a control. After incubation of the 8 samples for 72 hours, yeast colonies grew in place of the prints of the stamp-replicator. Alcohol resistance of the strains was evaluated by the number and size of the colonies [19].

### Isolation of pure Ethanol Tolerant Yeast colonies and lactic acid bacteria.

Streak plate method. To obtain pure colonies of yeast and bacteria, the depletion streak method was used. Microorganisms were streaked into pre-prepared petri dishes with Sabouraud and MRS media. The cultures were incubated for two days at a temperature of 30°C. Further, a quantitative and qualitative analysis was carried out, as well as microscopy. The finished cultures were transferred into a test tube with an agar medium and kept in a refrigerator until it was used in experiments.

### Identification of LAB with Nucleotide Sequence Analysis

For sequencing, lactic acid bacteria were initially cultured in liquid MRS medium at 37 °C for two days to accumulate cell culture. Lactobacilli were designated LAB1 and lactococci were designated LAB2.

Bacterial DNA was isolated using a special genetic kit PureLink® Genomic DNA Kits (Invitrogen, USA). Using a Qubitfluorimeter (Invitrogen, USA), the DNA concentration in samples was determined using the HS dsDNA scale.

Lactic acid bacteria were identified using special primers 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') and 806R (5'-GGACTACCAGGGGTATCTAAT-3') based on the study of the 16S rRNA gene sequence [20]. The sample for identification consisted of a reaction liquid (30 µl) with the addition of 3 µl of 10-fold reaction buffer (Fermentas), 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM of each deoxyribonucleotide (dNTP), 10 pmol of each primer, 1 unit of Taq polymerase Maxima Hot Start Taq DNA. Polymerase (Fermentas). The polymerase chain reaction was carried out in a MastercyclerproS thermal cycler (Eppendorf).

PCR analysis was started by incubating the mixture at 95 °C for 7 minutes with thirty cycles, which consisted of: 95 °C for 30 seconds, 55 °C for 40 seconds, 72 °C for 1 minute. The final extension of the nucleotide chain was carried out at 72 °C for 10 minutes. Then the amplified initial product was separated in 1.2% agarosegel, stained with ethidium bromide and visualized in INFINITY VX2 gel (manufactured by VILBER LOURMAT, France). In the analysis, 1xTAE electrode buffer was used. The PureLink® PCR Purification Kit was used in the purification process.

DNA fragments of the 16S rRNA gene were sequenced using the BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit based on the manufacturer's protocol [21].

The end products of sequencing, after the action of the BidDye 3.1 terminator, were purified.

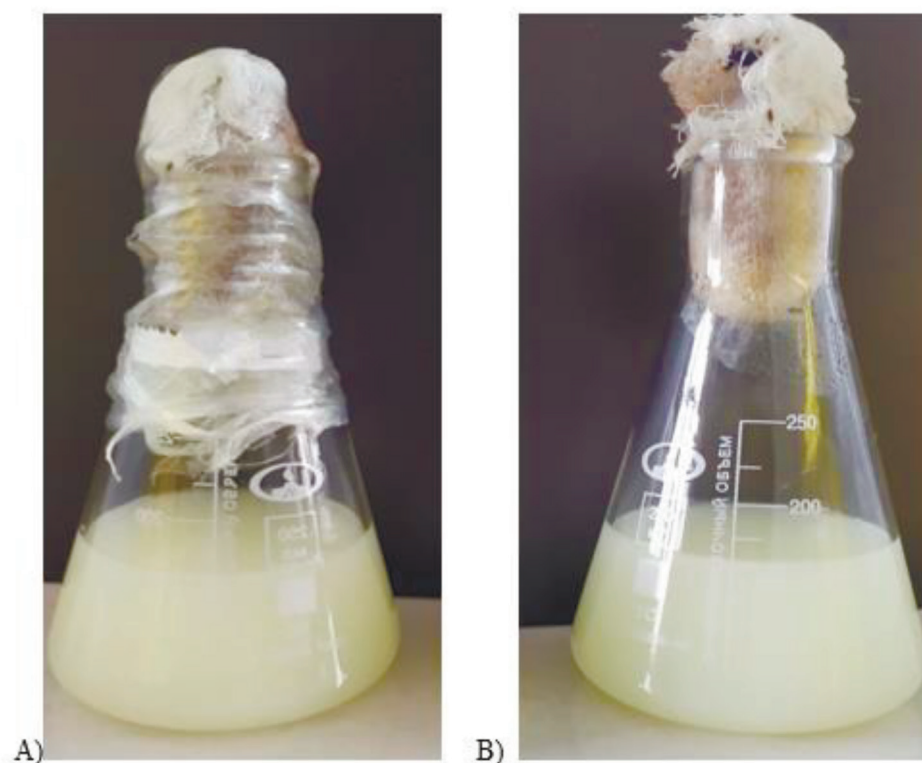
SeqA6 software was used to process the sequencing data. To search for similar nucleotide sequences of 16S rRNA genes, the BLAST database (Basic Local Alignment Search Tool) was used, and the search was also carried out in the Gene Bank International Database of the US National Center for Biotechnology Information [22]. The phylogenetic tree was constructed based on the Neiighbor-Joining (NJ) method.

### 3. Results and discussion

The data in Table 1 indicate the organoleptic characteristics of products of the selected two manufacturers of and cheese whey. Whey samples in terms of organoleptic indicators meet the requirements of the Customs Union [23].

**Table 1-** Organoleptic characteristics

Indicator name	Characteristics	
	Amiran (cottage cheese whey)	Stella Alpina (cheese whey)
Taste and smell	Pure milky taste and milky smell	Salty taste cheesy smell
Appearance and consistency	Homogeneous non-transparent liquid without precipitation	Homogeneous non-transparent liquid without precipitation
Color	Beige	Yellowish or pale green



**Figure 1** – Whey samples from two different manufacturers: A) LLP «Plant of the Kazakh Academy of Nutrition Amiran» dairy plant B) «Stella Alpina» cheese plant.

All indicators of physical and chemical characteristics of whey samples comply with the standards of the Customs Union [24]. According to the results

(Table 2), it can be seen that the amount of sugars prevails in the composition of the whey, which plays an important role in the production of ethanol.

**Table 2** – Physical and chemical indicators

Whey	Indicator						
	Fat %	Protein %	Carbohydrates %	Energy value, ki-localories	Moisture content %	Dry matter (g)	Density kg/m <sup>3</sup>
Amiran (cottage cheese whey)	0.2	0,8	3,2	20 kcal., 83.6 kJ.	92.067	8	1018
Stella Alpina (cheese whey)	0.2	0,8	3,5	20 kcal., 83.6 kJ.	93.001	7	1022

Table 3 shows titratable acidity values at different pH levels. It was found that the initial titratable acidity in the whey from cottage cheese manufacture was 98 T° at pH 5, while the titrat-

able acidity of cheese whey was 19 T° at pH 5.6. Within three days, the titratable acidity of the samples increased, while the pH decreased in both cases.

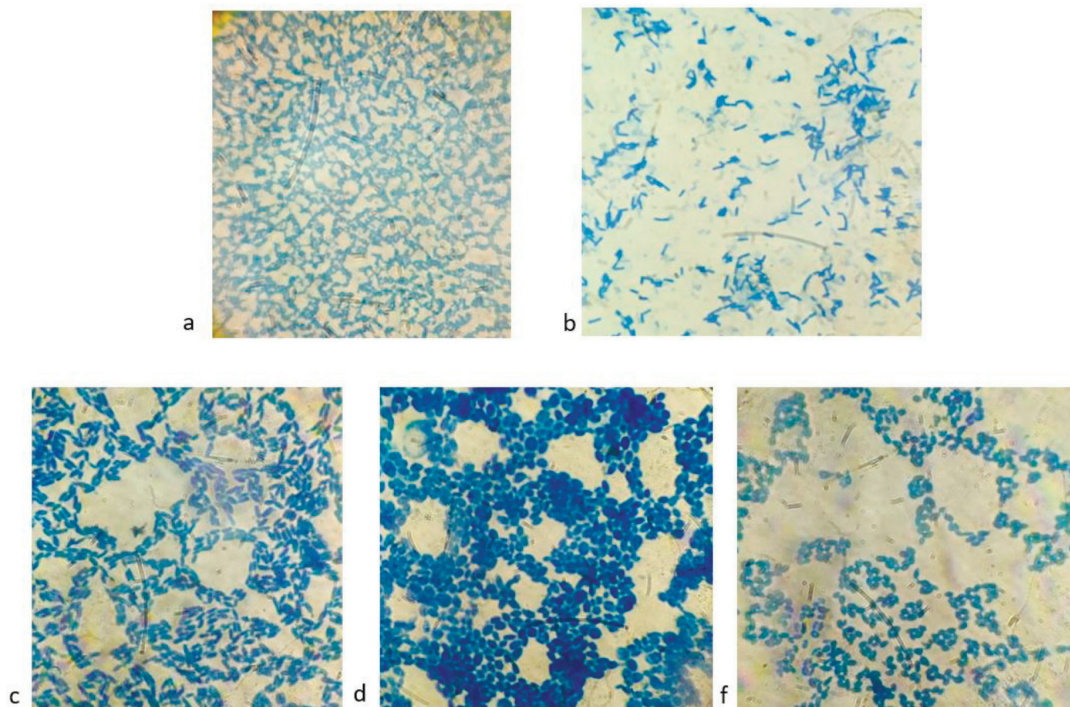
**Table 3** – Titratable acidity and pH of whey

Whey type	Indicators	1 <sup>st</sup> day	2 <sup>nd</sup> day	3 <sup>rd</sup> day
Cottage cheese whey	pH	5	4.8	4.6
	T°	98	100	110
Cheese whey	pH	5.6	5.5	5.3
	T°	19	21	23

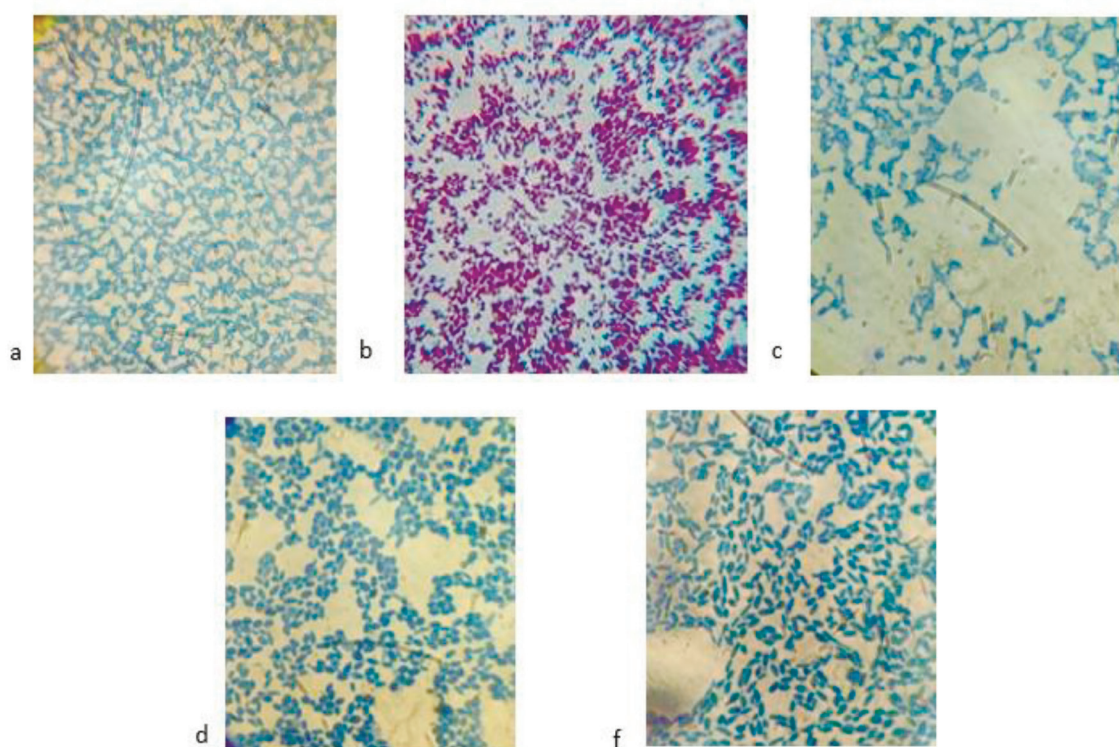
### Study of the microflora

Microbiological analysis of the obtained samples did not reveal the presence of extraneous microflora. The microflora of products is mainly represented by colonies of yeast, mold fungi, lactococci, as well as colonies of lactobacilli. On solid nutrient media of Sabouraud, most yeast cultures grew on Petri dishes as round, large colonies, the relief of colonies with a convex nipple-like white center and a roller along the periphery, the surface is shiny with a gloss, beige or white, pasty or curdled-granular consistency.

Colonies of lactococci grown on MRS medium were varied, mainly punctate colonies: small brown and white round colonies with transparent edges. There are colonies of lactobacilli – round, white, flat, shiny colonies with smooth edges of medium size. The number of live bacteria in 1 dose (0,05 ml) growing on MRS is  $4.1 \times 10^5$  CFU / mg, the number of live bacteria in 1 dose when growing on SDA is  $5 \times 10^5$  CFU / mg, the number of live bacteria in 1 dose when growing on MPA is  $0,8 \times 10^5$  CFU / mg.



**Figure 2** – The composition of microflora cottage cheese whey: Lactic acid bacteria (a, b); Yeasts (c, d and f)



**Figure 3** – The composition of the microflora of cheese whey (Stella Alpina): lactic acid bacteria – a, b) heat fixing b) gram staining; yeast colonies are d and f.

Basically, small colonies of lactic acid bacteria in the form of cocci grew on MRS media. Yeast of various forms grew on agar media of Sabouraud. Yeast cells have a cylindrical, ovoid, rounded, oblong shape with various sizes from 1.5 \* 10 microns to 2.5-30 microns.

#### Ethanol Tolerance Test

The ability to be resistant to various environmental conditions such as ethanol resistance is one of the main criteria for selecting strains for an efficient ethanol yield. It is ethanol resistant strains that are used in the production of ethanol during fermentation, where the high resistance of the strains is very important. To determine the ethanol tolerance,

the strains isolated from the whey were inoculated into TGY medium containing various concentrations of ethanol (5, 7, 9, 10, 12, 14, 16, and 20%).

Table 4 shows the concentration of ethanol added to the growth medium of various strains compared to *Kluveromyces marxianus TD7* as a reference. The results showed that all strains grew at an ethanol concentration of 5, 7, 9, 10%. Above this concentration, growth was observed only in some strains; ethanol acts on yeast cells and therefore we see suppression of yeast growth, decrease in cell volume, and high concentrations kill cells [25]. From different 8 strains of yeasts only 4 strains (Table 4) were tolerant to high ethanol concentrations.

**Table 4** – Ethanol tolerance of the isolated strains.

Ethanol concentration (%)	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	<i>Kluveromyces marxianus TD7</i>
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	-	+	+	+	+	+	+	+	+
14	-	+	-	+	+	+	-	+	+
16	-	-	-	+	+	+	-	+	+
20	-	-	-	+	-	-	-	+	+

**Isolation of pure Ethanol Tolerant Yeast colonies and lactic acid bacteria.**

1) Y4 – the yeast is cylindrical, elongated, about 1.5 \* 12 µm in size – the colonies grew on petri dishes as round, large colonies (4-5 mm), the relief of the colonies with a convex nipple-like white center and a roller along the periphery, the surface is shiny with gloss, white, smooth edges, with a curdled-grainy consistency.

2) Y5- ovoid yeast, in the form of grains about 1.6 \* 10 microns in size – the colonies grew on petri dishes as round, large colonies (4-5 mm), the relief of the colonies with a convex nipple-like white center and a roller along the periphery, the surface is shiny with glossy, white, with smooth edges, curdled-grainy consistency.

4) Y6- round yeast, about 1.8 \* 18 µm in size – the colonies grew on petri dishes as round, medium

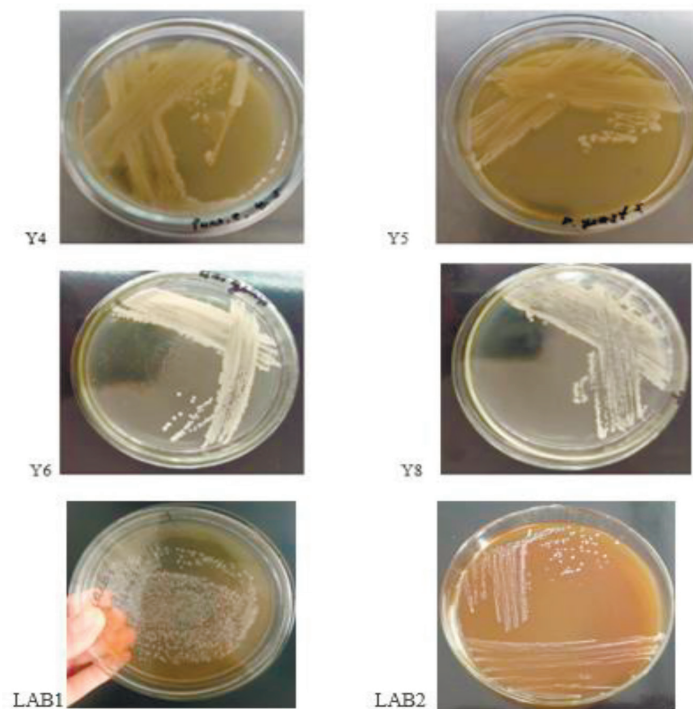
colonies (3 mm), the relief of colonies with a convex top, the surface is matte, pale pink, with smooth edges, pasty consistency.

5) Y8-ovoid yeast, about 1.6 \* 10 microns in size – the colonies grew on petri dishes as round, large colonies (4-5 mm), the relief of colonies with a convex nipple-like white center and a roller along the periphery, the surface is shiny with a gloss, white color, and curdled-grainy consistency.

6) Lactobacilli, rods 1.2 µm long. Colonies are small (1 mm), cream-colored with smooth edges, convex.

7) lactococci colony had medium size (1-2mm), bright white color, was smooth, convex and round shaped.

Yeast cells of the genus *Saccharomyces* of various shapes, usually round, oval or elliptical, while yeast cells of the genus *Schizosaccharomyces* are cylindrical with rounded ends



**Figure 4** – Growth of colonies isolated from whey on SDA and MRS medium



Identification based on phenotypic, physiological and biochemical characteristics of cultures of yeasts and lactic acid bacteria were carried out according to generally accepted in microbiologi-

cal practice methods using determinants [16-18]. Genotypic identification of LAB was performed with using amplification fragment of 16S rRNA gene [26].

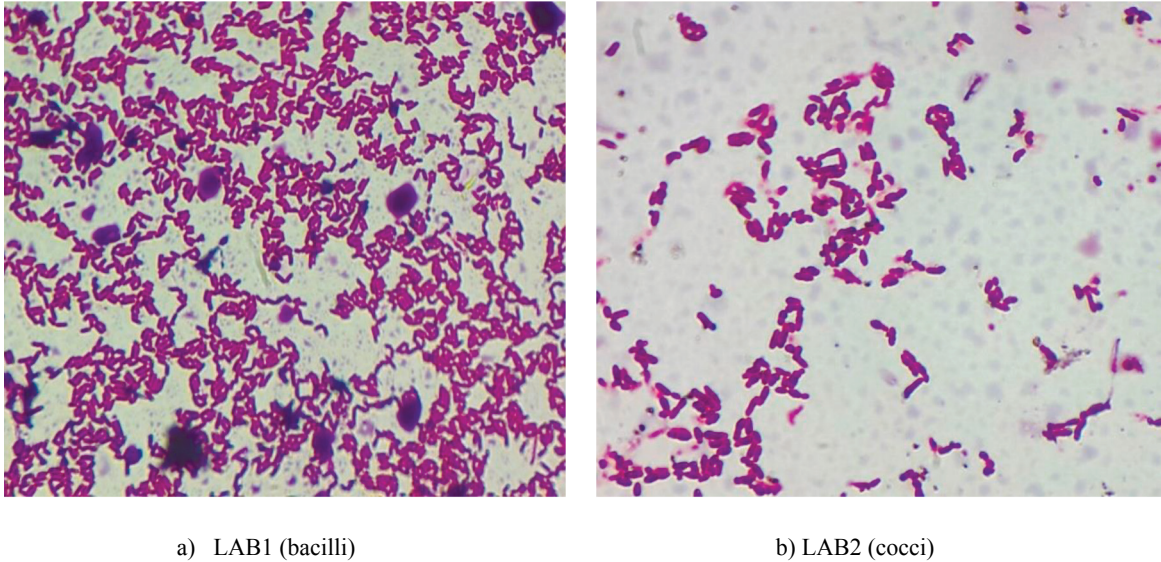


Figure 5 – Microscopic images of chosen bacteria

**Identification of LAB**

Concentration of DNA in the samples were: sample # 1 – 12,8  $\mu\text{g}/\mu\text{I}$ ; # 2 – 2KG – 33,8  $\mu\text{g}/\mu\text{I}$ .

After amplification with special primers for the 16S rRNA the PCR product with a size near 650 bp was obtained, as presented on the Figure 6.

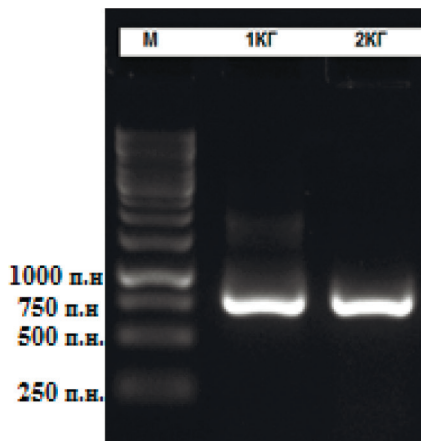


Figure 6 – PCR product obtained after amplification with universal primers

After the purification process sample contain PCR product #1 – 62.6 per  $\mu\text{g}/\mu\text{I}$  and in the sample #2 – 70,26 $\mu\text{g}/\mu\text{I}$ .

The data taken with the 3500 DNA Analyzer for capillary electrophoresis was processed using the SeqA6 software. Ultimately, the following nucleotide sequences were obtained:

The nucleotide sequence of the strain 1:

GAGTTGAGCTCCGGGCTTTCACAT-  
CAGACTTAATAAACCGTCTGCGCTCGCTT-  
TACGCCCAATAAATCCGGATAACGCTC-  
GGACATACGTATTACCGCGGCTGCTG-  
GCACGTATTTAGCCGTCCCTTTCTGGTATG-  
GTACCGTCAAACATAAAATCATTTCCTATTC-  
TAGCTGTTCTTCCCATACAACAGTGCTT-  
TACGACCCGAAAGCCTTCATCACACACGC-  
GGCGTTGCTCCATCAGGCTTTCGCCATT-  
GTGGAAGATTCCCTACTGCAGCCTCCCG-  
TAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAAT-  
GTGGCCGATCAGTCTCTCAACTCGGC-  
TATGCATCATTGTCTTGGTAGGCCTT-  
TACCCACCAACTAACTAATGCACCGC-  
GGATCCATCTCTAGGTGACGCCGAAAC-

GCCTTTTAACTTTGTGTCATGCGACACTA-  
AGTTTTATTTCGGTATTAGCATCTGTTTC-  
CAAATGTTATCCCCAGCCTTGAGGCAGGTT-  
GTCCACGTGTTACTCACCCGTTTCGCCACT-  
CACTTGAAAGGTGCAAGCACCTTTCGCTGT-  
GCGTTCGACTTGCAT

Alignment of nucleotide sequences was carried out to search for homologous nucleotide sequences of 16S rRNA genes using the BLAST program (Basic Local Alignment Search Tool) in the International Gene Bank database of the US National Center for Biotechnology Information, which showed that the strain under study belongs to the *Leuconostocmesenteroides* species (homology is 99%). ) as shown in Figure 6.

The strain was named as *Leuconostoc mesenteroides W1*.

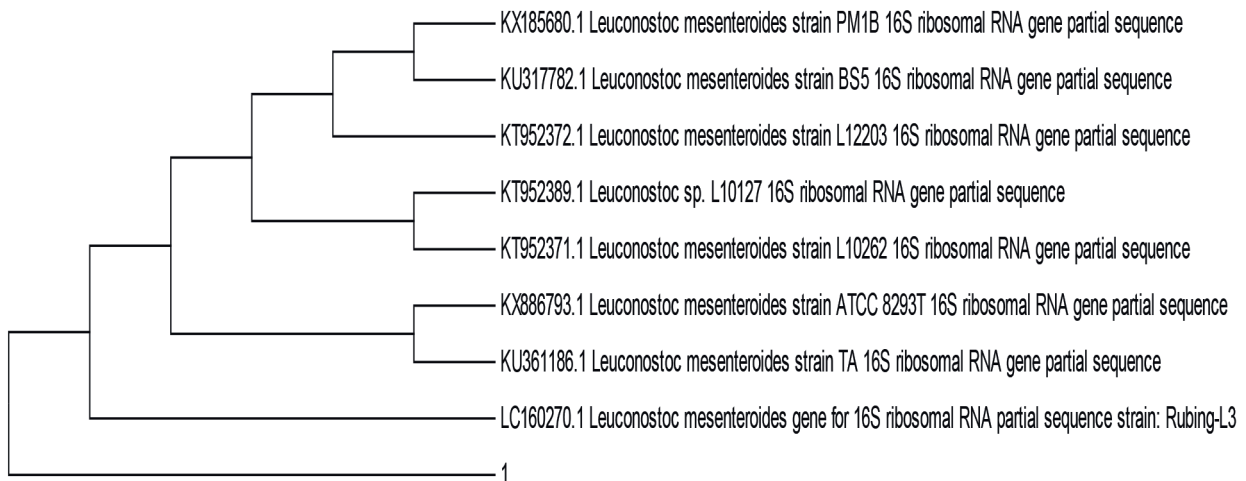


Figure 7 – Microbial cladogram of *Leuconostocmesenteroides W1*

Nucleotide sequence of the strain 2:

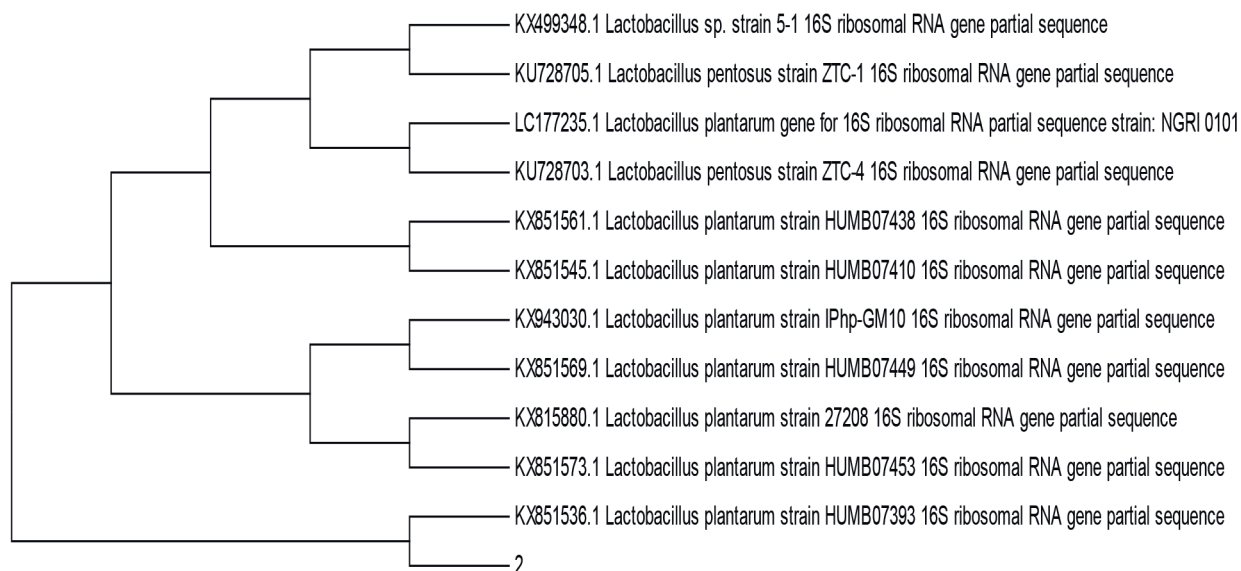
GGGGATAACACCTGGAAACAGAT-  
GCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCG-  
CATGGTCCGAGTTTGAAAGATGGCTTCG-  
GCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCG-  
TATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCT-  
CACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCT-  
GAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACT-  
GAGACACGGCCAACTCCTACGGGAG-  
GCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGAC-  
GAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGT-  
GAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACCTCT-  
GTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAG-  
TAACTGTTCAAGGTATTGACGGTATTTAAC-  
CAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAG-

CAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGC-  
GTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGC-  
GAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGT-  
GAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGT-  
GCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTG-  
CAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGC-  
GGTGAATGCGTAGATATATGGAAGAACAC-  
CAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTA-  
ACTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAG-  
CAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC

Alignment of nucleotide sequences was carried out to search for homologous nucleotide sequences of 16S rRNA genes using the BLAST program (Basic Local Alignment Search Tool) in the International Gene Bank database of the US National Center for Biotechnology

Information, which showed that the strain under study belongs to the *Lactobacillus plantarum* HUMBO7393.

This strain was named as *Lactobacillus plantarum* W1.



**Figure 8** – Microbial cladogram of *Lactobacillus plantarum* W1.

## Conclusion

The research has shown that uniformity of consistency and normal appearance, taste and smell corresponding to whey indicate compliance with all sanitary norms and rules at the stage of whey collection in the LLP «Plant of the Kazakh Academy of Nutrition Amiran» dairy plant and the «Stella Alpina» cheese plant. All physicochemical parameters of whey correspond to the required rules. It indicates that, through the process of fermentation, it will be possible to obtain a good quality ethanol in high yield. Moreover microbiological values within the referencenorms, can be the main moving force to bioconversion of lactose. Since the microflora of both whey is rich in yeast and lactic acid bacteria, which in tandem utilize lactose very well rather than

separately. As a result, 4 different strains of yeasts Y4, Y5, Y6, Y8 were isolated, which are tolerant to the alcohol and 2 lactic acid bacteria strains *Lactobacillus plantarum* W1 and *Leuconostocmesenteroides* W1 which is perspective for further use in ethanol production.

The research work was carried out within the framework of project No. AP09258285 “Production of bioethanol by continuous fermentation of milk whey using immobilized cells of yeasts” funded by the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan.

## Conflict of interest

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

## References

1. Ghanadzadeh, H., & Ghorbanpour, M. Optimization of Ethanol Production from Cheese Whey Fermentation in a Batch-Airlift Bioreactor // J Bioengineer & Biomedical. – 2012. – Vol.2.
2. Drozdova E. A., Popov V. P., Zinyukhin GB, Kasperovich V. L. The problem of rational use of secondary raw materials in the dairy and grain processing industry // Bulletin of the Orenburg State University. – 2013. – P. 99-103.
3. Zohri, Abdel-Naser & Gomah, Nanis & Ali, Maysa. Utilization of Cheese Whey for Bio-ethanol Production // Universal Journal of Microbiology Research. – 2014. – Vol. 2. – P. 57 – 73.

4. Hidzir N.S., Som A.S., Abdullah Z. Ethanol production via direct hydration of ethylene: a review // International conference on global sustainability and chemical engineering (ICGSE). – 2014.
5. Radecka D., Mukherjee V., Mateo R.Q., Stojiljkovic M., Foulquie-Moreno M.R., Thevelein J.M. Looking beyond *Saccharomyces*: the potential of non-conventional yeast species for desirable traits in bioethanol fermentation // *FEMS Yeast Res.* – 2015. – Vol. 15.
6. Rokem J.S., Greenblatt C.L. Making biofuels competitive: the limitations of biology for fuel production // *JSM Microbiol.* – 2015. – Vol.3, No 2. –1023 p.
7. Shrestha, S., Shrestha, F., Rajbhandari, P., Baral, R., & Krishna, S. Enhanced Production of Ethanol from Cheese whey by Agarose and Alginate immobilization of Yeast Cells // *Journal of Nepal Chemical Society.* – 2012. -Vol. 30. – P.159-164.
8. Rogers P.L., Jeon Y.J., Lee K.J., Lawford H.G. *Zymomonas mobilis* for Fuel Ethanol and Higher Value Products // *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology.* – 2007. -Vol. 108.
9. Outinen M., Heino A., Uusi-Rauva J. Pre-treatment methods of Edam cheese milk. Effect on the whey composition // *LWT-Food Science and Technology.* – 2010. -Vol. 43, No 4. – P. 647-654.
10. Blaschek K.M, Wendorff W.L, Rankin S.A. Survey of salty and sweet whey composition from various cheese plants in Wisconsin // *Journal of Dairy Science.* – 2007. -Vol. 90, No 4. – P. 2029-2034.
11. Somda M.K, Savadogo A., Barro N., Thonart P., Traore A.S. Effects of mineral salts in fermentation process using mango residues as carbon source for bioethanol production // *Asian J. Biotechnol.* – 2011. -Vol. 3. – P. 29-38.
12. Kumar, R & Shankar, T. & Kasirajan, Anandapandian. Characterization of alcohol resistant yeast *Saccharomyces cerevisiae* isolated from Toddy // *International Research Journal of Microbiology.* – 2011. -Vol. 2, No 10. – P. 399-405.
13. Horwitz, William, and George L.W. *Official Methods of Analysis of Aoac International* // AOAC International. – 2005.
14. State Standard 3624-92, *Methods for acidity determination of milk and milk products*, P. 3.3.
15. Apostolidis E., Kwon Y. I., Ghaedian R., Shetty K., Fermentation of Milk and Soymilk by *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* Enhances Functionality for Potential Dietary Management of Hyperglycemia and Hypertension // *Food Biotechnology.* – 2005.- Vol.19. -P. 217-237.
16. ГОСТ 10444.11-88: Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов. – М.: Издательство стандартов, 2002. – 14 с.
17. Краткий определитель бактерий Берги / Под ред. Дж. Хоулта. – М.:Мир, 1980. – С. 287-294.
18. Бурьян Н.И. Микробиология виноделия/ Н.И.Бурьян, Л.В.Тюрина. -Ялта, 1979.- 269 с.
19. Werle E., Schneider C., Renner M., Völker M., Fiehn W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing // *Nucleic Acids Res.* – 1994. – Vol. 22. – P. 4354-4355.
20. Kechkar M., Sayed W., Cabrol A., Aziza M., Ahmed Z., T., Amrane A., Djelal H. Isolation and identification of yeast strains from sugarcane molasses, dates and figs for ethanol production under conditions simulating algal hydrolysate // *Brazilian Journal of Chemical Engineering.* – 2019. -Vol. 36, No 1. – P. 157-169.
21. BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit Protocol Applied Biosystems, USA
22. Corsetti A., Valmorri S., Lactic Acid Bacteria. *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus plantarum* // *Encyclopedia of Dairy Sciences.* – 2011. – P. 111-118
23. Technical Regulations of the Customs Union, TR CU 021 / 2011 About food safety amended on August 8, 2019.
24. Matsumoto T, Sugano M. 16S rRNA gene sequence analysis for bacterial identification in the clinical laboratory // *Rinsho Byori.* – 2013. – Vol.61, No 12. -15 p.
25. Birch, R.M. and Walker, G.M. Influence of magnesium ions on heat shock and ethanol stress responses of *Saccharomyces cerevisiae* // *Enzyme Microbiology Technology.* – 2000. -Vol. 26. – P. 678-687.
26. Tikka, C., Osuru, H. P., Atluri, N., Raghavulu, P. C., Yellapu, N. K., Mannur, I. S., Prasad, U. V., Aluru, S., K, N. V., & Bhaskar, M. Isolation and characterization of ethanol tolerant yeast strains // *Bioinformation.* – 2013. – Vol. 9, No 8. – P. 421–425.

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

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

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

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

## ҚҰС ТҰМАУЫ, ҚТВ-НЫҢ ТАРАЛУЫ ЖӘНЕ ТАРАҒАН ОШАҚТАН ЖИНАҚТАЛҒАН ҮЛГІЛЕРДІ ТЕСТ-ЖҮЙЕ ҚҰРАСТЫРУДА ПАЙДАЛАНУ

### Қысқартулар

ЖПҚТ – жоғары патогенді құс тұмауы, ХЭБ – Халықаралық эпизоотиялық бюро, ҚТВ – құс тұмауы вирусы, ДНҚ – дезоксирибонуклеин қышқылы, РНҚ – рибонуклеин қышқылы, КТ-ПТР – кері транскрипциялы полимеразды тізбекті реакция, СҚО – Солтүстік Қазақстан облысы.

Қазіргі күні тұмаудың А вирусының патогенді штамдары бірнеше қауіпті пандемияға ұшыратты және жоғары өлім-жітім көрсеткішін тудырды. Вирустық аурулар оларды жұқтырған құстардың өнімділігінің едәуір төмендеуі мен өліміне әкеп соғатын орны толмас патология тудырады. Құс тұмауы вирусынан құстарды қорғаудың жалғыз жолы – құстардың жабық сыртқы ортадан оқшауланған жағдайда ұстау және вакцина көмегімен қоздырғышқа қарсы құстың иммунитетін қалыптастыру. Бірақ, жоғарыда айтылған вирустық аурулар қоздырғыштарынан қорғанудың көрсетілген мүмкіндіктерінің барына қарамастан, әлемнің көптеген елдерінде, соның ішінде Қазақстан Республикасында да құстар арасындағы эпизоотикалық жағдай шиеленіскен күйде қалуда. Тест-жүйелерді әзірлеу бойынша көптеген жарияланымдар бар, дегенмен ҚТВ геномының өзгергіштігі, мутацияға бейімділігі зертханалық балау кезінде күрделі мәселелер туғызады. Осыған байланысты құс тұмауын жедел балаудың ПТР-тест жүйелері сияқты отандық тиімді әдістерін әзірлеу өте маңызды. Осылайша, елге инфекцияның таралуына жол бермеу үшін ветеринариялық-санитариялық және арнайы ветеринариялық іс-шаралар кешенін одан әрі күшейтуге аса қажетті бірден бір экспресс әдіс болып табылады. Осы мақсатта ҚТВ анықтауға арналған спецификалық олигонуклеотидті праймерлерді таңдау және жобалау жүргізілуде, сонымен қатар жобаланған праймерлер мен үлгілерді валидациялау үшін СҚО 30-дан астам үлгілер таңдалды.

**Түйін сөздер:** құс тұмауы вирусы, КТ-ПТР, үй құстары, тест-жүйе, ЖПҚТ.

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

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

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

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

### Avian influenza, spreading of the AIV and development of test-systems using samples collected from foci points

#### Abbreviations

HPAI – highly pathogenic avian influenza, OIE – International Epizootic Bureau, DNA – deoxyribonucleic acid, RNA – ribonucleic acid, RT-PCR – reverse transcription polymerase chain reaction.

To date, pathogenic strains of the influenza A virus have caused several dangerous pandemics and caused high mortality. Viral diseases cause irreversible pathology, which leads to a significant decrease in productivity and death of the infected bird. The only way to protect birds from the avian influenza virus is to keep birds in isolation and develop immunity in birds to the pathogen through vaccines. However, despite the above possibilities of protection against the above-mentioned viral pathogens, the epizootic situation among birds in many countries, including the Republic of Kazakhstan, remains tense. There are many publications on the development of test systems, but the variability of the AIV genome

and its susceptibility to mutations creates serious problems in laboratory evaluation. In this regard, the development of effective domestic methods for the rapid diagnosis of avian influenza, such as PCR test systems, is relevant. Thus, this is the only express method necessary to further strengthen the complex of veterinary-sanitary and special veterinary measures to prevent the spread of infection in the country. For this purpose, more than 30 samples were selected in the North Kazakhstan region for the selection and design of specific oligonucleotide primers for the detection of AIV.

**Key words:** avian influenza virus (AIV), RT-PCR, domestic chickens, test-system, HPAI, North Kazakhstan region.

<sup>1,2</sup>Б.Т. Байкара\*, <sup>1</sup>М.А. Садуақасова, <sup>1</sup>Ж.С. Жусупбеков,  
<sup>1</sup>К.С. Бегасыл, <sup>1</sup>А.А. Сұлтанов

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

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

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

### **Грипп птиц, распространение ВГП и разработка тест-систем с использованием образцов, собранных из очагов**

#### **Сокращения и обозначения**

ВППГ – высокопатогенный птичий грипп, МЭБ – Международное эпизоотическое бюро, ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота, РНК – рибонуклеиновая кислота, ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

На сегодняшний день патогенные штаммы вируса гриппа А вызвали несколько опасных пандемий и стали причиной высокой смертности. Вирусные заболевания вызывают необратимую патологию, что приводит к значительному снижению продуктивности и гибели зараженной птицы. Единственным способом защиты птиц от вируса птичьего гриппа является содержание птиц в изоляции и выработка у птиц иммунитета к возбудителю с помощью вакцин. Однако, несмотря на указанные выше возможности защиты от вышеназванных вирусных возбудителей, эпизоотическая ситуация среди птиц во многих странах, в том числе и в Республике Казахстан, остается напряженной. Имеется много публикаций по разработке тест-систем, но изменчивость генома ВГП и его подверженность мутациям, создает серьезные проблемы при лабораторной оценке. В связи с этим актуальна разработка эффективных отечественных методов экспресс-диагностики птичьего гриппа, таких как ПЦР тест-системы. Таким образом, это единственный экспресс-метод, необходимый для дальнейшего усиления комплекса ветеринарно-санитарных и специальных ветеринарных мероприятий по предупреждению распространения инфекции в стране. С этой целью отобрано более 30 образцов в Северо-Казахстанской области для подбора и дизайна специфических олигонуклеотидных праймеров для выявления ВГП.

**Ключевые слова:** вирус гриппа птиц (ВГП), ОТ-ПЦР, домашние куры, тест-система, ВППГ, Северо-Казахстанская область.

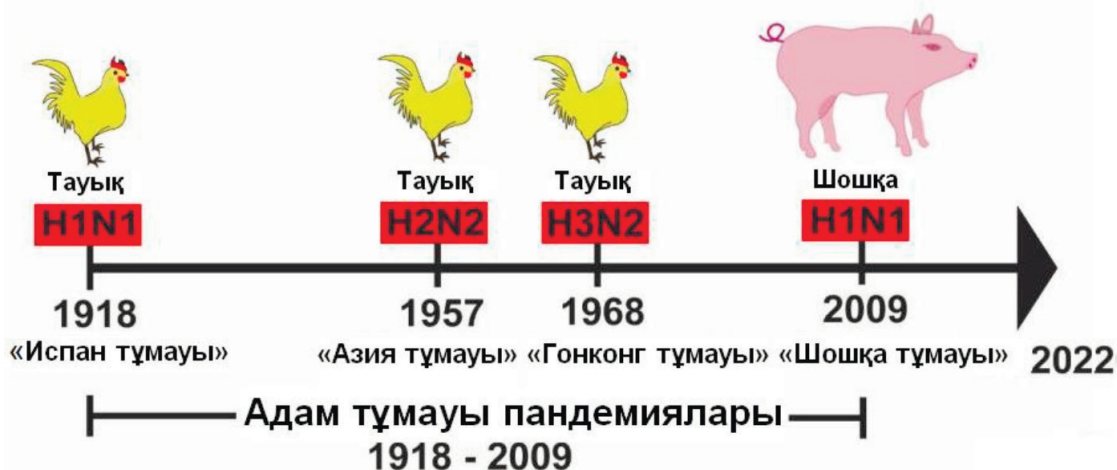
#### **Кіріспе**

Тұмау вирусы Orthomyxoviridae тұқымдасының өкілдері болып табылады және қожайынының көптігімен ерекшеленеді [1, 2]. Шошқаның физиологиялық ерекшелігінің арқасында тұмау вирусы үшін ол «қоспалауыш құты» болып саналады [3]. Шошқа тұмауы вирусының төрт типі белгілі, атап айтқанда, тұмаудың А вирусы, тұмаудың В вирусы, тұмаудың С вирусы және тұмаудың D вирусы. Тұмаудың А және В вирусының геномы бір тізбекті кері мәнді РНҚ сегіз гендік сегментінен тұрады, ал тұмаудың С және D вирустары жеті гендік сегментінен тұрады [4]. Тұмаудың А және В вирусының сегіз гендік сегменті бар, PB2 (полимераза), PB1 (патогенділікке жау-

ап беретін белок), PA, HA (гемагглютинин), NP (нуклеопротеин), NA (нейраминидаза), M (мембраналық-құрылымдық белок), and NS (интерферонның синтезіне кедергі), олардың арасында HA мен NA ең маңыздысы болып табылады және осы вирустардың патогенділігі үшін шешуші рөл атқарады. HA гені вирус бөлшегінің рецептор-қожайынға жабысуын реттейді, ал NA гені вирус ұрпағының қожайын-клеткаға кіруін реттейді. Шошқаның екі немесе одан да көп тұмаудың А вирусы штамдарымен коинфицирленуі рекомбинацияны туындатуы мүмкін [5], ол өз кезегінде, тұмау вирусының жаңа штамдарының пайда болуына ықпал ете алады [6]. Қате жасауға бейім РНҚ-полимераза арқасында пайда болған, репликация кезінде түзету мен жөндеу мүмкіндігі жоқ нүктелік

мутациялар да тұмау вирусының генетикалық алуан-түрлілігін толықтырып отыруы мүмкін [7]. Реассортация механизмдері мен нүктелік мутациялар HA мен NA гендерінде «антигендік қозғалыс» пен «антигендік жылжуға» әкеп соғуы мүмкін, сәйкесінше, ол тұмау вирусының жаңа подтиптері мен линияларының пайда болуына ықпал етеді [8, 9]. М гені матриксті де, мембраналық та белоктарды кодтайды және көптеген қызмет атқарады (мысалы, вирустық бөлшектердің түзілуіне, қожайынның иммундық жүйесімен танылады). М гені (1027 жұп нуклеотидтен тұрады) екі белокты, атап айтқанда М1 мен М2 кодтайды [10].

Қазіргі күні тұмаудың А вирусының патогенді штаммдары бірнеше қауіпті пандемияға ұшыратты және жоғары өлім-жітім көрсеткішін тудырды, мысалы, 1918, 1957, 1968 және 2009 жылғы пандемиялар [11]. Тарихтағы бірінші тұмау пандемиясы (испандық тұмау) 1918 жылы адамзат популяциясына зиян келтірді [12] және әлемде шамамен 50 миллион адамның өмірін алып кетті [13]. 1918 жылғы тұмау пандемиясы рекомбинация негізінде пайда болды, ол кезде адамның H1 вирусы ішкі белоктар генімен бірге құстың N1 нерамининадасын иеленіп, қазіргі кезде «классикалық H1N1» деп атайтын вирусқа айналды [14] (сур. 1).

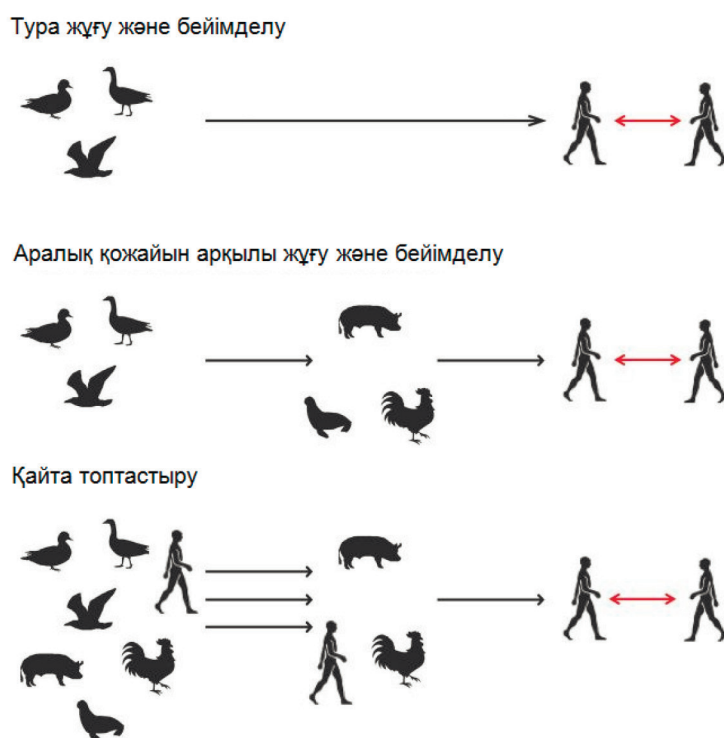


**1-сурет** – 1918 жыл мен 2022 жылғы наурыз мерзімі аралығындағы адам тұмауының төрт пандемиясы ұсынылған хронология. «Испандық» деген атпен танылған бірінші тұмау пандемиясы тауықтарда 1918 жылы пайда болды. Екінші тұмау пандемиясы (азия тұмауы) мен үшінші тұмау пандемиясы (гонконг тұмауы) тауықтарда, сәйкесінше, 1957 және 1968 жылдары тіркелді. «Шошқа тұмауы» деген атпен белгілі, тұмаудың ең соңғы пандемиясы 2009 жылдың наурызы мен мамыр айы аралығында Мексикада шошқалар арасында пайда болды [3].

Тұмаудың екінші пандемиясы (азия тұмауы) 1957 жылы пайда болып, шамамен екі миллиард адамның өмірін жалмады және H2N2 вирусымен байланысты болды [15]. Үшінші тұмау пандемиясы 1968 жылы H3N2 өршуімен (Гонконг тұмауы) адам популяциясына зиянын тигізіп, шамамен екі миллиард адамды өлімге душар етті [15, 16]. Ең соңғы тұмау пандемиясы (шошқа тұмауы) 2009 жылы наурыз бен мамыр

аралығында Мексикада шошқаларда пайда болып, әлемде шамамен 575 мың адамның өмірін қиды. Шошқа тұмауы «A(H1N1)pdm09» атына ие болған, пандемикалық H1N1 реассортантты вирустың арқасында туындады [17].

Құс тұмауы вирусы (КТВ) әдетте адамға жұқпайды, бірақ 1997 жылдан бері көптеген, әдетте, адамға вирустың H5, H6, H7, H9 бен H10 подтиптері жұққан ауыр жағдайлар тіркелген [18, 19].



**2-сурет** – Тұмау вирусының мүмкін жұғу жолдары мен бейімделуі. Көптеген жағдайларда тұмау вирусының алғашқы көзінен адамнан адамға жұғуы мен ауа-тамшылы жолмен жұғуы үшін әрі қарай бейімделуіне ықпал етуі мүмкін: (i) суда жүзетін құстардан адамға тікелей жұғуы мен одан әрі адамға бейімделуі; (ii) суда жүзетін құстардан аралық қожайынға жұғуы және осы қожайынға бейімделіп, одан әрі адамға жұғуы; және (iii) әр түрлі жануарлар түрінен шығатын және адамға жұғатын тұмау вирусының аралық қожайынына рекомбинациялануы [20]

ҚТВ жабайы суда жүзетін құстардан адамға тікелей зоонозды жұғуы жайлы хабарламалар, болжаммен адамның жабайы құстар нәжістерімен байланысы шектелгендіктен сирек жасалынды. Жабайы құстармен тығыз байланыс зоонозды жағдайлармен байланысты болған бірнеше жағдайларды ескермегенде, мысалы, аңшылық кезінде немесе [21] шошқа мен үй құстары сияқты адамдар жиі байланысатын аралық түрлер арқылы зоонозды тұмау вирусын жұқтыруы жиі кездескен (сур. 2). Адамдардың зоонозды вирустарды жұқтырған жағдайлардың басым көпшілігі адамдар арасындағы тұрақты жұғу белгілерінсіз, кездейсоқ орын алған. Жұғу адам жануармен тығыз байланыста болған уақытта тіркелген, мысалы, тірі жануарлар базары немесе жәрмеңкелерін аралағанда, жануарларды баптау кезінде, етті өндегенде, ауру жұқтырған жануарларды жойғанда немесе ауру жануарды сою жүргізу кезінде.

Вирустық аурулар оларды жұқтырған құстардың өнімділігінің едәуір төмендеуі мен

өліміне әкеп соғатын орны толмас патология тудырады [22]. Осы аурулардың қоздырғышына қарсы арнайы емдеу құралдары мен тиімді жақсартулар ветеринария практикасында жоқ. Жоғарыда айтылған аурулардан құстарды қорғаудың жалғыз жолы – құстардың жабық сыртқы ортадан оқшауланған жағдайда ұстау және вакцина көмегімен қоздырғышқа қарсы құстың иммунитетін (қарсы тұра алушылығын) қалыптастыру арқылы ауру қабылдағыш құстың ағзасына олардың қоздырғышын ендіруді алдын-алу болып табылады. Бірақ, жоғарыда айтылған вирустық аурулар қоздырғыштарынан қорғанудың көрсетілген мүмкіндіктерінің барына қарамастан, әлемнің көптеген елдерінде, соның ішінде Қазақстан Республикасында да құстар арасындағы эпизоотикалық жағдай шиеленіскен күйде қалуда, және оқтын-оқтын инфекциялық вирустық аурулардың ошағы пайда болуда [23]. Қолайсыз эпизоотикалық жағдайдың туындауына жемнің ауру қоздырғыштарымен ластануы, үй құстарының ауру қоздырғышын тасушы бо-



лып табылатын синантропты құс түрлерімен байланысуы, сонымен қатар иммунитеттің болмауы немесе вакцина салынған соң түзілетін иммунитеттің жеткіліксіз ширалмағандығы ықпал етеді [24, 25].

Қазақстан Республикасында жабайы құстардың арасындағы ҚТВ өршуі Маңғыстау, Атырау, Ақмола, Солтүстік-Қазақстан (СҚО), Қостанай және Павлодар облыстарында 2005-2020 жылдар аралығында тіркелген болатын. ҚТВ кейбір подтиптері зоонозды болуы мүмкін және сондықтан да Қазақстанның құс шаруашылығына елеулі қауіп төндіріп отыр [26]. Сонымен қатар, құс тұмауының біздің елімізге шекаралас жатқан, іргелес елдерден ену қаупі бар. Осыған байланысты шекаралас Қытай, Қырғызстан, Өзбекстан, Монғолия мен Ресей елдердегі құс тұмауы бойынша эпизоотикалық жағдай жайлы мәліметтерден хабардар болып отыру керек. Халықаралық эпизоотикалық бюроның (ХЭБ) есебіне сәйкес 2020 жылдың қаңтары мен мамыр айы аралығында Қытайда құс тұмауының жаңа ауру ошақтары (үй құстарының және құс фабрикаларындағы құстар арасында 30 астам ауру ошағы (H5N1, H5N2 және H5N5)), Иракта үй құстарының арасында 1 жаңа ауру ошағы (H5N8) және Вьетнамда үй құстары арасында 5 жаңа ауру ошағы (H5N1, H5N6) жайлы хабарланды. 2020 жылдың тамыз айында Ресей үй құстарының арасында ҚТВ 28 ауру ошағы мен құс шаруашылығына жатпайтын саладағы 1 ауру ошағы (H5) жайлы хабарлады. Ал 2020 жылдың қыргүйек-қазан айларында Қазақстанның Ресеймен шекарасына іргелес жатқан 4 облысында, Ақмола, Солтүстік-Қазақстан, Қостанай және Парлодарда үй құстары, құс фабрикалары мен жабайы құстар арасында жоғары патогенді құс тұмауы ауруының өршуі және жалпы 11 ауру ошағы (H5N8) тіркелді [27]. Осы ауру ошақтарының таралуының себебі үй құстарының жабайы құстармен байланысуы және одан әрі жергілікті жұғуы болуы мүмкін.

Әдетте, антигенді немесе молекулалаық скрининг алдымен ҚТВ типін (А немесе В) анықтау үшін пайдаланылады. Кейін нақты подтипті екі вирустық беттік гликопротеиндер, НА мен НА серологиялық реактивтілігі негізінде, немесе осы екі белокты кодтайтын гендердің молекулалық сипаттамасы негізінде анықтайды. Жабайы суда жүзетін құстар тұмаудың А вирусының табиғи көзі болып саналады және бұл құстарда А тұмауының барлық

НА және NA подтиптері тіркелген. Қазіргі кезде А тұмауы подтипінің тек екеуі (H1N1 и H3N2) ғана адамдар арасында қайталанатын мерзімдік тұмау эпидемиясын туындатып, адамдарда таралған немесе анықталған [28].

Жоғары патогенді құс тұмауы (ЖПКТ) вирусы Еуразия, Таяу Шығыс пен Африкада құс шаруашылығы мен сауда-саттық қауіпсіздік саласына қауіп төндіруде [29]. 2008 жылдан бастап H5Nx клады гентикалық және антигенді ауқымды бірқатар изоляттар түзіп, үздіксіз дамып отырды [30]. 2020 жылдың мамыр айында Ирак Республикасында, 2020 жылдың шілде мен тамыз айында Ресейде, 2020 жылы қыргүйекте Қазақстанда және 2020 жылдың басында үй құстарынан H5N8 вирусының таралуы анықтағанға дейін 2020 жылдың басында Еуропаның құс шаруашылығы саласында H5N8 кіші-гірім таралу ошақтары тіркелген болатын.

2020 жылдың мамыр айында Ирак Республикасы H5N8 вирусының үй құстарында таралғанын хабарлады, бұл елде ауру ошақтары бір жылдан астам тіркелмеген болатын. 2020 жылдың шілде айының аяғындағы Ирактағы ауру тұтануынан кейін Ресейдің оңтүстік-орталық бөлігіндегі Челябинск облысында H5N8 вирусының таралу жағдайы тіркелген болатын, және ол үй тауықтарын, қаздар мен үйректерді қамтыды. Үй құстарының жабайы құстармен байланысуы ауру таралуының ең мүмкін жолы болып көрсетілді [32]. Тамыздан қыркүйек айына дейінгі аралықта Тюмень, Омск және Курганда барлығы 11 жағдай сипатталды.

Ресейде H5 анықталуымен параллель Қазақстанның солтүстік-орталық аумағында, Қостанай, Ақмола мен Павлодар облыстарын қосқанда, үй құс шаруашылығында құс тұмауының таралу жағдайлары тіркелді. Құстар тобын жою, бақылау және вакцинациялау аймақта бір уақытта жүргізілді. Ветеринария бойынша ұлттық референттік орталық ұсынған үлгілер негізінде вирустық нуклеин қышқылының анықталуына диагностикалық сұрыптауға ұшыратылды.

### Материалдар мен зерттеу әдістері

Зерттеуде пайдаланылған үлгілер Қазақстан Республикасында 2020 жылы қыргүйек пен қазан айларында жоғары патогенді ҚТВ таралған уақытта СҚО, ауру үй және ҚФ жинақталған патологиялық материал (құстардың асқазаны,

бауыры мен жүрегі). Зерттеуле қолданылған үлгілер мен дәл осы мезеттегі полимеразалық тізбектік реакция (ПТР) әдісінің нәтижелері 1

кестеде көрсетілген. Келтірілген ақпарат үлгілер жинақталған елді-мекен мен құстардың түрін көрсетеді.

**1-Кесте** – 2020 жылы СҚО үй мен ҚФ құстарынан жинақталған патологиялық материалдардың алынған орны мен құстар түрі және ҚТВ ПТР әдісімен анықтау нәтижесі

№р/р	Аудан	Елді мекен	Жиналған күні	Құс түрі	М ген (сг мәні)
1	Есіл	Явленка	22.09.2020	қаз	42,16
2	Есіл	Бұлақ	22.09.2020	тауық	34,63
3	Ақжар	Қазан	19.09.2020	тауық	No Ct
4	Айыртау	Ағымтай батыр	22.09.2020	қаз	34,3
5	Есіл	Таранкөл	19.09.2020	қаз	25,71
6	М. Жұмабаев	Куломзино	20.09.2020	қораз	40,31
7	М. Жұмабаев	Булаев қ.	20.09.2020	қаз	32,56
8	М. Жұмабаев	Қарақоға	20.09.2020	тауық	27,27
9	Мамлют	Мамлют қ.	21.09.2020	қаз	32,36
10	Тимирязев	Ақжан	22.09.2020	үйрек	31,15
11	Тимирязев	Дзержинск	22.09.2020	қаз	24,97
12	Мүсірепов қ.	Рагульное	24.09.2020	үйрек	21,18
13	Айыртау	Егіндіағаш	26.09.2020	қаз	28,19
14	Аққайың	Тоқуш	26.09.2020	тауық	26,5
15	Мамлют	Новомихайловка	25.09.2020	қаз	21,97
16	Қызылжар	Бескөл, ҚФ	19.09.2020	қаз	21,2
17	Қызылжар	Якорь а., "Фирма Алекри" ЖШС ҚФ	19.09.2020	тауық	38,81
18	Қызылжар	Пресновка	17.09.2020	түйе тауық	No Ct
19	Қызылжар	Архангельское	17.09.2020	қаз	26,07
20	Қызылжар	Красный Яр	17.09.2020	қаз	35,4
21	Тимирязев	Белоградovка	17.09.2020	тауық	41,31
22	Айыртау	Қарақамыс	17.09.2020	тауық	28,94
23	Жамбыл	Екатериновка	17.09.2020	қаз	27,69
24	Тимирязев	Тимирязев	14-15.09.20	үйрек	35,34
25	Шал Ақын	Сухорабовка	14-15.09.20	түйе тауық	38,47
26	Мүсірепов қ.	Шұқыркөл	14-15.09.20	қаз	28,98
27	Мүсірепов қ.	Чернобаевка	14-15.09.20	қаз	No Ct
28	Жамбыл	Новорыбинка	14-15.09.20	қаз	No Ct
29	Тайыншы	Алабота	14-15.09.20	қаз	40,11
30	Тимирязев	Тимирязев	14-15.09.20	қаз	33,58
31	Тимирязев	Тимирязев	14-15.09.20	үйрек	37,19
32	Тимирязев	Тимирязев	14-15.09.20	қаз	38,95
33	М. Жұмабаев		14-15.09.20	қаз	No Ct
<b>Барлығы</b>				<b>33</b>	<b>28</b>

## 2.2 Вирустық РНҚ бөліп алу

Вирустық РНҚ бөліп алуды ғылыми зерттеулерге арналған QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, АҚШ) жиынтығын өндіруші хаттамасына сай пайдалана отырып жүргізілді.

## 2.3 КТ-ПТР реакция

РНҚ матрицасында қДНҚ алғаннан кейін, қДНҚ аймақтарын амплификациялау (ПТР)

жүргізілді және амплификация фрагменттерін детекциялау гибридизация-флуоресценциялы форматында іске асырылды. Кері транскрипциялы полимеразалық тізбектік реакцияны (КТ-ПТР) қою үшін 3 праймерді (М ген Sep (тура) – AGA TGAGTCTTCTAACCAGGTCG, Sep2 (кері) – TGCAAAAACATCTTCAAGTCTCTG, SePRO (зонд) – FAM-5'-TCAGGCCCCCTCAAAGCCGA-3'-TAMRA

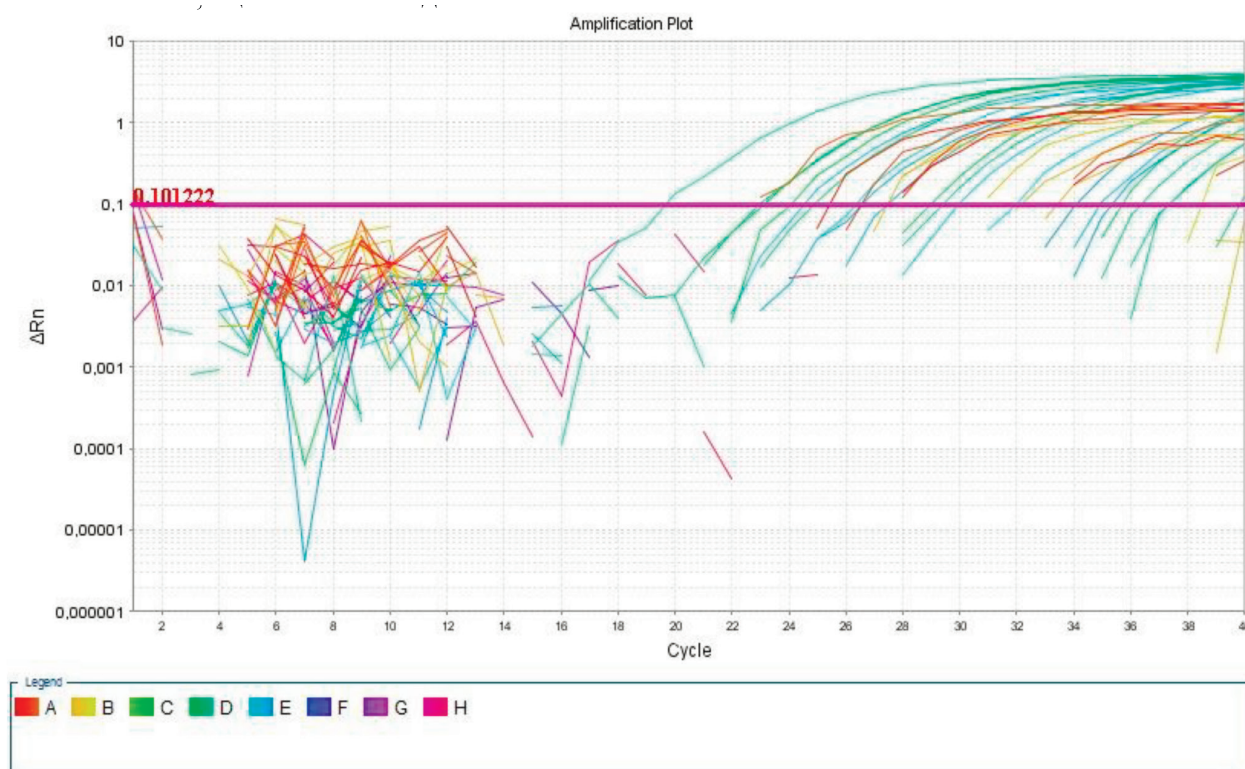
[33]) OneStep RT-PCR Kit (Qiagen, АҚШ) жиынтығын пайдаланып жүргізілді.

кДНК амплификациялауға арналған ПЦР-қоспа келесі компоненттерден тұрады: Тақ ДНК полимераза – 0,25 мкл (5 бірлік/мкл); 10x ПТР-буфер – 2,5 мкл; арнайы праймерлер (20 пМ) тура және кері праймер – әрқайсысы 1 мкл; дНТФ қоспасы (10 мМ) – 1 мкл; 25 мМ магний хлоридінің ерітіндісі – 2 мкл; ДНҚ – 3 мкл. Деиондалған су – 14,25 мкл. КТ-ПТР арналған температура-уақыттық тәртібі келесі бағдарламаға сай жүргізілді: 50°C – 30 мин, 95°C – 15 мин, 40 цикл: 95°C – 10 сек, 60°C – 30 сек, 72°C – 15 сек. Амплификацияны Real Time 7500, Applied Biosystems (АҚШ) амплификаторында жүргізілді.

### Зерттеу нәтижелері мен оларды талқылау

ПТР нәтижесінде вирустық жүктемені анықтау маңызды болып табылады. Вирустық

жүктеме – 1 мл биоматериалда вирустың қанша мөлшері барын анықтайды. Вирустық жүктемені шартты анықтау үшін талдау нәтижесінде Ct (cycle threshold) ретінде көрсетілетін “шекті цикл” көрсеткішін пайдаланады. Ол вирус анықталған шекті цикл болып табылады. Сәйкесінше, үлгіде вирус бөлшектері көп болған сайын, тест-жүйе оны соншалықты жылдамырақ анықтайды. Зерттеу нәтижесінде Ct-мәні 21 циклдан бастап анықталынған (сурет 3). Барлық үлгілер дәл осы уақыттағы КТ-ПТР қою нәтижесінде үлгілердің басым көпшілігінде анықталды. Тек ғана 18, 28 бен 33 үлгілер М-ген бойынша теріс нәтиже көрсетті. Сонымен жалпы Солтүстік-Қазақстан облысынан құс тұмауы аруры жаппай таралған уақытта жинақталған 33 үлгінің ішінде М-ген бойынша 85%, оң нәтиже алынды.



3-сурет – Зерттелініп отырған 33 РНҚ үлгісіне құс тұмауы вирусының М-гені бойынша қойылған КТ-ПТР нәтижелері

Әрі қарай Сенгер бойынша секвенирлеу нәтижесінде жоғары патогенді құс тұмауы екені анықталды, яғни Қазақстандағы құс тұмауы

ошағынан алынған үлгілердің толық геномының генетикалық талдауы барлық сегмент бойынша Иракта тіркелген H5N8 вирусына өте ұқсас бол-

ды, ол арғы-текті штаммның ұзын тармағымен байланысқан, осы ирандық кластердің ішіндегі қысқа ұзындықты тармаққа сәйкестігін дәлелдейді [31].

Жоғары патогенді құс тұмауының А типінің эволюциясы пандемияға әкелуі мүмкін. Осыған байланысты құс тұмауын жедел балаудың тиімді әдістерін әзірлеу ғылыми зерттеулердің өзекті тақырыбы болып табылады.

Құс тұмауының геномын анықтау, яғни ЖПҚТ әлде төменгі патогенді құс тұмауы (ТПҚТ) екенін анықтаудың негізгі әдісі (ұзақ уақытты қажет ететін) – бұл секвенирлеу.

Тест-жүйелерді әзірлеу бойынша көптеген жарияланымдар бар, дегенмен ҚТВ геномының өзгергіштігі, мутацияға бейімділігі зертханалық балау кезінде күрделі мәселелер туғызады, бұл сынақтың сезімталдығы мен спецификасы төмен болғандықтан жалған-теріс нәтижелерге әкеп соғады. Осыған байланысты құс тұмауын жедел балаудың ПТР-тест жүйелері сияқты отандық тиімді әдістерін әзірлеу өте маңызды.

КТ-ПТР – тұмау түрлері мен қосалқы түрлерін ажыратуға көмектесетін сезімтал және ерекше тест-жүйе. Бұл тест-жүйені қолдану арқылы сараптауды жылдам жүргізуге болады, оның нәтижелері секвенирлерді пайдаланбай-ақ ЖПҚТ әрі H5 штаммын анықтауға мүмкіндік береді.

Осылайша, елге инфекцияның таралуына жол бермеу үшін ветеринариялық-санитариялық және арнайы ветеринариялық іс-шаралар кешенін одан әрі күшейтуге аса қажетті бірден бір экспресс әдіс болып табылады.

Осы мақсатта ҚТВ анықтауға арналған спецификалық олигонуклеотидті праймерлерді таңдау және жобалау жүргізілуде, сонымен қатар жобаланған праймерлер мен үлгілерді валидациялау үшін СҚО 30-дан астам үлгілер таңдалды.

### **Қорытынды**

2020 жылы СҚО құс тұмауы вирусы ауруы жаппай таралған уақытта жинақталған үлгілерді КТ-ПТР әдісімен зерттеу барысында, олардың көп бөлігінің, шамамен 85% оң нәтиже алынды, яғни ЖПҚТ таралуы дәлелденді. Одан әрі қарай оң нәтиже алынған үлгілерді секвенирлеу мен филогенетикалық ағаш құру жұмыстары

Ұлыбританияның Вейбридж қаласында орналасқан Өсімдіктер мен жануарларды қорғау агенттігінде бірлесіп орындалды [31].

Құс тұмауы бойынша келтірілген ақпарат әлемдегі және Қазақстан Республикасымен тығыз экономикалық және туристік байланысы бар елдердегі осы ауру бойынша эпизоотикалық жағдай шиеленіскен. Аурудың қандай да бір елге, соның ішінде Қазақстан Республикасына ену мүмкіндігі жоғары және болжау мүмкін емес. Сондықтан ауру қоздырғышының елге енуін алдын-алу мақсатында, елімізде таралған ҚТВ штаммдарына жылдам әрі арзан анықтауға мүмкіндік беретін диагностикалық тест-жүйелерді құрастыру өзекті мәселе болып отыр. Сонымен қатар вакцина салынған популяция ішінде вирустың ұзақ уақыт аралығында таралуы вирусты антигендік те, генетикалық та өзгерістерге ұшыратуы мүмкін. Вирус подтиптерінің саны көп болғандықтан А тұмауы вирусына қарсы инактивтелген вакциналарды алуға арналған штаммдарды таңдау кезінде көптеген мәселелер туындайды. Айта кететін мәселе, кейбір штаммдар қымбат концентрендірусіз айтарлықтай мықты вакцина алу үшін вирустар жеткілікті жоғары титрде өспейді.

### **Мүдделер қақтығысы**

Барлық авторлар мақаланың мазмұнымен танысып, оқып шықты және хабардар болды, мүдделер қақтығысы жоқ.

### **Қаржыландыру көзі**

Жұмыс Қазақстан Республикасының Ауыл шаруашылық министрлігінің 2021-2023 жылдар аралығындағы қолдауымен орындалды. Қаржыландыру Қазақстан Республикасының Ауыл шаруашылық министрлігінің ҒТӨ «Жұқпалы ауруға шалдыққан жануарларды диагностикалау, ауруды алдын-алу мен емдеу және топырақтағы сібір жарасының ошақтарын залалсыздандырудың өндірістік әдістерін жасап шығару мен ұсыну» бағдарламалық-мақсатты қаржыландыруы шеңберіндегі, 2021 жылдың 1 қыркүйегіндегі №22 Келісім-шартқа сай орындалған аграрлық-өнеркәсіптік кешен саласындағы қолданбалы ғылыми зерттеулер.

## Әдебиеттер

- 1 Ran Zh., Shen H., Lang Y., Kolb E.A., Turan N., Zhu L., Ma J., Bawa B., Liu Q., Liu Haixia., Quast M., Sexton G., Krammer F., Hause B.M., Christopher-Hennings J., Nelson E.A., Richt J., Li F., Ma W., Sandri-Goldin R.M. Domestic Pigs Are Susceptible to Infection with Influenza B Viruses // *Journal of Virology* 89(9). – 2015. – P. 4818–4826. doi:10.1128/JVI.00059-15.
- 2 Hause B.M., Collin E.A., Liu R., Huang B., Sheng Z., Lu W., Wang D., Nelson E.A., Li F. Characterization of a novel influenza virus in cattle and Swine: Proposal for a new genus in the Orthomyxoviridae family // *Mbio*. – 2014. – 5:e00031-14. doi: 10.1128/mBio.00031-14.
- 3 Chauhan R.P., Gordon M.L. A Systematic Review Analyzing the Prevalence and Circulation of Influenza Viruses in Swine Population Worldwide // *Pathogens*. – 2020. – P. 9(5):355. Published 2020 May 8. doi:10.3390/pathogens9050355.
- 4 Nakatsu S., Murakami S., Shindo K., Horimoto T., Sagara H., Noda T., Kawaoka Y. Influenza C and D Viruses Package Eight Organized Ribonucleoprotein Complexes // *J. Virol.* – 2018. – P. 92. doi: 10.1128/JVI.02084-17.
- 5 Tao H., Li L., White M.C., Steel J., Lowen A.C. Influenza A Virus Coinfection through Transmission Can Support High Levels of Reassortment // *J. Virol.* 89. – 2015. – P. 8453–8461. doi: 10.1128/JVI.01162-15.
- 6 Vincent A., Awada L., Brown I., Chen H., Claes F., Dauphin G., Donis R., Culhane M., Hamilton K., Lewis N. Mumford E., Nguyen T., Parchariyanon S., Pasick J., Pavade G., Pereda A., Peiris M., Saito T., Swenson S., Van Reeth K., Webby R., Wong F., Ciacci-Zanella J. Review of Influenza A Virus in Swine Worldwide: A Call for Increased Surveillance and Research // *Zoonoses and Public Health*. – 2014. – 61(1). – P. 4–17. doi:10.1111/zph.12049.
- 7 Rajao D.S., Vincent A.L., Perez D.R. Adaptation of Human Influenza Viruses to Swine // *Front. Vet. Sci.* – 2018. – 5:347. doi: 10.3389/fvets.2018.00347.
- 8 Jang J., Bae S.E. Comparative Co-Evolution Analysis Between the HA and NA Genes of Influenza A Virus // *Virol. (Auckl)*. – 2018. – 9. doi: 10.1177/1178122X18788328.
- 9 Kosik I., Yewdell J.W. Influenza Hemagglutinin and Neuraminidase: Yin(-)Yang Proteins Coevolving to Thwart Immunity // *Viruses*. – 2019. – 11:346. doi: 10.3390/v11040346.
- 10 Furuse Y., Suzuki A., Kamigaki T., Oshitani H. Evolution of the M gene of the influenza A virus in different host species: large-scale sequence analysis. – 2009. – 6(1), – P. 67–. doi:10.1186/1743-422x-6-67.
- 11 Medina R.A. 1918 influenza virus: 100 years on, are we prepared against the next influenza pandemic? // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2008. – 16 61–62. doi:10.1038/nrmicro.2017.174.
- 12 Koen J.S. A practical method for field diagnosis of swine diseases // *Am. J. Vet. Med.* – 1919. – 14. – P. 468–470.
- 13 Taubenberger J.K., Morens D.M. 1918 Influenza: The mother of all pandemics // *Emerg. Infect. Dis.* – 2006. – 12. – P. 15–22. doi: 10.3201/eid1209.05-0979.
- 14 Worobey M., Han G.Z., Rambaut A. Genesis and pathogenesis of the 1918 pandemic H1N1 influenza A virus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2014. – 111. – P. 8107–8112. doi: 10.1073/pnas.1324197111.
- 15 Saunders-Hastings P.R., Krewski D. Reviewing the History of Pandemic Influenza: Understanding Patterns of Emergence and Transmission // *Pathogens*. – 2016. – 5:66. doi: 10.3390/pathogens5040066.
- 16 Smith G.J., Bahl J., Vijaykrishna D., Zhang J., Poon L.L., Chen H., Webster R.G., Peiris J.S., Guan Y. Dating the emergence of pandemic influenza viruses // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2009. – 106. – P. 11709–11712. doi: 10.1073/pnas.0904991106.
- 17 Ignacio M., Nelson M.I., Quezada-Monroy F., Dutta J., Cortes-Fernández R., Lara-Puente J.H., Castro-Peralta F., Cunha L.F., Trovão N.S., Lozano-Dubernard B., Rambaut A., van Bakel H., García-Sastre A. Origins of the 2009 H1N1 influenza pandemic in swine in Mexico // *eLife*. – 2016. – 5. e16777–. doi:10.7554/eLife.16777.
- 18 Paules C., Subbarao K. Influenza // *Lancet* 390. – 2017. – P. 697–708. doi:10.1016/S0140-6736(17)30129-0.
- 19 Shi J., Deng G., Ma Sh., Zeng X., Yin X., Li M., Zhang B., Cui P., Chen Y., Yang H., Wan X., Liu L., Chen P., Jiang Y., Guan Y., Liu J., Gu W., Han Sh., Song Y., Liang L., Qu Zh., Hou Y., Wang X., Bao H., Tian G., Li Y., Jiang L., Li Ch., Chen H. Rapid Evolution of H7N9 Highly Pathogenic Viruses that Emerged in China in 2017 // *Cell Host & Microbe*. – 2018. S1931312818304347–. doi:10.1016/j.chom.2018.08.006.
- 20 Richard M., Fouchier R.A. Influenza A virus transmission via respiratory aerosols or droplets as it relates to pandemic potential // *FEMS Microbiol Rev.* – 2016. – 40(1). – P. 68-85. doi:10.1093/femsre/fuv039.
- 21 Gilsdorf A., Boxall N., Gasimov V., Agayev I., Mammadzade F., Ursu P., Gasimov E., Brown C., Mardel S., Jankovic D., Pimentel G., Amir I.A., Maher E.L., Salvi C., Legros D., Pessoa C. da Silva, Hay A., Andraghetti R., Rodier G., Ganter B. Two Clusters of Human Infection with Influenza A/H5N1 Virus in the Republic of Azerbaijan // *Euro Surveill*. – 2006. – 11(5). – P. 122-6.
- 22 Arafa A., Suarez D., Kholosy S.G., Hassan M.K., Nasef S., Selim A., Dauphin G., Kim M., Yilma J., Swayne D., and Aly M.M. Evolution of highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses in Egypt indicating progressive adaptation // *Archives of Virology*. – 2012. – P. 1931–1947.
- 23 Sultankulova K., Orynbayev M., Kozhabergenov N., Akylbayeva K., Melisbek A., Jekebekov K., Zhunushov A., Zakarya K., Burashev Y. Complete Coding Genome Sequence of an Avian Influenza A/H3N8 Virus Strain Detected in North Kazakhstan in 2018 // *Microbiol Resour Announc.* – 2020. – Jul 16;9(29):e00441-20. doi: 10.1128/MRA.00441-20.
- 24 Abbas M.A., Spackman E., Fouchier R., Smith D., Ahmed Z., Siddique N., Naeem K., McKinley E.T., Ha-meed A., Rehmani S., and Swayne D.E. H7 avian influenza virus vaccines protect chickens against challenge with antigenically diverse isolates // *Vaccine*. – 2011. – P. 7424–7429.
- 25 Swayne D.E. Impact of vaccines and vaccination on global control of avian influenza // *Avian Dis.* – 2012. – Dec;56(4 Suppl):818-28. doi: 10.1637/10183-041012-Review.1.

- 26 Sonnberg S., Webby R.J., and Webster R.G. Natural history of highly pathogenic avian influenza H5N1 // *Virus Research*. – 2013. – P. 63–77.
- 27 High Pathogenicity Avian Influenza (H5N8) in Russia. 4 September 2020. Ref. VITT/1200.
- 28 Global Influenza Programme. Expert consultation on diagnosis of H5N1 avian influenza infections in humans. *Influenza Other Respir Viruses*. – 2007. – 1(4). – P.131-138. doi:10.1111/j.1750-2659.2007.00028.x
- 29 Duan L., Campitelli L., Fan X.H., Leung Y.H.C., Vijaykrishna D., Zhang J.X., Donatelli I., Delogu M., Li K.S., Foni E, Chiapponi C., Wu W.L., Kai H., Webster R.G., Shortridge K.F., Peiris J.S.M., Smith G.J.D., Chen H., Guan Y. Characterization of Low-Pathogenic H5 Subtype Influenza Viruses from Eurasia: Implications for the Origin of Highly Pathogenic H5N1 Viruses // *Journal of Virology*. – 2007. – 81(14). – P. 7529–7539. doi:10.1128/JVI.00327-07.
- 30 Lee D., Sharshov K., Swayne D.E., Kurskaya O., Sobolev I., Kabilov M., Alekseev A., Irza V., Shestopalov A. Novel Reassortant Clade 2.3.4.4 Avian Influenza A(H5N8) Virus in Wild Aquatic Birds, Russia, 2016 // *Emerging Infectious Diseases*. – 2017. – 23(2). – P. 359–360. doi:10.3201/eid2302.161252.
- 31 Lewis N.S., Banyard A.C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., Byrne A., Saduakassova M.A., King J., Harder T., Grund C., Essen S., Reid S.M., Brouwer A., Zinyakov N.G., Tegzhanov A., Irza V., Pohlmann A., Beer M., Fouchier R.A.M., Sultanov A.A., Brown I.H. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020 // *Emerg Microbes Infect.* – 2021. – Dec;10(1):148-151. doi: 10.1080/22221751.2021.1872355.
- 32 Verhagen J.H., Fouchier R.A.M., Lewis N. Highly pathogenic avian influenza viruses at the wild-domestic bird interface in Europe: future directions for research and surveillance // *Viruses*. – 2021. – 13. – P.212. 10.3390/v13020212
- 33 Nagy, Z., Riss, A., Fujiyama, S., Krebs, A., Orpinell, M., Jansen, P., Cohen, A., Stunnenberg, H.G., Kato, S., Tora, L. The metazoan ATAC and SAGA coactivator HAT complexes regulate different sets of inducible target genes // *Cell. Molec. Life Sci.* – 2010. – 67(4). – P. 611-628.
- 34 Spackman E., Senne D.A., Myers T.J., Bulaga L.L., Garber L.P., Perdue M.L., Lohman K., Daum L.T., Suarez D.L. Development of a Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Type A Influenza Virus and the Avian H5 and H7 Hemagglutinin Subtypes // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2020. – 40(9). – P. 3256–3260. doi:10.1128/jcm.40.9.3256-3260.2002.
- 35 Olsen B., Munster V.J., Wallensten A., Waldenström J., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Global patterns of influenza a virus in wild birds // *Science*. – 2006. – 312. – P.384–8. 10.1126/science.1122438.
- 36 Marchenko V., Goncharova N., Susloparov I., Kolosova N., Gudymo A., Svyatchenko S., Danilenko A., Durymanov A., Gavrilova E., Maksyutov R., Ryzhikov A. Isolation and characterization of H5Nx highly pathogenic avian influenza viruses of clade 2.3.4.4 in Russia // *Virology*. – 2018. – 525(). – P. 216–223. doi:10.1016/j.virol.2018.09.024.

3-бөлім  
**МОЛЕКУЛАЛЫҚ  
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА**

---

Section 3  
**MOLECULAR  
BIOLOGY AND GENETICS**

---

Раздел 3  
**МОЛЕКУЛЯРНАЯ  
БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА**

**К.Ж. Досыбаев<sup>1,2</sup>**, **Д.А. Сыдыков<sup>1</sup>**, **Т. Қапас<sup>2</sup>**, **З.С. Оразымбетова<sup>1,2\*</sup>**,  
**Ж.Е. Кожанов<sup>1</sup>**, **Ш.Н. Ахметсадыкова<sup>1</sup>**, **Г.Т. Бактыбаев<sup>1</sup>**, **У.А. Ахметов<sup>1</sup>**,  
**А.Н. Байсапаров<sup>1</sup>**, **Д.М. Нурмаханбетов<sup>1</sup>**, **Ж.С. Турмухаметов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Қазақ мал шаруашылығы және жемшөп өндірісі ғылыми зерттеу институты, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>ҚР ҒЖБМ ҒК «Генетика және физиология институты» Жануарлар генетикасы және цитогенетикасы зертханасы, Қазақстан, Алматы қ.

\*e-mail: orazymbetova.z@gmail.com

## ҚЫЗЫЛОРДА ЖӘНЕ ҚАРАҒАНДЫ АЙМАҚТАРЫНДА ӨСІРІЛЕТІН ЖЫЛҚЫ ПОПУЛЯЦИЯЛАРЫНЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ПОЛИМОРФИЗМІН БАҒАЛАУ

Қызылорда және Қарағанды аймақтарында өсірілетін жылқы популяцияларының генетикалық әртүрлілігі мен өзгергіштігіне 25 микросателитті маркерлер (VHL20, HTG4, AHT4, HMS7, COR18, AHT5, HMS6, ASB23, TKY312, TKY343, LEX33, HMS3, COR58, HMS5, ASB2, TKY321, TKY301, TKY337, TKY374, HTG7, UM11, TKY394, UM32, HMS1 және TKY294) негізінде салыстырмалы талдау жасалды. Зерттеуде қолданылған локустардың барлығы полиморфты болды. Қызылорда жылқы популяциясында жалпы 192 аллель, ал Қарағанды жылқы популяциясында 194 аллель анықталды. Жалпы популяциядағы аллельдер саны 3 пен 14 аралығында ауытқыды. Екі популяция үшін ең жоғарғы аллельдердің тиімді саны COR58 локусында анықталды, ал ең төменгі көрсеткіш Қызылорда және Қарағанды жылқыларында HMS1 және TKY294 локустарында байқалды. Екі популяция бойынша байқалатын және күтілетін гетерозиготалардың орташа көрсеткіші келесідей болды:  $H_o = 0,780 \pm 0,016$  және  $H_e = 0,765 \pm 0,010$ . Жалпы популяциядағы субпопуляциялар үшін әрбір локус негізінде есептелген Райт Ф-статистикасы (Fst) мәндері 0,001 мен 0,056 аралығында ауытқыды, ал Шеннон индексі  $1,68 \pm 0,04$  мәнімен сипатталды. Зерттеуге алынған популяциялардың генетикалық полиморфизмі көрші елдерде өсірілетін жылқы популяцияларымен салыстырылды. Салыстырмалы талдау нәтижелері зерттеуге алынған іріктемедегі даралардың генетикалық әртүрлілік деңгейі жоғары екенін көрсетті.

**Түйін сөздер:** жылқы, популяция, ДНҚ микросателиттері, генетикалық әртүрлілік.

K.Zh. Dossybayev<sup>1,2</sup>, D.A. Sydykov<sup>1</sup>, T. Kapas<sup>2</sup>, Z.S. Orazymbetova<sup>1,2\*</sup>,  
 Zh.E. Kozhanov<sup>1</sup>, Sh.N. Akhmetsadykova<sup>1</sup>, G.T. Baktybaev<sup>1</sup>, U.A. Akhmetov<sup>1</sup>, A.N. Baysaparov<sup>1</sup>,  
 D.M. Nurmakhanbetov<sup>1</sup>, Zh.S. Turmukhametov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kazakh research institute of livestock and fodder production, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>«Institute of Genetics and Physiology» SC MSHE RK, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: orazymbetova.z@gmail.com

### Assessment of genetic polymorphism of horse populations bred in Kyzylorda and Karaganda regions

A comparative analysis of the genetic diversity and variability of horse populations bred in Kyzylorda and Karaganda regions was made on the basis of 25 microsatellite markers (VHL20, HTG4, AHT4, HMS7, COR18, AHT5, HMS6, ASB23, TKY312, TKY343, LEX33, HMS3, COR58, HMS5, ASB2, TKY321, TKY301, TKY337, TKY374, HTG7, UM11, TKY394, UM32, HMS1 and TKY294). All loci used in the study were polymorphic. A total of 192 alleles were identified in the Kyzylorda horse population, and 194 alleles in the Karaganda horse population. The number of alleles in the general population ranged from 3 to 14. The highest effective number of alleles for both populations was determined at the COR58 locus, and the lowest value was observed at the HMS1 and TKY294 loci in Kyzylorda and Karaganda horses. The average rate of observed and expected heterozygotes for both populations was as follows:  $H_o = 0.780 \pm 0.016$  and  $H_e = 0.765 \pm 0.010$ . Wright's F-statistic (Fst) values calculated on a per-locus basis for subpopulations in the total population ranged from 0.001 to 0.056, and Shannon's index was characterized by a value of  $1.68 \pm 0.04$ . The genetic polymorphism of the studied populations was compared with horse populations bred in neighboring countries. The results of the comparative analysis showed that the individuals in the study sample had a high level of genetic diversity.

**Key words:** horse, population, DNA microsatellites, genetic diversity.



К.Ж. Досыбаев<sup>1,2</sup>, Д.А. Сыдыков<sup>1</sup>, Т. Қапас<sup>2</sup>, З.С. Оразымбетова<sup>1,2\*</sup>, Ж.Е. Кожанов<sup>1</sup>,  
Ш.Н. Ахметсадыкова<sup>1</sup>, Г.Т. Бактыбаев<sup>1</sup>, У.А. Ахметов<sup>1</sup>, А.Н. Байсапаров<sup>1</sup>,  
Д.М. Нурмаханбетов<sup>1</sup>, Ж.С. Турмухаметов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казахский научно-исследовательский институт животноводства  
и кормопроизводства, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>«Институт генетики и физиологии», Лаборатория генетики и цитогенетики животных,  
МНВО РК, Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: orazymbetova.z@gmail.com

### Оценка генетического полиморфизма популяций лошадей разводимых в Кызылординской и Карагандинской областях

Проведен сравнительный анализ генетического разнообразия и изменчивости популяций лошадей Кызылординской и Карагандинской областей на основе 25 микросателлитных маркеров (VHL20, HTG4, ANT4, HMS7, COR18, ANT5, HMS6, ASB23, TKY312, TKY343, LEX33, HMS3, COR58, HMS5, ASB2, TKY321, TKY301, TKY337, TKY374, HTG7, UM11, TKY394, UM32, HMS1 и TKY294). Все локусы, использованные в исследовании, были полиморфными. Всего в Кызылординской популяции лошадей выявлено 192 аллеля, в Карагандинской – 194 аллеля. Количество аллелей в общей популяции колебалось от 3 до 14. Наибольшее эффективное число аллелей для обеих популяций было определено в локусе COR58, а наименьшее – в локусах HMS1 и TKY294. Средняя доля наблюдаемых и ожидаемых гетерозигот для обеих популяций была следующей:  $H_o = 0,780 \pm 0,016$  и  $H_e = 0,765 \pm 0,010$ . Значения F-статистики Райта (Fst), рассчитанные по локусам для субпопуляций в общей популяции, варьировали от 0,001 до 0,056, а индекс Шеннона характеризовался значением  $1,68 \pm 0,04$ . Генетический полиморфизм изучаемых популяций сравнивали с популяциями лошадей, разводимыми в соседних странах. Результаты сравнительного анализа показали, что особи изучаемой выборки имели высокий уровень генетического разнообразия.

**Ключевые слова:** лошадь, популяция, микросателлиты ДНК, генетическое разнообразие.

### Кіріспе

Мал тұқымдардың генетикалық құрылымын зерттеу үшін, сонымен қатар олардың шығу тегін бақылау және анықтау үшін полиморфты қан жүйесінің локустары мен ДНК микросателлиттерінің рөлі зор [6,8,14]. Аталған локустар идеалды генетикалық маркерлер болып табылады және көптеген теориялық және практикалық мәселелерді шешу үшін биологияда кеңінен қолданылады [15,3,10]. Бұл генетикалық маркерлер тұқымдардың, линиялардың, тұқымдастардың генетикалық құрылымын зерттеуге, олардың гетерогенділігін, гомозиготалылығын анықтауға және шаруашылыққа пайдалы белгілер бойынша асыл тұқымды малдарды өсіру процесінде тұқымда болатын өзгерістерді бақылауға мүмкіндік береді [16,18,9]. Ауыл шаруашылығы малдарының генетикалық әртүрлілігі мен өзгергіштігін зерттеуде генетикалық маркерлердің ішінде микросателлитті локустар кең қолданысқа ие. Мысалы, Бүкілресейлік мемлекеттік мал шаруашылығы ғылыми-зерттеу институтының ғалымдары (Н.А. Зиновьева, Н.И. Стрекозов, Л.А. Молофеева) ірі қара мал популяциясының генетикалық полимор-

физміне микросателлитті локустар арқылы салыстырмалы талдау жасаған [17]. Харзинова В.Р. мен Зиновьева Н.А. ірі ақ, беркшир, дюррок және ландрас атты шошқа тұқымдарының аллелофондын зерттеуде 11 микросателлитті маркерді қолданған [23]. Храброва Л.А. өз әріптестерімен жергілікті жылқы тұқымдастарының аллелофондына ДНК маркерлері бойынша салыстыру жұмыстарын жүргізген [25]. Елімізде де бірнеше ғалымдар отандық ауыл шаруашылығы мал тұқымдарына, оның ішінде атап айтқанда Мусабаев Б.И. және т.б. алатау (ірі қара) тұқымының [20], Кикебаев Н.А. Қостанай (жылқы) тұқымының [19], Бурабаев А.А. қой тұқымдарының [13] генетикалық әртүрлілігін микросателлитті локустар арқылы зерттеген. Сонымен қатар, Бейшова И.С. өз әріптестерімен Қостанай тұқымының популяцияларына микросателлитті локустар арқылы генетикалық зерттеулер жүргізген [11]. Дегенмен, қазақтың басқа отандық жылқы тұқымдары молекулалы-генетикалық тұрғыдан зерттеулер жүргізуді қажет етеді. Осыған орай біздің зерттеу жұмысы Қарағанды және Қызылорда өңірінде өсірілетін жылқы популяцияларына микросателлитті маркерлер негізінде молекулалы-генетикалық тұрғыдан сипаттама беруге арналады.

### Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу нысаны Қазақстанның 2 географиялық аймағында өсірілетін жылқы популяцияларынан 60 бас, оның ішінде Қарағанды аймағынан 25 дара және Қызылорда аймағынан 35 дара іріктеп алынды. Статистикалық талдауға “Халықаралық жануарлар генетикасы қоғамы (ISAG)” ұсынған 25 микросателлитті локустар арқылы генотиптеу жүргізілген нәтижелер алынды. Аллельдердің саны мен кездесу жиілігі, олардың тиімділігі, байқалатын және күтілетін гетерозиготалар дәрежесі және популяциядағы генетикалық дифференциацияны (*Fst*) есептеу үшін *GenAlEx6.502* компьютерлік бағдарламасы қолданылды [7].

Аллельдердің кездесу жиілігі төменде көрсетілген формула арқылы анықталды:

$$FreqAllele_x = \frac{2N_{xx} + N_{xy}}{2N} \quad [2] \quad (1)$$

Мұндағы  $N_{xx}$  –  $X$  ( $XX$ ) аллелі үшін гомозиготалардың саны, ал  $N_{xy}$  –  $X$  аллелі бар гетерозиготалардың саны ( $Y$  кез келген басқа аллель болуы мүмкін).  $N$  – даралар саны. Аллель жиілігін әртүрлі аллельдердің пропорцияларын тікелей санау арқылы да анықтауға болады.

Зерттеудегі гетерозиготалық және фиксация индексін анықтау үшін келесі формулалар қолданылады:

$$H_o = \frac{No\_of\_Hets}{N} \quad [2] \quad (2)$$

Мұндағы  $H_o$  – байқалатын гетерозиготалар, яғни берілген локуста гетерозиготалы  $N$  даралардың үлесі.

$$H_e = 1 - S$$

Мұнда,  $H_e$  – күтілетін гетерозиготалар, яғни кездейсоқ шағылысу кезінде күтілетін гетерозиготалықтың үлесі және  $p_i$  – бұл  $i$ -аллельдің жиілігі.

Жылқы популяциясындағы аллельдер эффективтілігі төменде көрсетілген формула бойынша есептелді:

$$H_e = 1 - \sum p_i^2 \quad [18] \quad (4)$$

Мұндағы  $N_e$  – популяциядағы біркелкі және жиі кездесетін аллельдердің саны. Зерттелген

әрбір популяция үшін  $N_e$  локусының жиілігі есептеледі.

Шеннон индексін есептеу барысында келесі формула қолданылды:

$$I = \sum p_i \ln p_i \quad [15] \quad (5)$$

Мұнда,  $p_i$  –  $i$ -аллельінің жиілігі, ал,  $\ln$  – натурал логарифм. Бұның  $H_e$  көрсеткіштен айырмашылығы 1-мен шектелмейді. Сол себепті генетикалық әртүрлілікті өлшеу үшін жақсы көрсеткіш болып табылады.

Зерттеліп отырған популяцияның дифференциация дәрежесін бағалау үшін Райттың (*Wright's*) үш түрлі  $F$ -коэффициенті қолданылды.

1).  $F_{IS}$  – субпопуляцияға қатысты жеке индивидтер ішіндегі инбридинг коэффициенті. Ол субпопуляцияда кездейсоқ емес шағылысу салдарынан жеке индивидтің гетерозиготалылығының төмендеуін өлшейді:

$$F_{IS} = \frac{(H_S - H_I)}{H_S} \quad [1] \quad (6)$$

Мұнда,  $H_S$  – субпопуляцияда күтілетін гетерозиготалардың орташа мәні, ал  $H_I$  – субпопуляцияда байқалатын гетерозиготалардың орта мәні болып табылады.

2).  $F_{IT}$  – жалпыға қатысты жеке индивидтер арасындағы инбридинг коэффициенті. Бұл статистика субпопуляциялардағы кездейсоқ емес шағылысудың да, субпопуляциялар арасындағы генетикалық дифференциацияның да әсерін ескереді:

$$F_{IT} = \frac{(H_T - H_I)}{H_T} \quad [1] \quad (7)$$

Мұндағы  $H_T$  – жалпы популяцияға қатысты күтілетін гетерозиготалардың орташа мәні,  $H_I$  – субпопуляцияда байқалатын гетерозиготалардың орта мәні болып табылады.

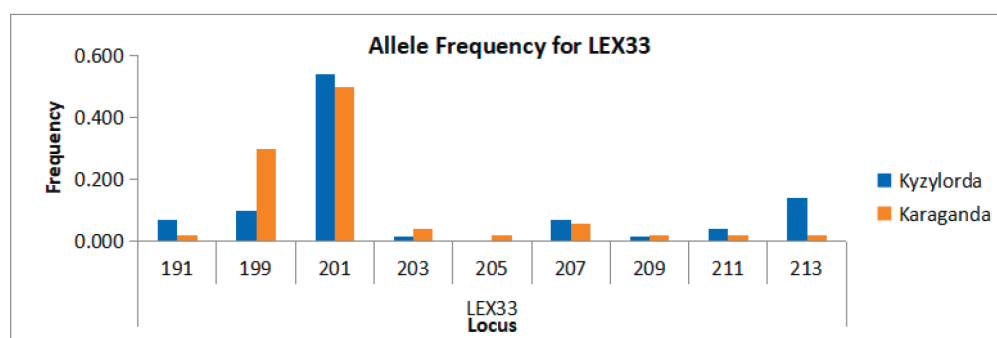
3).  $F_{ST}$  – жалпыға қатысты субпопуляциялардағы инбридинг коэффициенті. Бұл статистика субпопуляциялар арасындағы генетикалық дифференциацияның өлшемін береді. Яғни, субпопуляциялар арасында бөлінген жалпы генетикалық әртүрліліктің (гетерозиготалықтың) үлесі.

$$F_{ST} = \frac{(H_T - H_S)}{H_T} \quad [1] \quad (8)$$

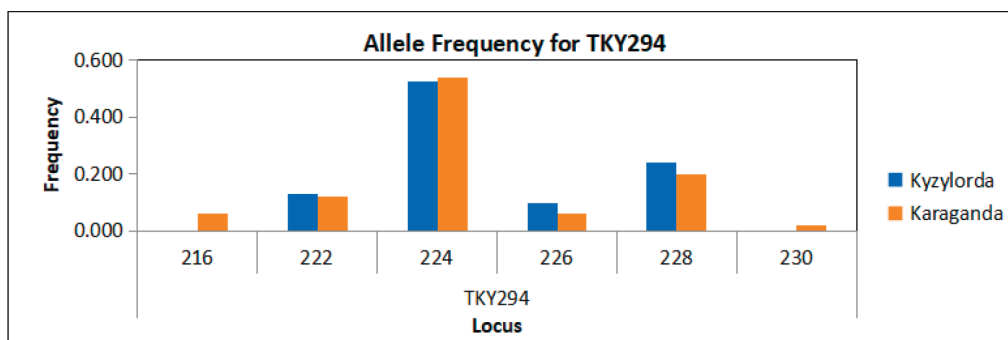
### Зерттеу нәтижелері мен талқылаулар

Зерттеуге алынған жылқы популяцияларына генетикалық сипаттама беру барысында қолданылған 25 микросателитті локустар бойынша Қызылорда жылқы популяциясында (Поп1) жалпы 192 аллель анықталса, ал Қарағанды жылқы популяциясында (Поп2) 194 аллель анықталды. ТКҮ343 локусы екі популяция бойынша ең жоғарғы аллельдер санын (Поп1 – ТКҮ343=14 және Поп2 – ТКҮ343=11) көрсетті. Зерттеуге алынған екі популяцияда ең төменгі аллельдер саны (Поп1 – 3 және Поп2 – 3) HMS5 локусында байқалды. Жалпы популяциядағы аллельдер саны 3 пен 14 аралығында ауытқиды. Әрбір локус негізінде табылған аллельдердің

кездесу жиілігі екі популяцияда әртүрлі пайызбен ерекшеленді. Мысалы, Поп1 іріктемелерінде LEX33 локусында табылған 201 аллелінің кездесу жиілігі (54,3%) ең жоғары көрсеткішке ие болса, ал Поп2 іріктемелерінде ТКҮ294 локусында анықталған 224 аллелі 54 пайыз кездесу жиілігімен ең жоғарғы мәнге ие болды (Сурет 1, 2). Қызылорда популяциясында 25 STR-локусы арқылы табылған аллельдер санының орташа мәні  $7,68 \pm 0,50$  тең болды. Қарағанды жылқыларындағы орташа аллельдер саны  $7,76 \pm 0,41$  мәнімен сипатталды. Ал зерттеуге алынған жалпы іріктемедегі аллельдер саны орташа есеппен  $7,72 \pm 0,32$  көрсеткішіне тең болды.



1-сурет – ТКҮ294 локусы бойынша табылған аллельдер саны мен олардың кездесу жиілігі



2-сурет – LEX33 локусы бойынша табылған аллельдер саны мен олардың кездесу жиілігі

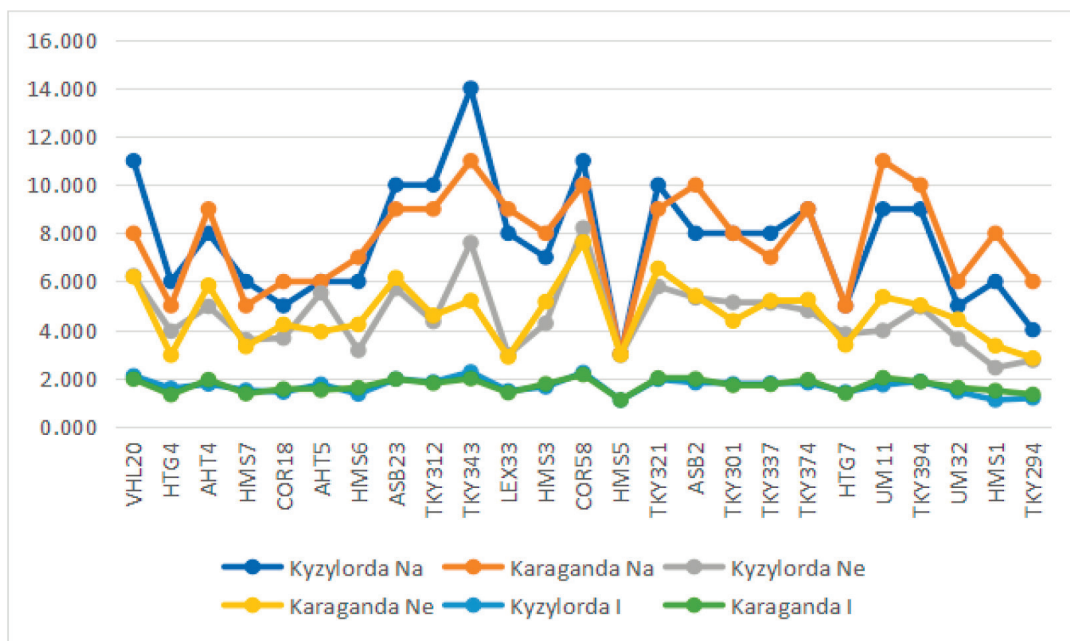
Екі популяцияға салыстырмалы талдау жасау барысында аллельдердің тиімді саны есептелді. Екі популяция үшін ең жоғарғы аллельдердің тиімді саны COR58 (Поп1 – 8,22 және Поп2 – 7,62) локусында анықталды, ал керсінше ең төменгі көрсеткіш Қызылорда және Қарағанды жылқыларында HMS1 және ТКҮ294 локустарында байқалды (Сурет 3). Аллельдердің тиімді

санының орташа мәні Қарағанды іріктемелерінде ( $N_e=4,66 \pm 0,25$ ) Қызылордаға ( $N_e=4,59 \pm 0,29$ ) қарағанда жоғарырақ екені анықталды. Жалпы популяция үшін бұл көрсеткіш  $4,62 \pm 0,19$  мәніне тең болды.

Микросателитті локустар негізінде генетикалық әртүрлілік деңгейін бағалау барысында қолданылатын көрсеткіштердің бірі

Шеннон индексі болып табылады. Біздің зерттеуге алған популяцияларға Шеннон әртүрлілігі есептелді. Зерттеу тобындағы дараларды генотиптеуде қолданылған 25 STR маркерлерінің ішінде ТКУ343 ( $I=2,26$ ) және COR58 ( $I=2,14$ ) локустары Қызылорда және Қарағанды популяцияларында Шеннон әртүрлілігі бойынша ең

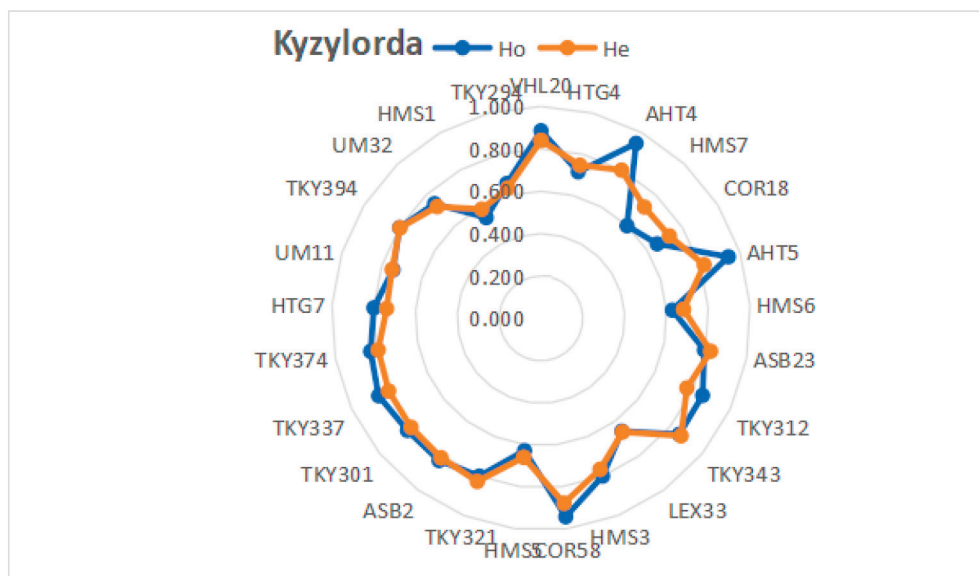
жоғарғы көрсеткішке ие болса, ал екі популяция бойынша да HMS5 ( $I=1,09$ ) локусы ең төменгі мәнге ие болды. Әр популяция үшін есептелген Шеннонның орташа мәні Поп1 және Поп2 іріктемелерінде  $1,67 \pm 0,06$  және  $1,69 \pm 0,05$  тең екені анықталды. Жалпы популяция бойынша аталған көрсеткіш  $1,68 \pm 0,04$  мәнімен сипатталды.



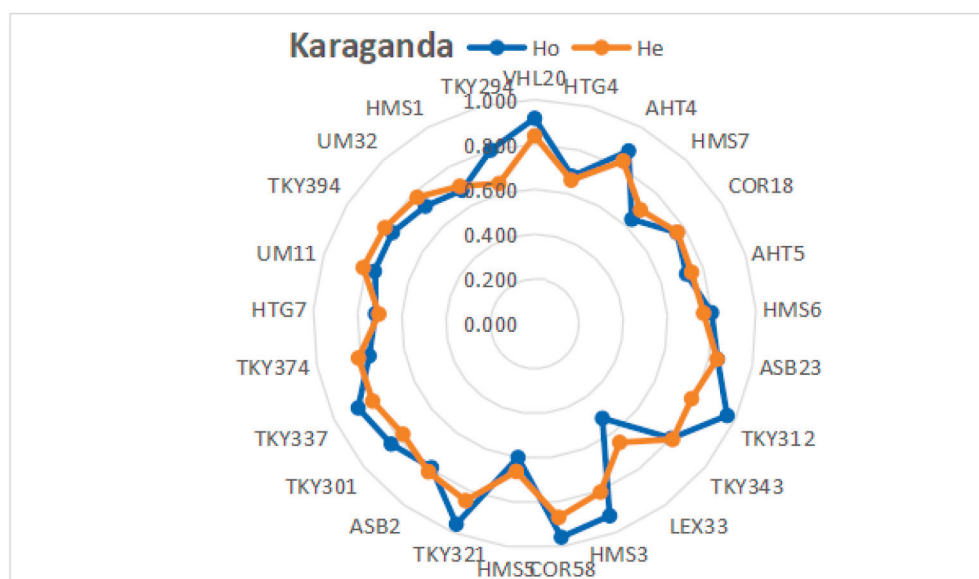
3-сурет – Зерттеуге алынған екі популяция бойынша аллельдер саны, аллельдердің тиімді саны және Шеннон индексі нәтижелері

Зерттеуге алынған іріктемедегі даралардың генетикалық өзгергіштік дәрежесін бағалау үшін байқалатын және күтілетін гетерозиготалар деңгейі есептелді. Зерттеу нәтижелеріне сүйенсек, әрбір локус бойынша есептелген күтілетін және байқалатын гетерозиготалар деңгейінің көрсеткіштері әртүрлі екенін көрсетті. Мысалы, ең жоғарғы байқалатын гетерозиготалар мәні Поп1 даралары үшін АНТ4 және COR58 локустарында анықталса, ал ең төменгі мән HMS1 локусында анықталды. Аталған популяцияда күтілетін гетерозиготалар деңгейі 0,54 (HMS1) пен 0,87 (COR58) аралығында ауытқыды (Сурет 4). Қарағанды популяциясы бойынша ең жоғарғы және ең

төменгі байқалатын және күтілетін гетерозиготалар мәні ТКУ312 ( $H_o=0,960$ ) және ТКУ321 ( $H_o=0,520$ ), COR58 ( $H_e=0,869$ ) және ТКУ294 ( $H_e=0,646$ ) локустарында байқалды (Сурет 5). Поп2 іріктемелері бойынша анықталған байқалатын гетерозиготалардың орташа шамасы ( $H_o=0,787 \pm 0,023$ ) Поп1 іріктемелеріне ( $H_o=0,773 \pm 0,022$ ) қарағанда салыстырмалы түрде жоғары болды. Күтілетін гетерозиготалардың орташа мәні екі популяция үшін ұқсас екені анықталды. Жалпы екі популяция бойынша байқалатын және күтілетін гетерозиготалардың орташа көрсеткіші келесідей болды:  $H_o=0,780 \pm 0,016$  және  $H_e=0,765 \pm 0,010$ .



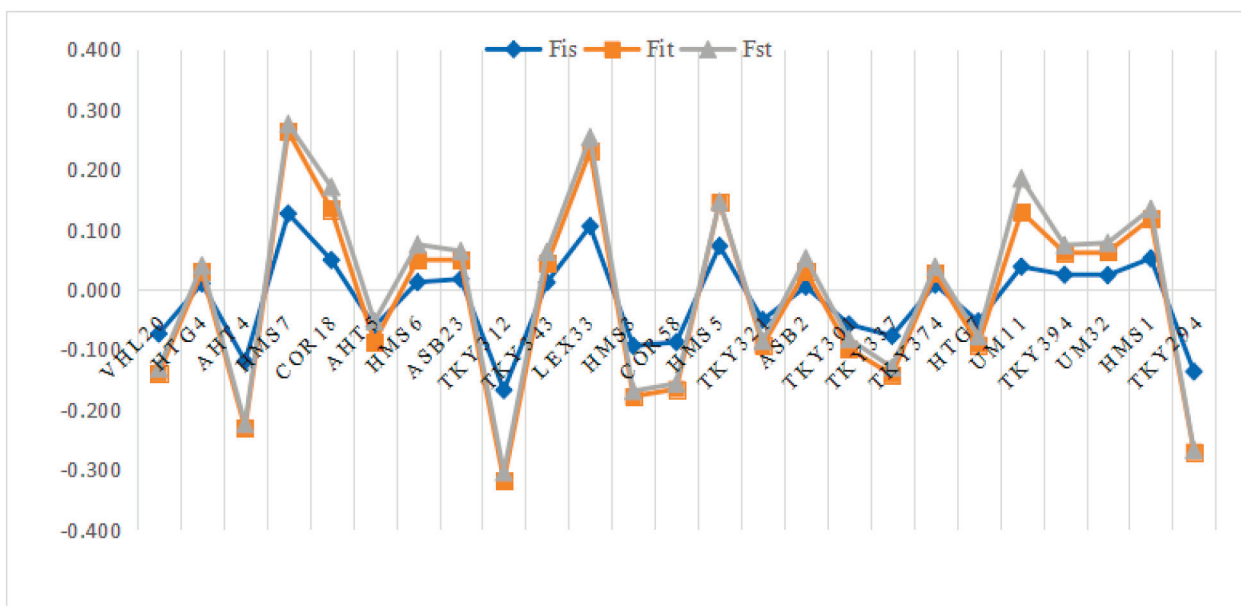
4-сурет – Қызылорда аймағында өсірілетін жылқы популяциясы бойынша байқалатын және күтілетін гетерозиготалар дәрежесі



5-сурет – Қарағанды аймағында өсірілетін жылқы популяциясы бойынша байқалатын және күтілетін гетерозиготалар дәрежесі

Субпопуляциядағы даралар мен жалпы популяциядағы даралардың инбридинг коэффициентін және жалпы популяциядағы субпопуляциялардың инбридинг коэффициентін бағалау мақсатында Райт Ф-статистикасының үш мәні ( $F_{is}$ ,  $F_{it}$  және  $F_{st}$ ) әрбір локус бойынша зерттеуге алынған популяциялар үшін анықталды.  $F_{is}$  және  $F_{it}$  нәтижелері субпопуляция мен жалпы популяциядағы дараларда VHL20, HTG4, TKY312, HMS3, COR58,

TKY321, TKY301, TKY337, HTG7 және TKY294 локустары бойынша гетерозиготалар артықшылығы байқалғанын көрсетті. Жалпы популяциядағы субпопуляциялар үшін әрбір локус негізінде есептелген  $F_{st}$  мәндері 0,001 мен 0,056 аралығында ауытқыды. Райт Ф-статистикасының үш индексі бойынша анықталған орташа мәндер келесідей:  $F_{is} = -0,017 \pm 0,015$ ,  $F_{it} = -0,001 \pm 0,016$  және  $F_{st} = 0,016 \pm 0,002$  (Сурет 6).



6-сурет – Райт Ф-статистикасы бойынша алынған нәтижелердің көрсеткіштері

## ТАЛҚЫЛАУЛАР

Микросателлитті локустар негізінде жануарлардың генетикалық әртүрлігін бағалауда популяция немесе тұқым бойынша анықталған аллельдер санының орташа көрсеткіші маңызды құрал болып табылады. Екі популяция бойынша анықталған аллельдердің орташа саны ( $N_a=7,72$ ) орыстың ауыржүкті жылқы популяциясынан ( $N_a=6,12$ ) жоғары болды. Зерттеуге алынған қазақтың жылқы популяцияларында генетикалық әртүрлілік жоғары екені анықталды. Әдебиеттік көптеген зерттеулерге сүйенсек жылқы популяциялары мен тұқымдары арасында әрбір STR-локусында анықталған аллельдер санының ерекшеліктері байқалады. Біздің зерттеуге алған Қызылорда және Қарағанды жылқы популяцияларында аллельдер саны ең жоғары ТКУ343 локусында анықталды (Поп1 – ТКУ343=14 және Поп2 – ТКУ343=11). Ал, Тувин жылқы популяцияларында ASB17 локусында ( $N_a=10$ ) ең жоғарғы аллельдер саны табылған [21]. Ресейде өсірілетін тазақанды міністі жылқыларында [4] ASB2 локусында аллельдер саны 9 тең болса, Қызылорда және Қарағанды жылқыларында аллельдер саны 8 және 10 тең екені анықталды. Яғни, әрбір микросателлитті локустар негізінде салыстырмалы талдау нәтижелері аллельдер саны бойынша популяциялар бір-бірінен ерекшеленетінін көрсетті. Сонымен қатар

табылған аллельдердің кездесу жиілігі де белгілі бір нақты тұқымдар немесе популяцияларды сипаттауда айтарлықтай маңызға ие екенін айтуға болады. Поп1 және Поп2 іріктемдерінде кездесу жиілігі ең жоғары LEX33 локусында табылған 201 аллелі мен ТКУ294 локусында анықталған 224 (54,0%) аллелі болды. Сол сияқты Владимир ауыр жүктасымалдағыш жылқы тұқымының популяциясында кездесу жиілігі жоғары аллельдер АНТ4L (0,507), НТГ10R (0,488) және НМС1(0,699) локустарында анықталса, ал советтік ауыр жүктасымалдағыш жылқы генотипында НТГ6О (0,825), НТГ10М (0,535) және СА425N (0,500) локустарында анықталды [12]. Келесі ретте генетикалық әртүрлілікті талдау үшін әр локус бойынша аллельдердің тиімді саны есептеліп, әр популяция үшін олардың орташа мәні салыстырмалы талданды. Аталған көрсеткіш Қарағанды мен Қызылорда популяциясында генетикалық әртүрлілік деңгейі шамалас екенін көрсетті. Жалпы популяцияда анықталған аллельдердің тиімді санының орташа мәні ( $4,63\pm 0,19$ ) салыстырмалы түрде 17 микросателлитті локустар арқылы зерттелген Қырғыз жылқы популяциясынан төмен ( $4,888\pm 0,330$ ), бірақ Тувин жылқыларының көрсеткішінен (4,20) жоғары болуымен сипатталды [21, 5].

Шеннон индексі белгілі бір биоәртүрлілікті бағалауда кеңінен қолданылады. Бұл индекс

іріктемеде бар түрлердің санын және әр түр үшін жеке даралардың салыстырмалы санын ескере отырып есептеледі. Яғни, ол түрлер санының байлығы мен көптігі туралы мәліметтерді көрсетеді. Зерттеуде қолданылған барлық локустар бойынша екі популяцияды анықталған Шеннон мәнінің орташа көрсеткіші  $1,68 \pm 0,04$  тең болды, стандартты мән негізінде қарастырсақ, біздің популяциялардағы әртүрлілік деңгейі орташа ( $1,5 <$ ) деп баға беруге болады [22].

Белгілі бір популяциядағы, табындағы немес отардағы ауыл шаруашылығы малдары үнемі динамикалық жағдайда болады, себебі табиғи факторлар мен селекцияның нәтижесінде генетикалық өзгерістер мен іріктеуге ұшырап отырады. Сонымен қатар, белгілі бір мақсатқа жету үшін селекционерлер ата-аналық жұптарды іріктеу және жұптастыру жұмысын жүргізіп отырады, соның салдарынан популяцияда кездейсоқ шағылысуға қарағанда инбридинг дәрежесі 2-4 есеге жоғарылап отырады. Гетерозиготалықты анықтау арқылы генетикалық өзгергіштік пен инбридинг дәрежесін бақылап отырады. Салыстырмалы түрде Қызылорда жылқы популяциясына қарағанда Қарағанды жылқы популяциясында байқалатын және күтілетін гетерозиготалар үлесі жоғары екендігі байқалды. Ал, зерттеуге алынған қазақтың жылқы популяциясында жалпы жалпы байқалатын және күтілетін гетерозиготалардың орташа дәрежесі, сәйкесінше,  $0,78 \pm 0,02$  және  $0,77 \pm 0,01$  болды. Генетикалық өзгергіштігін бағалау барысында жалпы екі популяцияда да гетерозиготалар артықшылығы байқалды. Қызылорда популяциясында гетерозиготалар артықшылығы 1,1 % құраса, ал Қарағанды популяциясында 1,9 % құрады. Біздің зерттеу популяцияда анықталған генетикалық өзгергіштік деңгейі Печорский ( $H_o=0,732$  және  $H_e=0,705$ ) жылқыларына қарағанда жоғары, яғни қазақтың жылқыларында популяцияішілік инбридинг орын алмағанын дәлелдейді [24].

Субпопуляциядағы даралар мен жалпы популяциядағы инбридинг коэффициентін есеп-

теу нәтижелеріне сүйенсек, қолданылған 25 микросателлитті локустардың 44% популяцияда популяцияішілік инбридингтің болмауымен сипатталды. Жалпы зерттеуге алынған популяцияда  $F_{is} = -0,017$  көрсеткішімен сипатталды. Осыған ұқсас нәтиже Тува жылқы популяциясында ( $F_{is} = -0,008$ ) анықталды [16]. Ал керісінше тұқымішілік инбридинг орыстың ауыр жүктасымалдағыш ( $F_{is} = 0,031$ ) және ресейде өсірілетін таза қанды жылқы ( $F_{is} = 0,001$  тұқымдарында анықталған [18]). Жалпы популяциядағы субпопуляциялардың инбридинг коэффициентін бағалауда,  $F_{st}$  ( $0,016$ ) нәтижесі зерттеуге алынған екі популяция арасында дивергенция деңгейі ( $F_{st} < 0,05$ ) төмен екенін көрсетті. Алынған нәтиже бойынша популяциялар арасында миграция жүріп жатқанын тұжырымдауға болады.

### Қорытынды

STR-маркерлері негізінде жылқы популяцияларының полиморфизмін салыстырмалы түрде бағалау нәтижелері табылған аллельдердің санына байланысты әр популяцияның өзіндік генетикалық әртүрлілігі болатындығын көрсетті. Алынған нәтижелер, 25 микросателлитті локустар бойынша Қызылорда жылқы популяциясында жалпы 192 аллель, ал Қарағанды жылқы популяциясында 194 аллель анықталды. Сонымен қатар, екі популяциядағы генетикалық өзгергіштік деңгейін салыстырмалы бағалауға мүмкіндік берді. Райттың F-статистикасы популяцияда гетерозиготалы даралардың басым екенін және популяциялар арасында миграция орын алғанын көрсетті. Зерттеу барысында қолданылған 25 микросателлитті локустар зерттелген жылқы популяцияларының генетикалық әртүрлілігі мен өзгергіштігі және инбридинг коэффициентін бағалауда мол ақпаратқа ие екені анықталды.

*«Зерттеу жұмыстары Қазақстан Республикасы ауыл шаруашылығы министрлігімен қаржыландырылды (BR10764999)»*

### Әдебиеттер

1. Brown A.H.D., Weir B.S. Measuring Genetic Variability in Plant Populations. Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Volume 1, Part A, (1983), Pages 219-239.
2. Hartl D.L. and Clark A. G. Principles of Population Genetics 3rd ed. – Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, (1997). 519 p.
3. Helal, M., & El-Gendy, E. (2023). Marker-assisted selection for improving body weight in local chickens in Egypt. The Journal of Agricultural Science, 1-13. doi:10.1017/S0021859623000060













4. Khrabrova L.A., Blohina N.V., Suleymanov O.I., Rozhdestvenskaya G.A., Pustovoy V.F. Assessment of line differentiation in the Thoroughbred horse breed using DNA microsatellite loci. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 23(5), (2019); 569-574.
5. Kipen V.N., Isakova J.T. Genetic portrait of kyrgyz horse. – *Коневодство и конный спорт*. №1 (2018). 21-22 p.
6. Nosil P. Divergent selection and heterogeneous genomic divergence / P.Nosil, D.J.Funk, D.Ortiz-Barrientos // *Mol. Ecol.* (2009). – Vol. 18. – P.375-402.
7. Peakall R., Smouse P. GenAlEx 6.502: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research – an update // *Bioinformatics*. Vol.28. (2012). P. 2537-2539.
8. Pritchard, J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data / J.K.Pritchard, M.Stephens, P.Donnely // *Genetics*. (2000). -Vol.155.-P.945-949.
9. Sandberg K. Blood typing of horse: current status and application to identification problems // K.Sandberg / *Proc. First World Congress genet. Applied to Livestock Prod. Madrid, (1974). Vol.180. – P.1477-1478.*
10. Zorc, M., Škorput, D., Gvozdanović, K., Margeta, P., Karolyi, D., Luković, Z., Salajpal, K., (...), Dovč, P. Genetic diversity and population structure of six autochthonous pig breeds from Croatia, Serbia, and Slovenia. (2022) *Genetics Selection Evolution*, 54 (1), art. no. 30. doi: 10.1186/s12711-022-00718-6
11. Бейшова, И.С. Қостанай жылқы тұқымының негізгі аталық іздерінің генетикалық полиморфизмі: Ауылшаруашылығы ғылымд. канд.... дис. автореф. / И.С. Бейшова; ЖШС “Қазақ тұлпары”.- Астана, (2010).- 24 с.
12. Блохина Н.В., Храброва Л.А., Зайцев А.М., Гавриличева И.С. Оценка генетического разнообразия микросателлитных локусов у лошадей тяжелоупряжных пород. *Генетика и разведение животных*. №2, (2018), С. 39-44.
13. Бурабаев А.А., Марзанов Н.С., Мамадалиев С.Н., Кошеметов Ж.К., Ажибаев А.Ж. Установление генетических связей между различными породами овец республики Казахстан с использованием ДНК-микросателлитов // *Вестник науки Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина*. (2009). С 185-189.
14. Видякина, А. Ю. Линейная структура и полиморфизм групп крови в популяции черно-пестрого скота в ЗАО «КИ-ПЕНЬ» / А. Ю. Видякина, В. И. Митютько // . – 2017. – Т. 8, № 1. – С. 165-168. – EDN ХМIAWL.
15. Денисова, О. А. Использование генетических маркеров в селекции сельскохозяйственных животных / О. А. Денисова // *Вестник молодежной науки Алтайского государственного аграрного университета*. – 2016. – № 1. – С. 142-145. – EDN DAANGK.
16. Дубровская Р.М. Методические рекомендации по использованию полиморфных систем белков и групп крови при контроле достоверности происхождения лошадей / Р.М.Дубровская и др. ВНИИК, 1986. – 39 с.
17. Зиновьева Н.А., Стрекозов Н.И., Молофеева Л.А. Оценка роли ДНК-микросателлитов в генетической характеристике популяции черно-пестрого скота. *Зоотехния*. № 1 (2009). С. 2-4.
18. Калашников, В.В. Изучение полиморфизма сателлитной ДНК лошадей заводских и местных пород // В.В.Калашников, Л.А.Храброва, А.М.Зайцев и др. / Доклады РАСХН. №6 (2010). – С.48-50.
19. Кикебаев Н.А. Зоотехническая и генетическая характеристика жеребцов костанайской, английской чистокровной верховой и арабской пород. // *Вестник науки КазАТУ им. С.Сейфуллина*. №2. (2011), Т.69, С 3-7.
20. Мусабаев Б.И., Жансеркенова О.О., Ветринская А.А., Нуртлеуова С.С. Микросателлитті локустар бойынша алатау тұқымының ДНК полиморфизмін анықтау // *Жаршы* № 2 (2010). 40-43 б.
21. Р.Б. Чысыма, Л.А. Храброва, А.М. Зайцев, Е.Ю. Макарова, Ю.Н. Федоров, Б.М. Луду. Оценка генетического разнообразия в популяциях тувинских лошадей по локусам систем крови и микросателлитным днк. *Сельскохозяйственная биология*, том 52, №4, (2017), С. 679-685.
22. Смагин А.В., Сиротюк Э.А. Л. Б. Попок и др.; под общ. ред. И. С. Белюченко. *Системная экология*. – Краснодар: КубГАУ. (2017). С.164.
23. Харзинова В.Р., Зиновьева В.Р. Характеристика аллелофонда беркширской породы свиней // сб. науч. тр. Ставропольского научно- исследовательского института животноводства и кормопроизводства. (2013). -286-290 с.
24. Храброва Л.А., Блохина Н.В., Гавриличева И.С., Юрьева И.Б. Характеристика генетической структуры печорской лошади по локусам микросателлитов ДНК. *Современные достижения и актуальные проблемы в коневодстве*. (2019), статья в сборнике трудов конференции. с. 282-287.
25. Храброва Л.А., д.с.-х.н. Сравнительная характеристика аллелофонда местных пород лошадей по днк маркерам – *Коневодство и конный спорт*, №3 ( 2008). С. 9-10.

#### References

1. Brown A.H.D., Weir B.S. Measuring Genetic Variability in Plant Populations. *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*. Volume 1, Part A, (1983), Pages 219-239.
2. Hartl D.L. and Clark A. G. *Principles of Population Genetics* 3rd ed. – Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, (1997). \$519
3. Helal, M., & El-Gendy, E. (2023). Marker-assisted selection for improving body weight in local chickens in Egypt. *The Journal of Agricultural Science*, 1-13. doi:10.1017/S0021859623000060
4. Khrabrova L.A., Blohina N.V., Suleymanov O.I., Rozhdestvenskaya G.A., Pustovoy V.F. Assessment of line differentiation in the Thoroughbred horse breed using DNA microsatellite loci. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 23(5), (2019); 569-574.



5. Kipen V.N., Isakova J.T. Genetic portrait of kyrgyz horse. – Horse breeding and equestrian sport. No. 1 (2018). 21-22 p.
6. Nosil P. Divergent selection and heterogeneous genomic divergence / P. Nosil, D.J. Funk, D. Ortiz-Barrientos // *Mol. ecol.* (2009). – Vol. 18.-P.375-402.
7. Peakall R., Smouse P. GenAlEx 6.502: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research – an update // *Bioinformatics*. Vol.28. (2012). P. 2537-2539.
8. Pritchard, J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data / J.K.Pritchard, M.Stephens, P.Donnely // *Genetics*. (2000). -Vol.155.-P.945-949.
9. Sandberg K. Blood typing of horse: current status and application to identification problems // K. Sandberg / *Proc. First World Congress genet. Applied to Livestock Prod. Madrid, (1974). Vol.180. – P.1477-1478.*
10. Zorc, M., Škorput, D., Gvozdanić, K., Margeta, P., Karolyi, D., Luković, Z., Salajpal, K., (...), Dovč, P. Genetic diversity and population structure of six autochthonous pig breeds from Croatia, Serbia, and Slovenia. (2022) *Genetics Selection Evolution*, 54 (1), art. no. 30. doi: 10.1186/s12711-022-00718-6
11. Beishova, I.S. Қостанай зhyлқы тұқымуның негизгі аталық іздеринин genetic polymorphisms: Ауылшаруашылығы ғылымд. cand.... dis. abstract / I.S. Beishova; ZhSS «Kazakh tulpary». – Astana, (2010). – 24 p.
12. Blokhina N.V., Khrabrova L.A., Zaitsev A.M., Gavrilicheva I.S. Evaluation of the genetic diversity of microsatellite loci in horses of heavy draft breeds. *Genetics and animal breeding*. No. 2, (2018), pp. 39-44.
13. Burabaev A.A., Marzanov N.S., Mamadaliev S.N., Koshemetov Zh.K., Azhibayev A.Zh. Establishment of genetic relationships between different breeds of sheep of the Republic of Kazakhstan using DNA-microsatellites // *Bulletin of Science of the Kazakh Agrotechnical University*. S. Seifullin. (2009). C 185-189.
14. Vidyakina, A. Yu. Linear structure and polymorphism of blood groups in the population of black-and-white cattle in CJSC «KIPEN» / A. Yu. Vidyakina, V. I. Mityutko // . – 2017. – V. 8, No. 1. – S. 165-168. – EDNXMIAWL.
15. Denisova, O. A. The use of genetic markers in the breeding of farm animals / O. A. Denisova // *Bulletin of youth science of the Altai State Agrarian University*. – 2016. – No. 1. – P. 142-145. – EDN DAANGK.
16. Dubrovskaya P.M. Guidelines for the use of polymorphic systems of proteins and blood groups in the control of the reliability of the origin of horses / R.M. Dubrovskaya et al. VNIIC, 1986. – 39 p.
17. Zinov'eva N.A., Strekozov N.I., Molofeeva L.A. Evaluation of the role of DNA microsatellites in the genetic characteristics of the black-and-white cattle population. *Zootechnics*. No. 1 (2009). pp. 2-4.
18. Kalashnikov, B.B. Study of satellite DNA polymorphism in horses of factory and local breeds // V.V. Kalashnikov, L.A. Khrabrova, A.M. Zaitsev et al. No. 6 (2010). – P.48-50.
19. Kikebaev N.A. Zootechnical and genetic characteristics of stallions of the Kostanay, English thoroughbred riding and Arabian breeds. // *Bulletin of science KazATU named after. S. Seifullin*. No. 2. (2011), V.69, C 3-7.
20. Musabaev B.I., Zhanserkenova O.O., Vetrinskaya A.A., Nurtleuova S.S. Microsatellites locustar boyinsha alatau тұқымынyn DNA polymorphism in anyktau // *Zharshy* No. 2 (2010). 40-43 b.
21. Chysyma, L.A. Khrabrova, A.M. Zaitsev, E.Yu. Makarova, Yu.N. Fedorov, B.M. Ludu. Assessment of genetic diversity in populations of Tuvan horses by loci of blood systems and microsatellite DNA. *Agricultural Biology*, Vol. 52, No. 4, (2017), C. 679-685.
22. Smagin A.V., Sirotyuk E.A. L. B. Popok and others; under total ed. I. S. Belyuchenko. *System ecology*. – Krasnodar: KubGAU. (2017). C.164.
23. Kharzinova V.R., Zinovieva V.R. Characteristics of the allele pool of the Berkshire breed of pigs // *Sat. scientific tr. Stavropol Research Institute of Animal Husbandry and Forage Production*. (2013). -286-290 p.
24. Khrabrova L.A., Blokhina N.V., Gavrilicheva I.S., Yurieva I.B. Characterization of the genetic structure of the Pechora horse by the loci of DNA microsatellites. *Modern achievements and actual problems in horse breeding*. (2019), article in the conference proceedings. With. 282-287.
25. Khrabrova L.A., Doctor of Agricultural Sciences. Comparative characteristics of the allele pool of local horse breeds by DNA markers – Ko

<sup>1,2</sup>А.В. Жигайлов , <sup>1,2</sup>Е.О. Остапчук\* , <sup>1,2</sup>Ю.В. Перфильева ,  
<sup>1,2</sup>Э.Р. Мальцева , Ж.А. Бердыгулова<sup>1</sup> , Д.А. Найзабаева<sup>1,2</sup> ,  
А.С. Низкородова<sup>1,2</sup> , А.О. Бисенбай<sup>1</sup> , А.С. Черушева<sup>1</sup> ,  
Г.А. Исмагулова<sup>1,2</sup> , А.М. Дмитриевский<sup>1,3</sup> , Ю.А. Скиба<sup>1,2</sup> 

<sup>1</sup> Филиал РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК в г. Алматы, Казахстан, г. Алматы;

<sup>2</sup> РГП на ПХВ «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина» КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы;

<sup>3</sup> «Национальный научный центр особо опасных инфекций им. М. Айкимбаева» МЗ РК, Казахстан, г. Алматы.

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

## КЛОНИРОВАНИЕ ОТКРЫТЫХ РАМОК СЧИТЫВАНИЯ SARS-COV-2, ИХ ЭКСПРЕССИЯ В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI* И ВЫДЕЛЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ SARS-S-6HIS, SARS-S1-6HIS, SARS-N-6HIS, SARS-M-6HIS И SARS-E-6HIS

Новый коронавирус SARS-CoV-2 вызвал пандемию атипичной пневмонии COVID-19 и повлек разрушительный кризис здравоохранения и социально-экономической сферы во всем мире. Для успешной борьбы с эпидемией необходима эффективная система диагностики возбудителя для предотвращения его распространения среди населения. Поскольку обнаружение антигенов и антител к SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа имеют большое значение в диагностике COVID-19, мы разработали рекомбинантные аналоги основных структурных белков вируса SARS-CoV-2. Для этого нами были клонированы в экспрессионный вектор pET23c открытые рамки считывания четырех структурных белков вируса, а именно поверхностного спайкового гликопротеина (S), мембранного белка (M), малого белка оболочки (E) и нуклеокапсидного белка (N). Нами были получены штаммы *Escherichia coli* BL-21(DE3), продуцирующие рекомбинантные белки S-6His, M-6His, E-6His и N-6His. Была оптимизирована процедура очистки рекомбинантных белков из суспензии клеток. В достаточном количестве был выделен белок N-6His, который был очищен диализом и сконцентрирован. Полученный чистый препарат N белка (содержание целевого белка 80%) может быть использован для дальнейших исследований его антигенной активности.

**Ключевые слова:** COVID-19, SARS-CoV-2, клонирование, рекомбинантные белки.

<sup>1,2</sup>A.V. Zhigailov, <sup>1,2</sup>Y.O. Ostapchuk\*, <sup>1,2</sup>Y.V. Perfilyeva, <sup>1,2</sup>E.R. Maltseva, <sup>1</sup>Z.A. Berdygulova, D.A. <sup>1,2</sup>Naizabayeva, <sup>1,2</sup>A.S. Nizkorodova, <sup>1</sup>A.O. Bisenbay, <sup>1</sup>A.S. Cherusheva, <sup>1,2</sup>G.A. Ismagulova, A.M. <sup>1</sup>Dmitrovskiy, <sup>1,2</sup>Y.A. Skiba

<sup>1</sup>Almaty Branch of the National Center for Biotechnology, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>M.A. Aitkhozhin's Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Kazakhstan, Almaty

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

### **Cloning of the major open reading frames of SARS-CoV-2, their expression in *Escherichia coli* and purification of SARS-S-6His, SARS-S1-6His, SARS-N-6His, SARS-M-6His and SARS-E-6His proteins**

A novel coronavirus SARS-CoV-2 has been associated with the COVID-19 atypical pneumonia pandemic, which caused a devastating healthcare and socioeconomic crisis worldwide. Effective diagnosis of the disease is important to prevent the spread of infection. Since the detection of antigens and antibodies against SARS-CoV-2 by enzyme-linked immunosorbent assay is of great importance in the diagnosis of COVID-19, we developed recombinant analogs of the main structural proteins of the SARS-CoV-2 virus. The genes of the main open reading frames, including the surface spike (S) glycoprotein, the small membrane (M) protein, the envelope (E) glycoprotein and nucleocapsid (N) protein, were cloned in expression plasmids pET23c in polyhistidine reading frames. We obtained the strains of *Escherichia coli* BL-21(DE3) that produce recombinant S-6His, M-6His, E-6His and N-

6His proteins. N-6His protein was produced in sufficient quantities, for the purification of which the conditions of dialysis and its concentration were optimized. We obtained pure preparation of N protein (the target protein concentration is 80%). Further studies should be performed to identify its antigenic activity.

**Key words:** COVID-19, SARS-CoV-2, cloning, recombinant proteins.

А.В. Жигайлов<sup>1,2</sup>, Е.О. Остапчук<sup>1,2\*</sup>, Ю.В. Перфильева<sup>1,2</sup>, Э.Р. Мальцева<sup>1,2</sup>,  
Ж.А. Бердыгулова<sup>1</sup>, Д.А. Найзабаева<sup>1,2</sup>, А.С. Низкородова<sup>1,2</sup>, А.О. Бисенбай<sup>1</sup>,  
А.С. Черушева<sup>1</sup>, Г.А. Исмагулова<sup>1,2</sup>, А.М. Дмитриевский<sup>1</sup>, Ю.А. Скиба<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ҚР БҒМ ҒК «Ұлттық биотехнология орталығы» ШЖҚ РМК филиалы, Қазақстан, Алматы қ.;

<sup>2</sup>ҚР БҒМ ҒК «М.А.Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты» ШЖҚ РМК, Қазақстан, Алматы қ.

\*e-mail: kastyostapchuk@gmail.com

### **SARS-CoV-2 ашық оқу шеңберлерін клондау, олардың *Escherichia coli* жасушаларында экспрессиясы және рекомбинантты SARS-S-6His, SARS-S1-6His, SARS-N-6His, SARS-M-6His және SARS-E SARS-E-6His ақуыздарын бөліу**

Жаңа SARS-CoV-2 коронавирусы атипикалық пневмония COVID-19 пандемиясын тудырды және бүкіл әлемде денсаулық сақтау мен әлеуметтік-экономикалық саладағы дағдарысқа әкелді. Эпидемияға қарсы тиімді күресу, оның халық арасында таралуын болдырмау үшін қоздырғышты анықтаудың тиімді диагностикалық жүйесі қажет. COVID-19 диагностикасында ELISA көмегімен SARS-CoV-2 антигендері мен антиденелерін анықтау үлкен маңызға ие болғандықтан, біз SARS-CoV-2 вирусының негізгі құрылымдық ақуыздарының рекомбинантты ақуыздарын синтездедік. Ол үшін біз вирустың төрт құрылымдық ақуызының ашық оқу шеңберлерін pET23c экспрессиялық векторына клондадық, атап айтқанда, беттік гликопротеин (S), кішкене мембраналық ақуыз (M), конвертті ақуыз (E) және нуклеокапсидті ақуыз (N). Біз S-6His, M-6His, E-6His және N-6His рекомбинантты ақуыздарын экспрессиялайтын *Escherichia coli* BL21 (DE3) штамдарын алдық. Рекомбинантты ақуыздарды жасуша суспензиясынан тазарту процедурасы оңтайландырылды. Диализ арқылы тазартылып, концентрацияланған N-6His ақуызы жеткілікті мөлшерде алынды. Алынған N ақуыздың таза препаратын (қажетті ақуыздың мөлшері 80% құрайды), оның антигендік белсенділігін зерттеу үшін жалғасты зерттеулерге қолдануға болады.

**Түйін сөздер:** COVID-19, SARS-CoV-2, клондау, рекомбинантты ақуыз.

## **Введение**

Коронавирусная инфекция COVID-19 – это высококонтагиозное инфекционное заболевание, характеризующееся тяжелым острым респираторным синдромом. COVID-19 вызывается новым штаммом коронавируса SARS-CoV-2, который впервые был выявлен в декабре 2019 г. Вирус распространился по всему миру за короткий период времени, вызвав заболевание у более чем 193 миллионов человек и более 4 миллионов смертей [1]. Всемирная организация здравоохранения объявила пандемию 11 марта 2020 г. [2]. В Казахстане вирус впервые был обнаружен 13 марта 2020 года. По состоянию на 27 июля 2021 года в Казахстане зарегистрировано более 600 тысяч случаев заболевания и 5619 смертей [1]. Несмотря на принятые карантинные меры, показатели заболеваемости и смертности от COVID-19 в стране растут.

Для борьбы с распространением инфекции необходимо внедрение эффективной системы

диагностики. Несмотря на быстрый прогресс в разработке и внедрении диагностических ПЦР тест-систем, существует острая клиническая потребность в широком применении экспресс тест-систем, которые могут выявлять вирус на ранних стадиях заболевания за короткий промежуток времени и являются доступными [3-7]. Кроме этого, в борьбе с COVID-19 приоритетной является разработка отечественных тест-систем, поскольку зарубежные аналоги в разы дороже, а также существует зависимость от их поставок. Таким образом, целью данной работы было получение рекомбинантных белков вируса SARS-CoV-2, которые могут быть использованы для разработки тест-систем для выявления антигенов и антител к SARS-CoV-2.

SARS-CoV-2 – это оболочечный несегментированный РНК-содержащий вирус, который принадлежит к бетакоронавирусам семейства *Coronaviridae*. Геном РНК SARS-CoV-2 имеет длину около 29,7 п.н. и имеет 11 открытых рамок считывания (ОРС) [8]. Специфические структур-

ные белки, представленные на поверхности вируса, играют важную роль в патогенезе заболевания, распознавании его иммунными клетками. Данные белки используются в качестве антигенов в диагностике инфекции [9]. Открытые рамки основных структурных белков SARS-CoV-2, а именно спайкового гликопротеина (S), белка нуклеокапсида (N), мембранного или матричного белка (M) и малого трансмембранного белка (E), располагаются в 3'-приближенном участке вирусного генома [10, 11].

В данной работе мы клонировали OPC белков S, M, E и N вируса SARS-CoV-2, экспрессировали их в клетках *Escherichia coli* штамма BL-21(DE3) и оптимизировали очистку наработанных рекомбинантных белков с целью их дальнейшего применения для разработки отечественных тест-систем на основе иммуноферментного анализа.

### Методы

В работе использовали образец РНК, выделенный набором «ОТ-ПЦР-РБ-SARS-CoV-2» (Синтол) из назофарингеального мазка пациента с подтвержденным ПЦР-результатом на COVID-19, для которого прежде методом секвенирования ДНК по Сэнгеру была считана вся структурная область вирусного генома.

**Реакция обратной транскрипции** проводилась с использованием набора SuperScript<sup>TM</sup> IV Reverse Transcriptase (Thermo FS) и гексамерных праймеров Random Hexamer Primer (Thermo FS).

**Аmplификация кДНК** открытых рамок считывания геномной РНК вируса проводилась с использованием высокоточной полимеразы из набора Phusion High-Fidelity PCR Master Mix (Thermo FS). Для амплификации OPC спайк-белка S использовали праймеры “S1\_Trunk\_NheCla\_F” (5'-ttgctagcgcacatgatggttaactctacaaccagaactcaatta) и “S2\_Xho\_Xba\_R”: (5')attctagacctcgagtggccatttatatactgctcactact); для амплификации OPC нуклеопротеина N – праймеры “N\_Nhe\_Cla\_F” (5'-ttgctagcgcacatgatgtctgataatggaccccaaatcagcga) и “N\_Sal\_Xba\_R” (5'-gttctagacgtcgacgtgagtgagtcagcactgctcatgga); для амплификации OPC мембранного белка M – праймеры “M-ER\_Nde\_F” (5'-tgaattccatattggcagattccaacggtact) и “M-Xho\_Kpn\_R” (5'-ttggtaccctactcgagctgtacaagcaagcaatattgtc); для клонирования OPC белка E – праймеры “E-Cla\_Nde\_F” (5'-ttcatcgatgcatatgtactcattcgtttcgg aag) и “E-Kpn\_Sal\_R” (5'-ttggtaccctagtcgaccagaagatcaggaactctagaag). Температурный режим во всех четырех случаях: стадия 1 – 30 сек при 98°C – 1

цикл; стадия 2 – 30 сек. при 98°C, 30 сек. при 60°C, 2 мин. при 72°C – 35 циклов; стадия 3 – 5 мин. при 72°C – 1 цикл.

**Клонирование OPC SARS-CoV-2.** Амплификаты, очищенные из агарозного геля посредством набора DNA Gel extraction Kit (Thermo FS), обрабатывали соответствующими рестрицирующими эндонуклеазами (“CoV2-S” и “CoV2-N” – по NheI/XhoI, “CoV2-M” – по NdeI/XhoI и “CoV2-E” – по NdeI/SalI) и клонировали в вектор для бактериальной экспрессии pET23c под контроль промотора и терминатора фага T7 (в случае OPC белков S и N – по NheI/XhoI; в случае OPC M и E – по NdeI/XhoI). Клонированные участки конструкций были выверены севенированием ДНК по Сэнгеру с использованием набора BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) по методике производителя с последующим анализом на генетическом анализаторе. Капиллярный электрофорез проводили на генетическом анализаторе ABI 3500XL (Life Technologies).

**Экспрессия и выделение рекомбинантных белков.** Плазмидами *pET23c\_SARS-CoV2-S*, *pET23c\_SARS-CoV2-N*, *pET23c\_SARS-CoV2-M* и *pET23c\_SARS-CoV2-E* были трансформированы клетки экспрессионного штамма *E. coli* BL-21(DE3) методом теплового шока. Содержащие плазмиды клетки *E. coli* росли в 200 мл жидкой среды LB при 25 °C до оптической плотности OD<sup>600</sup>=0,5, после чего их осаждали при 4000 g в течение 3 мин, ресуспендировали в 200 мл свежей среды LB, содержащей IPTG, до конечной концентрации 1 mM, и культивировали при 25 °C в течение 4 часов. Выделение рекомбинантных белков, содержащих His-tag, проводилось в нативных (для белка N) и денатурирующих (для белков S, M и E) условиях методом аффинной хроматографии IMAC (immobilized metal ion affinity chromatography) с использованием набора PerfectPro Ni-NTA Agarose (5-Prime) по методике производителя.

**Иммуноблоттинг.** Электрофорез белков проводился в полиакриламидном геле (T = 12,5%, C = 0,5%) в присутствии 0,1% SDS по стандартной методике Лэмли [12]. Гели окрашивались 0,125% раствором Кумасси бриллиантового голубого G-250 (Serva). Перенос белков из ПАА-геля на нитроцеллюлозную мембрану проводили в аппарате для полусухого блоттинга (C.B.S. Scientific) в буфере для переноса (102 mM глицина, 25 mM Трис, 20% (o/o) этанола) при силе тока 0,8 mA см<sup>2</sup> в течение 1 часа. Мембрана

после переноса промывалась дважды по 10 мин в буфере TBS (20 мМ ТрисНCl (pH=7,6), 140 мМ NaCl), дважды по 10 мин – в буфере TBST (TBS + 0,05% Tween-20) и инкубировалась в блокирующем буфере (5% обезжиренное молоко “Sigma” на TBST) в течение ночи при 4°C. После забивки мембрану инкубировали с первыми антителами (Penta-His mouse antibodies (5-Prime) в разведении 1:2000 в блокирующем буфере) в течение 1 часа при комнатной температуре. После трехкратной промывки в TBST по 20 мин мембрана инкубировалась со вторыми антителами (Anti-mouse HRP-conjugate (5-Prime) в разведении 1:2000 в блокирующем буфере) в течение 1 часа при комнатной температуре. После двукратной промывки мембраны по 20 мин в TBST и двукратной промывки по 10 мин в TBS, проводили ее проявку хемилюминесцентным субстратом для пероксидазы набором SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate (Promega), либо хромогенным субстратом с использованием набора Metal Enhanced DAB Substrate Kit (Thermo FS).

**Очистка белков.** Диализ рекомбинантных белков с целью избавления от имидазола или мочевины проводили с использованием диализных мешков (Sigma) против диализного буфера (20 мМ TrisAc pH7,6; 90 мМ KAc; 2 мМ Mg(OAc)<sub>2</sub>)

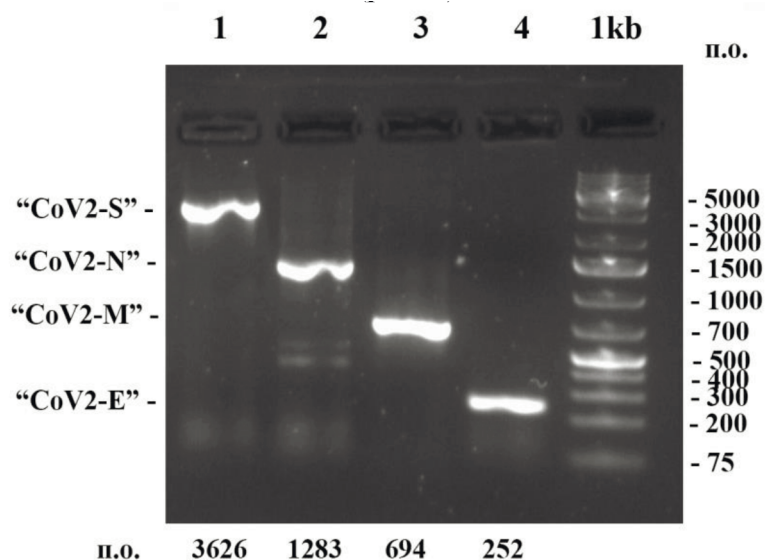
в течение ночи при температуре 4 °С. Концентрирование белков после диализа проводилось путём центрифугирования образцов в колонках с мембраной 10,000 MWCO-НУ (Sartorius) согласно инструкции производителя.

**Концентрацию белка** определяли по Бредфорду в трех повторах с вычислением среднего арифметического значения ( $X_{cp}$ ) и ошибки среднего арифметического ( $m$ ).

**Общие методы** (определение концентрации ДНК, электрофорез ДНК в агарозном геле, приготовление и трансформацию клеток *E. coli*, выделение плазмидной ДНК и др.) проводили согласно стандартным процедурам [13].

### Результаты и обсуждение

Для амплификации OPC структурных белков SARS-CoV-2 в качестве матрицы использовался препарат РНК из назофарингеального мазка, для которого была считана вся структурная область вирусного генома (линия S (B.1.1)) методом секвенирования ДНК по Сэнгеру. С использованием высокоточной полимеразы Phusion и специфических праймеров, содержащих сайты рестрикции для клонирования, были получены амплификаты OPC структурных белков S, M, N и E SARS-CoV-2 (рис. 1).



**Рисунок 1** – Электрофоретический анализ в 1,5% агарозном геле продуктов амплификатов OPC SARS-CoV-2, полученных при использовании полимеразы Phusion Hi-Fi и специфических праймеров. Обозначения: 1 – праймеры “S1\_Trunk\_Nhe-Cla\_F” / “S2\_Xho\_Xba\_R”; 2 – праймеры “N\_Nhe\_Cla\_F” / “N\_Sal\_Xba\_R”; 3 – праймеры “M-ER\_Nde\_F” / M-Xho\_Kpn\_R” 4 – праймеры “E-Cla\_Nde\_F” / “E-Kpn\_Sal\_R”. 1 kb – ДНК-маркер.

Следует отметить, что в случае спайкового белка S амплифицировалась не полнотная ОРС, а усеченная ее область без участков, кодирующих сигнальный пептид, трансмембранный и цитозольный сегменты спайкового белка (т.е. для клонирования использовалась только кДНК, кодирующая участок белка S с экстремембранной локализацией). Амплификаты после их очистки и обработки соответствующими рестрицирующими эндонуклеазами были клонированы в экспрессионный вектор pET23c, позволяющий экспрессировать клонированные в него участки кДНК в клетках бактерий. Клонирование осу-

ществлялось таким образом, чтобы к целевым ОРС с 3'-конца в одной с ними рамке прибавлялись шесть триплетов, кодирующих гистидин. Таким образом, синтезированные в бактериях рекомбинантные белки SARS-CoV-2 содержали на С-конце аминокислотную последовательность из шести гистидинов («6His-tag»), позволяющую достаточно легко и оперативно их выделять методом аффинной хроматографии ИМАС. Карты четырех полученных ДНК-конструкций представлены на рисунке 2. Клонированные участки ДНК были выверены секвенированием по Сэнгеру.

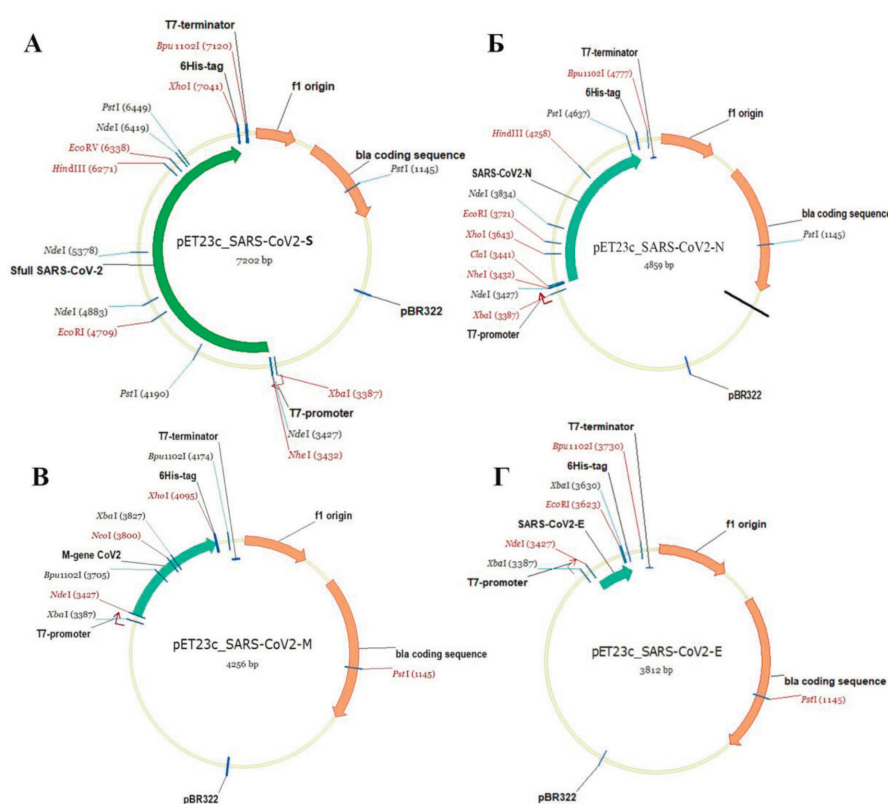


Рисунок 2 – Карты ДНК-конструкций, содержащих ОРС структурных белков S (А), N (Б), М (В) и Е (Г) вируса SARS-CoV-2

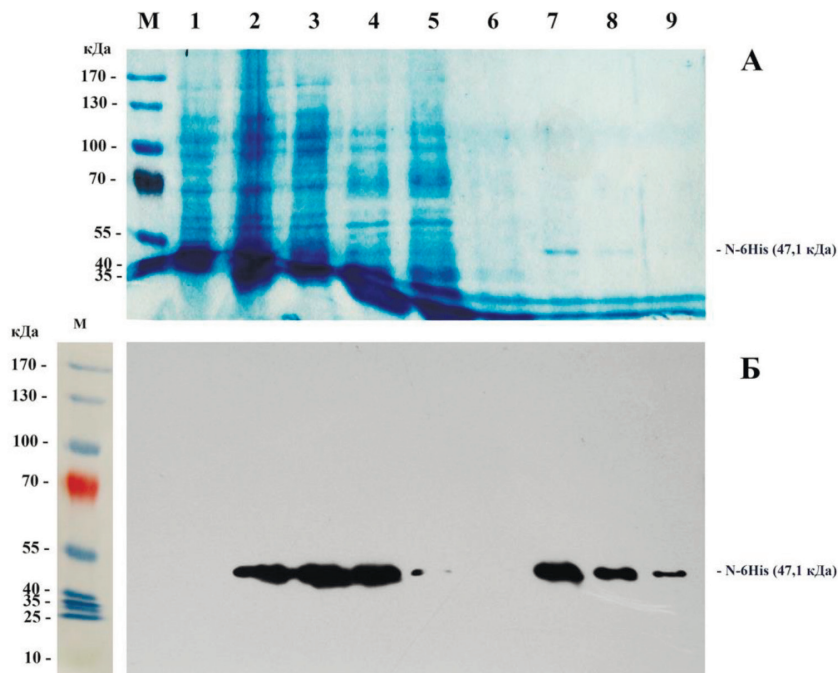
После трансформации клеток экспрессионного штамма *E. coli* BL-21(DE3) сконструированными плазмидами была проведена экспрессия ОРС целевых белков. Следует отметить, что пролиферация клеток, несущих плазмиду *pET23c\_SARS-CoV2-N*, была значительно снижена при температуре выше 30 °С (даже в отсутствии IPTG). До добавления IPTG клетки культивировали при 28 °С, после добавления активатора lac-оперона – при

температуре 25 °С. Незначительной транскрипции с утечкой (leaky) с T7-промотора было достаточно для наработки небольшого количества рекомбинантного белка N-6His, который, вероятно является токсичным для бактерий. Можно также предположить, что токсичное воздействие на клетки *E. coli* оказывают агрегаты N белка вируса SARS-CoV-2, формирующиеся при оптимальной для роста бактерий температуре.

Пролиферация клеток бактерий, трансформированных плазмидами *pET23c\_SARS-CoV2-E* и *pET23c\_SARS-CoV2-M*, была на достаточно высоком уровне до добавления IPTG, но после добавления IPTG к питательной среде оптическая плотность клеточных суспензий не увеличивалась со временем, что указывает на токсичность для бактерий синтезируемых в них вирусных белков М-6His и Е-6His. Для наработки этих белков в ходе оптимизации условий экспрессии кДНК была снижена концентрация IPTG с 0,5 мМ до 0,1 мМ и сокращено время индукции экспрессии кДНК с четырех часов до одного часа.

После наработки рекомбинантных белков в клетках бактерий тестировалась их способность переходить в растворимую форму. Лишь рекомбинантный белок N-6His детектировался в су-

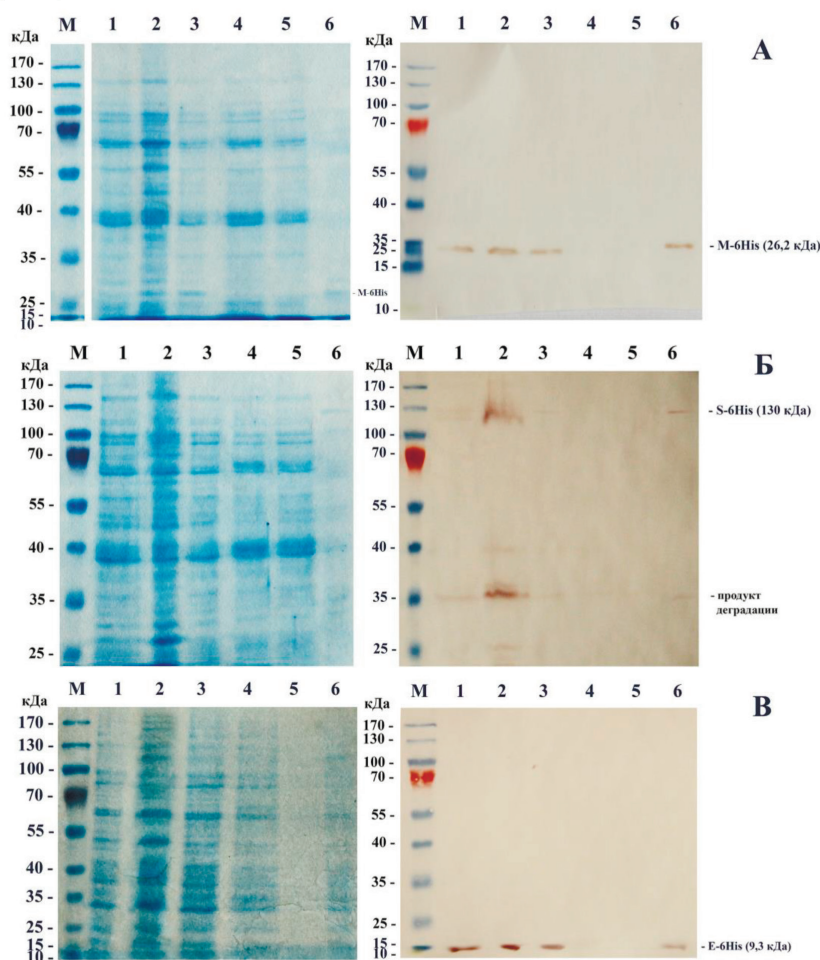
пернатанте после лизиса бактерий и центрифугирования лизата при 20000 g в течение 20 минут. Белки S-6His, М-6His и Е-6His неизменно локализовались в осадке (т.е. формировали нерастворимые тельца включения или ассоциировались с мембранами) и практически отсутствовали в надосадочной жидкости (данные не представлены). При добавлении к лизирующему раствору детергентов (1% Tween-20, 1% Triton X-100 либо 1% SDS) доля S-6His переходила в растворимую фракцию, но при этом формировались димеры и другие агрегаты (данные не представлены). В случае же белков М-6His и Е-6His, добавление детергентов к лизирующему раствору не оказало влияние на их солюбилизацию. Таким образом, только белок N-6His удалось выделить методом ИМАС в нативных условиях (рис. 3).



**Рисунок 3** – Электрофореграмма (А) и вестерн-блот анализ фракций (Б) рекомбинантного нуклеокапсидного белка N SARS-CoV-2, несущего 6His-tag на С-конце (N-6His), в ходе его очистки методом ИМАС-хроматографии в нативных условиях из лизата клеток *E. coli*. Обозначения: М – белковый маркер; 1 – отрицательный контроль (лизат бактерий, содержащих пустой вектор рЕТ23с); 2 – лизат бактерий после экспрессии кДНК CoV2-N-6His; 3 – осадок лизата; 4 – супернатант лизата до связывания с Ni-NTA агарозой; 5 – супернатант лизата после пропускания через Ni-NTA агарозу; 6 – препарат белков, смывтых с Ni-NTA агарозы промывочным буфером; 7, 8 и 9 – препараты белков, элюированных с колонки с Ni-NTA агарозой буфером, содержащим 20 мМ имидазола (1-я, 2-я и 3-я фракции соответственно).

Белки S-6His, М-6His и Е-6His были очищены на Ni-NTA агарозу в денатурирующих условиях (рис. 4).

х (рис. 4).



**Рисунок 4** – Электрофореграмма (А) и вестерн-блот анализ (Б) фракций рекомбинантных белков, несущих 6His-tag на С-конце, в ходе их очистки методом ИМАС-хроматографии в денатурирующих условиях из лизата клеток *E. coli*. Обозначения: М – белковый маркер; 1 – лизат бактерий после экспрессии соответствующих кДНК; 2 – осадок лизата; 3 – супернатант лизата до связывания с Ni-NTA агарозой (pH = 8,0); 4 – супернатант лизата после пропускания через Ni-NTA агарозу (pH = 8,0); 5 – препарат белков, смытых с Ni-NTA агарозы промывочным буфером (pH = 6,3); 6 – препарат белков, элюированных с колонки с Ni-NTA агарозой элюирующим буфером (pH = 5,9).

Элюированные с Ni-NTA агарозы белки очищали диализом для того, чтобы избавиться от содержащегося в них имидазола или денатурирующих агентов, а также, чтобы скорректировать их pH до 7,5. По данным денситометрического анализа (выполненного в программе ImageJ), относительно чистым препаратом оказался только препарат N-6His, выделенный в нативных условиях (содержание целевого белка приближалось к 80%). Белок S-6His подвергался в ходе выделения деградации, поэтому в элюате доля полнодлинного белка не превышала 20%. Для повышения доли полнодлинного рекомбинантного белка нами были использованы концен-

трирующие центрифужные колонки с высокой степенью отсечки (более 30 кДа). При этом, использование для элюции с Ni-NTA колонки элюирующего буфера с более низким значением pH (pH = 4,5) позволяло повысить выход целевого белка, но при дальнейшем диализе и концентрировании таких элюатов наблюдалась олигомеризация белков (данные не представлены).

В случае выделения белков M-6His и E-6His нам не удалось получить достаточно чистых препаратов (содержание целевых белков в элюатах в обоих случаях было ниже 10%). Следует отметить, что мембранный белок М и порообразующий белок E SARS-CoV-2 являются токсичны-



ми даже для эукариотических клеток, поскольку способны запускать каскады апоптоза [14, 15]. Таким образом можно предположить, что М-6Нis и Е-6Нis белки не были наработаны в достаточном количестве в силу своей токсичности для клеток *E. coli* [16]. Более чистые препараты этих белков могут быть получены при использовании повторной очистки элюатов на Ni-NTI агарозу, либо при использовании в качестве продуцентов клетки экспрессионного штамма ArcticExpress (DE3), позволяющие осуществлять наработку рекомбинантных белков при относительно низкой температуре (10-12 °С). Следует отметить, что для получения поликлональных антител достаточно использовать вырезанные из полиакриламидного геля полосы заданных размеров рекомбинантных М-6Нis и Е-6Нis белков SARS-CoV-2, полученных вышеописанным способом.

При этом, полученный нами чистый препарат N-6Нis имеет высокий потенциал для дальнейшего использования в качестве антигена при разработке тест-систем. Кроме того, данный белок является перспективным кандидатом для его использования в иммуоферментных тест-системах в связи с его функциональными особенностями [17]. Известно, что N-белки некоторых коронавирусов, включая коронавирус мышей [18], Турецкий коронавирус [19], а также коронавирус репродуктивного и респираторного синдрома свиней [20], являются сильными иммуногенами. Также сообщалось, что N белок имеет способность накапливается внутри инфицированных клеток еще до того, как он упаковы-

вается в зрелый вирус [21]. Поэтому N белок является наиболее распространенным белком вируса SARS-CoV-2 и других близкородственных коронавирусов на протяжении всей инфекции [22], вероятно, потому что его мРНК является наиболее распространенной субгеномной РНК [23-25].

### Заключение

Таким образом нами были успешно клонированы и экспрессированы в клетках *E. coli* OPC структурных белков S, М, Е и N вируса SARS-CoV-2, а также апробированы методы выделения кодируемых ими рекомбинантных белков. Разработанные в ходе выполнения работы методы получения и очистки рекомбинантного белка N-6Нis позволяют получить чистый препарат, который может быть использован для дальнейших исследований его антигенной активности.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках гранта AP09259103 «Выявление геномных и субгеномных характеристик циркулирующих в РК штаммов SARS-CoV-2 для разработки научно-обоснованных подходов к диагностике COVID-19» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

**Конфликт интересов.** Авторы статьи подтверждают отсутствие финансовой или какой-либо иной поддержки исследования или конфликта интересов.

### Литература

1. "Weekly epidemiological update on COVID-19 – 27 July 2021". World Health Organization. Retrieved 28 July 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---27-july-2021>.
2. "WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020". World Health Organization. 11 March 2020. Retrieved 12 March 2020.
3. "COVID-19: Laboratory and diagnosis. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. Interim guidance". World Health Organization. Retrieved 11 September 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays>
4. Alsharif W., Qurashi A. (2021) Effectiveness of COVID-19 diagnosis and management tools: A review. *Radiography (Lond)*, vol. 27, no 2. pp. 682-687.
5. Peña M., Ampuero M., Garcés C., Gaggero A., García P., Velasquez M.S., et al. (2021) Performance of SARS-CoV-2 rapid antigen test compared with real-time RT-PCR in asymptomatic individuals. *Int J Infect Dis.*, vol. 107, pp. 201-204.
6. Baro B., Rodo P., Ouchi D., Bordoy A.E., Saya Amaro E.N., Salsench S.V., et al. (2021) Performance characteristics of five antigen-detecting rapid diagnostic test (Ag-RDT) for SARS-CoV-2 asymptomatic infection: a head-to-head benchmark comparison. *J Infect.*, vol. 82, no 6, pp. 269-275.
7. La Marca A., Capuzzo M., Paglia T., Roli L., Trenti T., Nelson S.M. (2020) Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. *Reprod. Biomed. Online.*, vol. 41, no 3, pp. 483-499.
8. ul Qamar M.T., Alqahtani S.M., Alamri M.A., Chen L-L. (2020) Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *J. Pharm. Anal.*, vol. 10, no 4, pp. 313-319.

9. Pal M., Berhanu G., Desalegn C., Kandi V. (2020) Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2): An Update. *Cureus*, vol. 12, no 3, e7423.
10. Fehr A.R., Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Coronaviruses*. New York: Springer, 2015. pp. 1–23.
11. Schoeman D., Fielding B.C. (2019) Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Viol. J.*, vol. 16, pp.69.
12. Laemmli U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, vol. 227, pp. 680-685.
13. Sambrook J., Russel D.W. Molecular cloning: A laboratory manual: 3 volumes. – Third edition. New-York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 2100 pp.
14. Yoshimoto F.K. (2020) The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19. *Protein J.*, vol. 39, pp. 198–216.
15. Tsoi H., Li L., Chen Z.S., Lau K-F., Tsui S.K.W., Chan H.Y.E. (2014) The SARS-coronavirus membrane protein induces apoptosis via interfering with PDK1-PKB/Akt signalling. *Biochem. J.*, vol. 464, pp. 439–447.
16. Liao Y., Lescar J., Tam J.P., Liu D.X. (2004) Expression of SARS-coronavirus envelope protein in *Escherichia coli* cells alters membrane permeability. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 325, no 1, pp. 374-380.
17. Oliveira S.C., de Magalhães M.T.Q., Homan E.J. (2020) Immunoinformatic Analysis of SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein and Identification of COVID-19 Vaccine Targets. *Front. Immunol.*, vol. 11, pp. 587615.
18. Wage H., Schliephake A., Korner H., Flory E., Wage H. (1993) An immunodominant CD4+ T cells site on the nucleocapsid protein of murine coronavirus contributes to protection against encephalomyelitis. *J. Gen. Virol.*, vol. 74, pp. 1287–1294.
19. Akin A., Lin T.L., Wu C.C., Bryan T.A., Hooper T., Schrader D. (2001) Nucleocapsid protein gene sequence analysis reveals close genomic relationship between Turkey coronavirus and avian infectious bronchitis virus. *Acta. Virol.*, vol. 45, pp. 31–38.
20. Casal J.I., Rodriguez M.J., Sarraseca J., Garcia J., Plana-Duran J., Sanz A. (1998) Identification of a common antigenic site in the nucleocapsid protein of European and North American isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Adv. Exp. Med. Biol.*, vol. 440, pp. 469–477.
21. Collisson E.W., Pei J., Dzielawa J., Seo S.H. (2000) Cytotoxic T lymphocytes are critical in the control of infectious bronchitis virus in poultry. *Dev. Comput. Immunol.*, vol. 24, pp. 187–200.
22. Bai Z., Cao Y., Liu W., Li J. (2021) The SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein and Its Role in Viral Structure, Biological Functions, and a Potential Target for Drug or Vaccine Mitigation. *Viruses*, vol. 13, no 6, pp. 1115.
23. Hiscox J.A., Caavanagh D., Britton P. (1995) Quantification of individual subgenomic mRNA species during replication of the coronavirus transmissible gastroenteritis. *Virus. Res.*, vol. 36, pp. 119–130.
24. Keck J.G., Hogue B.G., Brian D.A., Lai M.M.C. (1988) Temporal regulation of bovine coronavirus RNA synthesis. *Virus. Res.*, vol. 9, pp. 343–356.
25. Dutta N.K., Mazumdar K., Gordy J.T. (2020) The Nucleocapsid Protein of SARS-CoV-2: a Target for Vaccine Development. *J. Virol.*, vol. 94, no 13, e00647-20.

## References

1. “Weekly epidemiological update on COVID-19 – 27 July 2021”. World Health Organization. Retrieved 28 July 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---27-july-2021>.
2. “WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020”. World Health Organization. 11 March 2020. Retrieved 12 March 2020.
3. “COVID-19: Laboratory and diagnosis. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. Interim guidance”. World Health Organization. Retrieved 11 September 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays>
4. Alsharif W., Qurashi A. (2021) Effectiveness of COVID-19 diagnosis and management tools: A review. *Radiography (Lond)*, vol. 27, no 2. pp. 682-687.
5. Peña M., Ampuero M., Garcés C., Gaggero A., García P., Velasquez M.S., et al. (2021) Performance of SARS-CoV-2 rapid antigen test compared with real-time RT-PCR in asymptomatic individuals. *Int J Infect Dis.*, vol. 107, pp. 201-204.
6. Baro B., Rodo P., Ouchi D., Bordoy A.E., Saya Amaro E.N., Salsench S.V., et al. (2021) Performance characteristics of five antigen-detecting rapid diagnostic test (Ag-RDT) for SARS-CoV-2 asymptomatic infection: a head-to-head benchmark comparison. *J Infect.*, vol. 82, no 6, pp. 269-275.
7. La Marca A., Capuzzo M., Paglia T., Roli L., Trenti T., Nelson S.M. (2020) Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. *Reprod. Biomed. Online.*, vol. 41, no 3, pp. 483-499.
8. ul Qamar M.T., Alqahtani S.M., Alamri M.A., Chen L-L. (2020) Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *J. Pharm. Anal.*, vol. 10, no 4, pp. 313-319.
9. Pal M., Berhanu G., Desalegn C., Kandi V. (2020) Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2): An Update. *Cureus*, vol. 12, no 3, e7423.
10. Fehr A.R., Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Coronaviruses*. New York: Springer, 2015. pp. 1–23.

11. Schoeman D., Fielding B.C. (2019) Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Viol. J.*, vol. 16, pp.69.
12. Laemmli U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, vol. 227, pp. 680-685.
13. Sambrook J., Russel D.W. Molecular cloning: A laboratory manual: 3 volumes. – Third edition. New-York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 2100 pp.
14. Yoshimoto F.K. (2020) The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19. *Protein J.*, vol. 39, pp. 198–216.
15. Tsoi H., Li L., Chen Z.S., Lau K-F., Tsui S.K.W., Chan H.Y.E. (2014) The SARS-coronavirus membrane protein induces apoptosis via interfering with PDK1-PKB/Akt signalling. *Biochem. J.*, vol. 464, pp. 439–447.
16. Liao Y., Lescar J., Tam J.P., Liu D.X. (2004) Expression of SARS-coronavirus envelope protein in Escherichia coli cells alters membrane permeability. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 325, no 1, pp. 374-380.
17. Oliveira S.C., de Magalhães M.T.Q., Homan E.J. (2020) Immunoinformatic Analysis of SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein and Identification of COVID-19 Vaccine Targets. *Front. Immunol.*, vol. 11, pp. 587615.
18. Wage H., Schliephake A., Korner H., Flory E., Wage H. (1993) An immunodominant CD4+ T cells site on the nucleocapsid protein of murine coronavirus contributes to protection against encephalomyelitis. *J. Gen. Virol.*, vol. 74, pp. 1287–1294.
19. Akin A., Lin T.L., Wu C.C., Bryan T.A., Hooper T., Schrader D. (2001) Nucleocapsid protein gene sequence analysis reveals close genomic relationship between Turkey coronavirus and avian infectious bronchitis virus. *Acta. Virol.*, vol. 45, pp. 31–38.
20. Casal J.I., Rodriguez M.J., Sarraseca J., Garcia J., Plana-Duran J., Sanz A. (1998) Identification of a common antigenic site in the nucleocapsid protein of European and North American isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Adv. Exp. Med. Biol.*, vol. 440, pp. 469–477.
21. Collisson E.W., Pei J., Dzielawa J., Seo S.H. (2000) Cytotoxic T lymphocytes are critical in the control of infectious bronchitis virus in poultry. *Dev. Comput. Immunol.*, vol. 24, pp. 187–200.
22. Bai Z., Cao Y., Liu W., Li J. (2021) The SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein and Its Role in Viral Structure, Biological Functions, and a Potential Target for Drug or Vaccine Mitigation. *Viruses*, vol. 13, no 6, pp. 1115.
23. Hiscox J.A., Caavanagh D., Britton P. (1995) Quantification of individual subgenomic mRNA species during replication of the coronavirus transmissible gastroenteritis. *Virus. Res.*, vol. 36, pp. 119–130.
24. Keck J.G., Hogue B.G., Brian D.A., Lai M.M.C. (1988) Temporal regulation of bovine coronavirus RNA synthesis. *Virus. Res.*, vol. 9, pp. 343–356.
25. Dutta N.K., Mazumdar K., Gordy J.T. (2020) The Nucleocapsid Protein of SARS-CoV-2: a Target for Vaccine Development. *J. Virol.*, vol. 94, no 13, e00647-20.

<sup>1</sup>C.A. Nadirova \*, <sup>2</sup>Yu.A. Sinyavskiy , <sup>3</sup>R.S. Utegalieva ,

<sup>1</sup>E.Zh. Gabdullina , <sup>4</sup>S.N. Abdreshov 

<sup>1</sup>Almaty Technological University, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>Kazakh Academy of Nutrition, Kazakhstan, Алматы

<sup>3</sup>Kazakh National Women's Pedagogical University, Kazakhstan, Алматы

<sup>4</sup>Republican State enterprise on the Right of economic management "Institute of genetics and physiology" of the Committee of science of the Ministry of education and science of the Republic of Kazakhstan, Kazakhstan, Алматы

\*e-mail: sanama\_777@mail.ru

## MOLECULAR GENETIC IDENTIFICATION OF BACTERIA ISOLATED FROM GOAT MILK

In recent years there has been a steady trend towards an increase in the number of studies on the study of probiotics, which have a beneficial effect on the body: improve the intestinal microflora; contribute to the reduction of pathogenic bacteria; have the ability to produce substances with antimicrobial activity. In order to obtain probiotics from domestic raw materials, molecular genetic identification of bacterial strains was carried out. The object for the isolation of lactic acid bacteria was natural goat milk from the Almaty region. Identification of bacterial strains was carried out on an ABI 3500 xL genetic analyzer (Applied Biosystems) using 16S primers 8F and 806R at the Scientific and Practical Center for Microbiology and Virology (Almaty). Phylogenetic analysis was performed using MEGA 6 software. Nucleotide sequence alignment was performed using the ClustalW algorithm. The results were obtained using the method of determining the direct nucleotide sequence of the 16S rRNA gene fragment, followed by comparison of the nucleotide identity with the sequences deposited in the international GenBank database. According to the results of the studies, the isolated strains of lactic acid bacteria according to the GenBank database were assigned to *Lactobacillus fermentum* (identity above 99.73%). These strains of microorganisms isolated from goat's milk may be promising for the production of domestic food products. On their basis it is proposed to create fermented milk products for preventive purposes.

**Key words:** molecular genetic identification; phylogenetic analysis; goat milk; lactic acid bacteria; strains; probiotics; dairy products.

<sup>1</sup>С.А. Надирова\*, <sup>2</sup>Ю.А.Синявский, <sup>3</sup>Р.С. Утегалиева, <sup>1</sup>Е.Ж.Габдуллина, <sup>4</sup>С.Н. Абдрешов

<sup>1</sup>Алматы технологиялық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>Қазақ тағамтану академиясы, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>Қазақ ұлттық қыздар педагогикалық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>4</sup>Қазақстан Республикасы білім және ғылым министрлігі ғылым комитетінің «Генетика және физиология институты» ШЖҚ РМҚ, Қазақстан, Алматы

\*e-mail: sanama\_777@mail.ru

### Ешкі сүтінен бөлінген бактериялардың молекулалық-генетикалық идентификациясы

Соңғы жылдары ағзаға пайдалы әсер ететін пробиотиктер бойынша зерттеулерді арттырудың тұрақты үрдісі байқалады: ішек микрофлорасын жақсарту; патогендік бактериялардың азаюына ықпал ету; микробқа қарсы белсенділігі бар заттарды шығару қабілеті бар. Отандық шикізаттан пробиотиктерді алу үшін бактерия штамдарының молекулалық-генетикалық идентификациясы жүргізілді. Сүт қышқылды бактерияларды бөліп алу объектісі Алматы облысынан табиғи ешкі сүті болды. Бактерия штамдарын анықтау Микробиология және вирусология ғылыми-практикалық орталығында (Алматы) 8F және 806R 16S праймерлерін қолдану арқылы ABI 3500 xL генетикалық анализаторында (Applied Biosystems) жүргізілді. Филогенетикалық талдау MEGA 6 бағдарламалық құралының көмегімен жүргізілді. Нуклеотидтер тізбегін туралау ClustalW алгоритмі арқылы орындалды. Нәтижелер 16S рРНҚ генінің фрагментінің тікелей нуклеотидтер тізбегін анықтау әдісін қолдану арқылы алынды, содан кейін нуклеотидтердің сәйкестігін халықаралық GenBank дерекқорында сақталған тізбектермен салыстыру. Зерттеу нәтижелері бойынша GenBank деректер базасына сәйкес сүт қышқылы бактерияларының оқшауланған штамдары *Lactobacillus fermentum* (идентификатор 99,73%-дан жоғары) болып тағайындалды. Ешкі сүтінен бөлініп алынған микроағзалардың бұл штамдары отандық азық-түлік өнімдерін өндіру үшін перспек-

тивалы болуы мүмкін. Олардың негізінде профилактикалық мақсатта ашытылған сүт өнімдерін жасау ұсынылады.

**Түйін сөздер:** молекулалық-генетикалық идентификация; филогенетикалық талдау; ешкі сүті; сүт қышқылы бактериялары; штаммдар; пробиотиктер; сүт өнімдері.

<sup>1</sup>С.А. Надирова\*, <sup>2</sup>Ю.А. Синявский, <sup>3</sup>Р.С. Утегалиева, <sup>1</sup>Е.Ж. Габдуллина, <sup>4</sup>С.Н. Абдрешов

<sup>1</sup>Алматинский технологический университет, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>Казахская академия питания, Казахстан, г. Алматы

<sup>3</sup>Казахский национальный женский педагогический университет, Казахстан, г. Алматы

<sup>4</sup>РГП на ПХВ «Институт генетики и физиологии» КН МНВО РК, Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: sanama\_777@mail.ru

### Молекулярно-генетическая идентификация бактерий, выделенных из козьего молока

В последние годы имеется устойчивая тенденция к увеличению количества исследований по изучению пробиотиков, которые благотворно влияют на организм: улучшают микрофлору кишечника; способствуют уменьшению патогенных бактерий; обладают способностью продуцировать вещества с антимикробной активностью. С целью получения пробиотиков из отечественного сырья проведена молекулярно-генетическая идентификация штаммов бактерий. Объектом для выделения молочнокислых бактерий было натуральное козье молоко из Алматинской области. Идентификация штаммов бактерий проводилась на генетическом анализаторе марки ABI 3500 xL (Applied Biosystems) с использованием 16S праймеров 8F и 806R в НПЦ микробиологии и вирусологии (г. Алматы). Филогенетический анализ проводили с использованием программного обеспечения MEGA 6. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили, используя алгоритм ClustalW. Результаты получены с помощью метода определения прямой нуклеотидной последовательности фрагмента гена 16S рПНК с последующим сравнением нуклеотидной идентичности с последовательностями, депонированными в международной базе данных GenBank. По результатам проведённых исследований выделенные штаммы молочнокислых бактерий по базе данных GenBank были отнесены к *Lactobacillus fermentum* (идентичность выше 99,73%). Данные штаммы микроорганизмов, выделенные из козьего молока, могут оказаться перспективными для производства пищевых продуктов отечественного производства. На их основе предлагается создание **кисломолочных продуктов профилактического назначения.**

**Ключевые слова:** молекулярно-генетическая идентификация; филогенетический анализ; козье молоко; молочнокислые бактерии; штаммы; пробиотики; кисломолочные продукты.

## Introduction

The demand of the food industry for probiotic preparations is growing every year. The search for new natural antimicrobial substances synthesized by non-pathogenic beneficial microorganisms is an urgent task. Lactic acid bacteria (LAB) are widespread in nature: they can be found in soil, on decomposing animal and plant debris, in the intestines of vertebrate animals, in milk and dairy products. Together with plants and food they enter the gastrointestinal tract of humans and animals, making up its microbiota [1-3]. The main property of LAB, by which they are grouped into a separate large group of microorganisms, is the ability to form lactic acid as the main product of fermentation. Lactic acid fermentation is carried out by bacterial organisms that are heterogeneous in morphology: bacilliform and spherical (spherical or elliptical cocci), belonging to the genera *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*,

*Carnobacterium* [4]. Since ancient times, people have used LAB in the preparation of fermented milk products. Due to the synthesis of antimicrobial metabolites, such as lactic and acetic acids, diacetyl, LAB peroxides inhibit the growth of pathogens. One of the important steps in the search and selection of a strain that is promising for use in the food industry is the determination of its taxonomic affiliation. Correct identification of the strain at the species level allows the researcher to have an idea about the origin, safety, habitat and physiological characteristics of the isolated microorganism [5]. LAB are the bacterial basis of many products, natural inhabitants of the gastrointestinal tract and can serve as bacteriocins and probiotics for use in the food industry. Once in the body, lactic acid bacteria have a detrimental effect on the putrefactive environment and help the beneficial bacteria regenerate. [6-8]. It is known that lactobacilli can have a versatile influence on the biochemical, physiological, neurohumoral and immune processes in human and animal organisms [9, 10]. These bacteria normalize

the content of carbohydrates, cholesterol, bile acids, carry out the synthesis of vitamins and other biologically active compounds. A characteristic property of lactic acid bacteria is their ability to produce substances with antibiotic activity (bacteriocins). The main requirement for probiotic LAB strains is the presence of pronounced antimicrobial activity [11-14]. This allows the use of probiotics to enhance or correct the effects of antibiotics, and in some cases as their alternative. On the basis of a large number of clinical observations it is possible to believe that probiotics are practically irreplaceable in therapy of dysbiotic conditions, Crohn's disease, gastric and duodenal ulcer [15-17].

Yu et al. studied the composition of IBCs of traditional Russian sour-milk products. In their work, they cultured lactic acid bacteria isolated from fermented mare's and cow's milk, sour cream, and cheese collected in Buryatia, Kalmykia, and Tuva. Seven species of lactobacilli and the genus *Bifidobacterium* were identified by quantitative PCR. 599 LAB strains were obtained from these samples using de Mane, Rogoza, Sharpe, and M17 agars. The scientists' results showed that traditional fermented dairy products from different regions of Russia have a diverse species composition of LAB, which may be related to the type of fermented dairy product, geographic origin, and peculiarities of the production process [18]. In addition, lactic acid bacteria are known to produce antimicrobial compounds that are considered to be natural bio-conservatives against foodborne pathogens (Paul et al., 2004). Many strains of *Lactobacillus* have been isolated from the milk of various animals and used as probiotics in food production (19, 20). N.S. Sowmya et al. isolated nine lactic acid bacteria (LAB) from food and fruits and vegetables (beet, mango, banana, pineapple, radish, tomato, milk and watermelon) on de Man Rogoz and Sharp (MRS) agar medium [21]. These bacteria were further identified as *L. fermentum* (3 isolates), *L. buchneri* (4 isolates), *L. brevis* (1 isolate), and *Weissella cibaria* (1 isolate) by the 16S rRNA gene sequence. The genetic diversity of *Lactobacillus* species was analyzed by random amplification of polymorphic DNA (RAPD), and diversity analysis showed differences between *Lactobacillus* species isolated from different sources.

Identification of *Lactobacillus* species can be performed by morphological and biochemical features, but the molecular method (16S rRNA gene sequence) proved to be more convenient to use and useful for microorganism identification. The aim of this study was the molecular genetic identification of microorganisms isolated from goat milk of Almaty region, capable of exhibiting antagonistic activity by analyzing the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene for the development of technology of dairy products of domestic production.

### Materials and methods

Genomic DNA was isolated from daily cultures of bacteria isolated from the milk of locally produced Zaan goats using the PureLink Genomic DNA Kit according to the manufacturer's protocol (Invitrogen, Carlsbad, USA). DNA concentration in the test samples was determined on a Qubit® 2.0 fluorimeter using the Qubit™ dsDNA HS Assay Kit (Life Technologies, Oregon, USA). The product was purified using CleanSweep™ PCR Purification reagent (Life Technologies, Carlsbad, CA). 16S rRNA gene fragments were sequenced using the Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA) according to the manufacturer's protocol (BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit Protocol Applied Biosystems, USA), followed by fragment separation on a 3500 DNA Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Hitachi, Tokyo Japan).

The sequencing results were processed using the SeqA program (Applied Biosystems); the search for homologous nucleotide sequences of 16S rRNA genes was performed using the BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) program in the International Gene Bank database (US National Center for Biotechnology Information) [22]. The phylogenetic tree was constructed using the MEGA 6 program [23]. Nucleotide sequences were aligned using the ClustalW algorithm. The BLASTN Neighbor-Joining (NJ) method was used to construct phylogenetic trees [24].

### Results

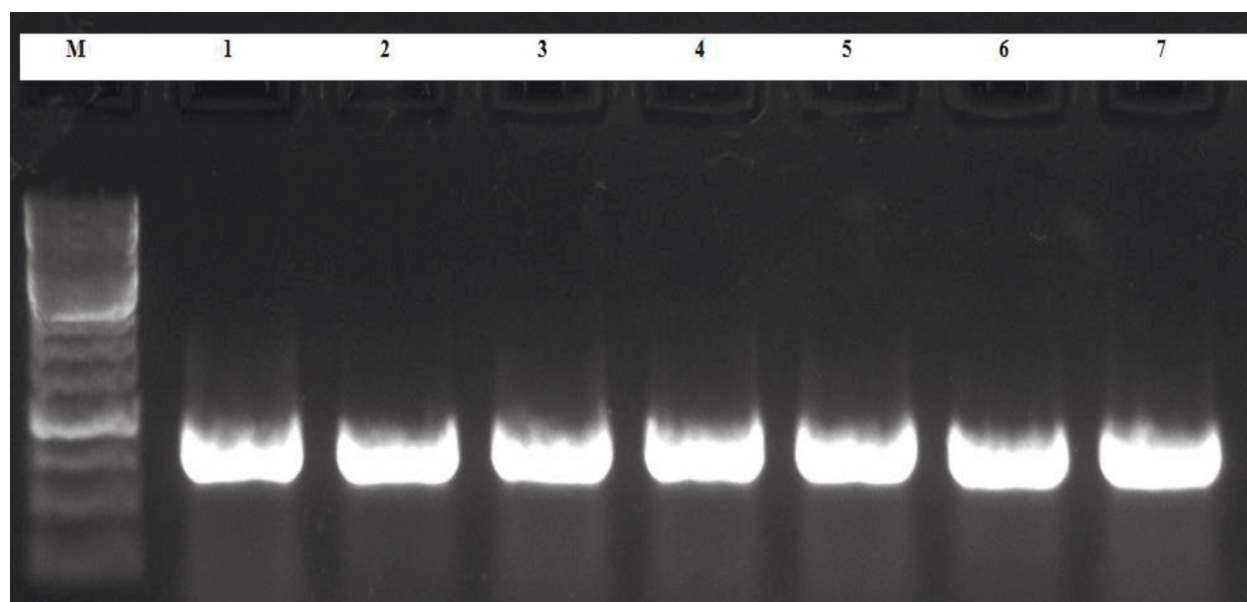
The DNA concentration according to the readings of the Qubit fluorimeter is demonstrated in Table 1.

**Table 1** – The DNA concentration according to the readings of the Qubit fluorometer

№ п/п	Sample name	Concentration, ng/μl
1	2	44,0
2	4	81,2
3	5	69,0
4	8	78,0
5	10	66,4
6	14	48,8
7	16	16,0

A fragment of the 16S rRNA gene, about 600 bp in size, was amplified from the obtained DNA by

PCR. The results of sample amplification are demonstrated in Figure 1.



**Figure 1** – PCR – product obtained with universal primers to the 16S rRNA region of the gene  
*Note:* 1-7 samples; M – O'GeneRuler 1 kb DNA Ladder length marker.

After the sequencing reaction, the PCR product was purified a second time with the BigDye XTerminator Purification Kit and loaded into an ABI 3500 genetic analyzer for capillary phoresis.

The nucleotide sequences of the 16S rRNA gene of the identified strains were analyzed and combined into a common sequence in the SeqA software

(Applied Biosystems). After obtaining a nucleotide sequence of about 600 bp, identification was carried out in the GeneBank International Database using the BLAST algorithm.

Nucleotide sequences and the results of phylogenetic analysis of the 16S rRNA gene sequences of the studied strains are presented as trees constructed

in the MEGA6 program using the Neiighbor-Joining cluster method for calculating genetic distances.

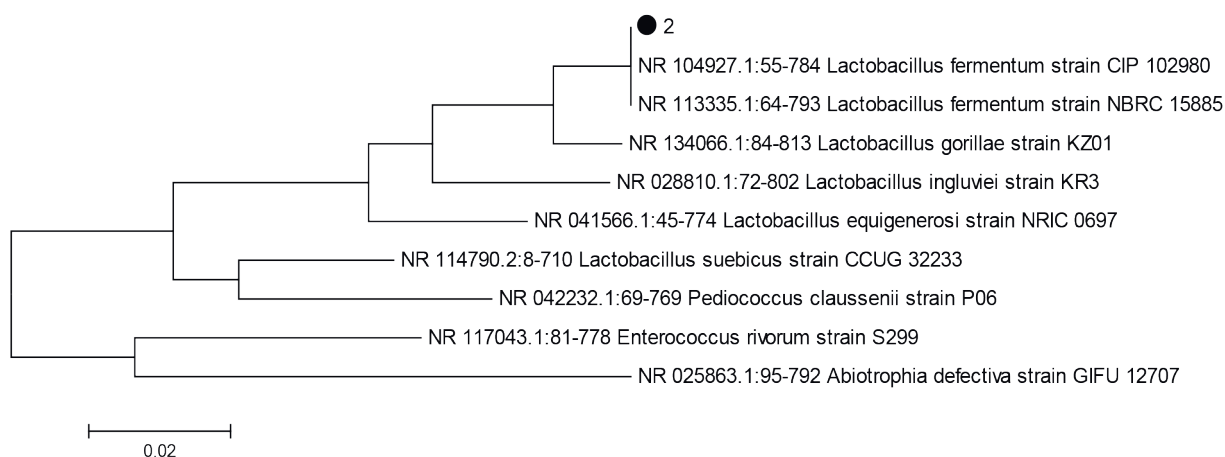
### *Lactic acid bacteria:*

#### 2 – *Lactobacillus fermentum*

Nucleotide sequence:

TGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCC  
AACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGT  
AGGTAACCTGCCAGAAGCGGGGACAAC  
ATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAAC  
AACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAG  
ATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGAC  
CTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAA  
CGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGA  
GTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACT

GAGACACGGCCCATACTCCTACGGGAGGC  
AGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCA  
AGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGA  
AGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTG  
TTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGT  
TCATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGT  
CACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT  
AATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATT  
TATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTT  
TCTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTA  
ACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAA  
CTTGAGTGCAGAAGAGGGTGTGGAECTCC  
ATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATG  
GAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTACC  
TGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAG  
CATGGGTAGCGAACAGGA



**Figure 2** – Phylogenetic tree constructed based on the analysis of the 16S rRNA gene fragment showing the relationship of *Lactobacillus fermentum* 2 to *Lactobacillus fermentum* strain CIP 102980

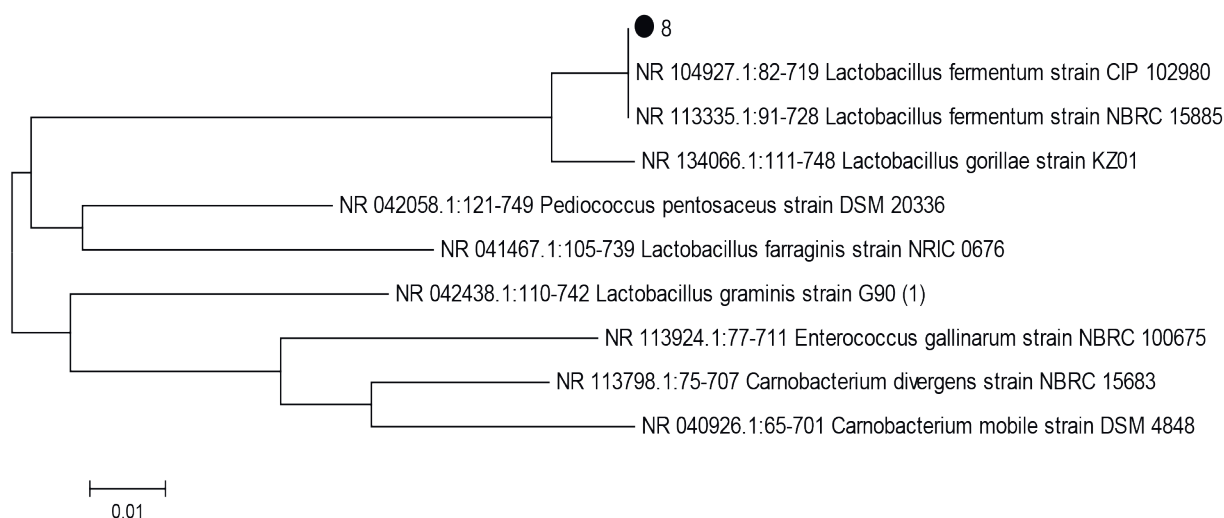
#### 4 – *Lactobacillus fermentum*

Nucleotide sequence:

TGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTC-  
GCCAACGAGTGGCGGACGGGTGAG-  
TAACACGTAGGTAACCTGCCAGAAGC-  
GGGGGACAACATTTGGAAACAGAT-  
GCTAATACCGCATAACAACGTTGTTC-  
GCATGAACAACGCTTAAAAGATGG-  
CTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCT-  
GCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGG-  
TAACGGCCTACCAAGGCGATGATG-  
CATAGCCGAGTTGAGAGACTGATC-  
GGCCACAATGGGACTGAGACACG-  
GCCATACTCCTACGGGAGGCAG-  
CAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCG-

CAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGT-  
GAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTC-  
TATTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGA-  
GTAAGTGTTCATACGTTGACGGTATT-  
TAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGT-  
GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTG-  
GCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTA-  
AAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCT-  
GATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGA-  
AGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGT-  
GCAGAAGAGGGTAGTGGAACTCCATGT-  
GTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATG-  
GAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGC-  
TACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTC-  
GAAAGCATGGGTAGCGAACAGGA





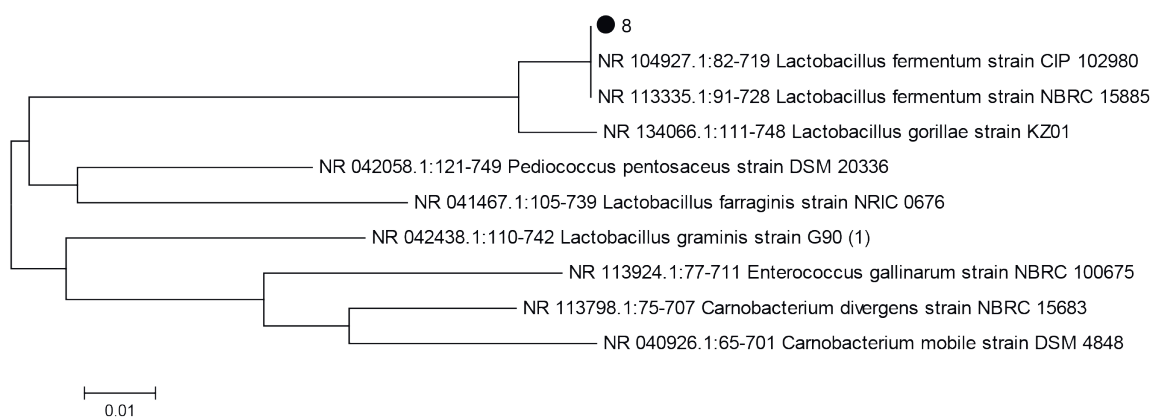
**Figure 3** – Phylogenetic tree built on the basis of the analysis of the 16S rRNA gene fragment showing the relationship of *Lactobacillus fermentum 4* with *Lactobacillus fermentum strain CIP 102980*

**8 – *Lactobacillus fermentum***

Nucleotide sequence:

CAACGAGTGGCGGACGGGTGAG-  
 TAACACGTAGGTAACCTGCCAGAAAGC-  
 GGGGACAACATTTGGAAACAGATGC-  
 TAATACCGCATAACAACGTTGTTTCGCAT-  
 GAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTC-  
 GCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTG-  
 CATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTAC-  
 CAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGA-  
 GACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGA-  
 CACGGCCATACTCCTACGGGAGGCAG-  
 CAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCG-

CAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGT-  
 GAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCT-  
 GTTGTAAAGAAGAACACGTATGAGAG-  
 TAACTGTTTCATACGTTGACGGTATTTAAC-  
 CAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAG-  
 CAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGC-  
 GTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGA-  
 GTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGATGT-  
 GAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGT-  
 GCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTG-  
 CAGAAGAGGGTAGTGGAACTCCATGT-  
 GTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATG-  
 GAAGAACACCAG



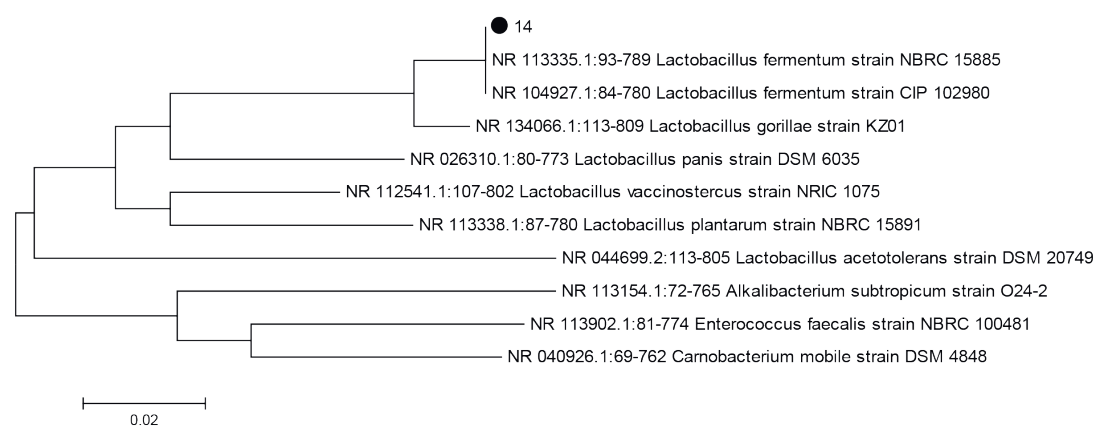
**Figure 4** – Phylogenetic tree built on the basis of the analysis of the 16S rRNA gene fragment showing the relationship of *Lactobacillus fermentum 8* with *Lactobacillus fermentum strain CIP 102980*

**14 – *Lactobacillus fermentum***

Nucleotide sequence:

ACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAA-  
 CACGTAGGTAACCTGCCAGAAGC-  
 GGGGACAACATTTGGAAACAGATGC-  
 TAATACCGCATAACAACGTTGTTTCGCAT-  
 GAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTC-  
 GCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTG-  
 CATTAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTAC-  
 CAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGA-  
 GACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGA-  
 CACGGCCCATACTCCTACGGGAGGCAG-  
 CAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCG-  
 CAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGT-

GAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCT-  
 GTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAG-  
 TAACTGTTTCATACGTTGACGGTATTTAAC-  
 CAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAG-  
 CAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGC-  
 GTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGA-  
 GTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGATGT-  
 GAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGT-  
 GCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGT-  
 CAGAAGAGGGTAGTGGAACCTCCATGT-  
 GTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATG-  
 GAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGC-  
 TACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTC-  
 GAAAGCATGGGTAGCGAAC



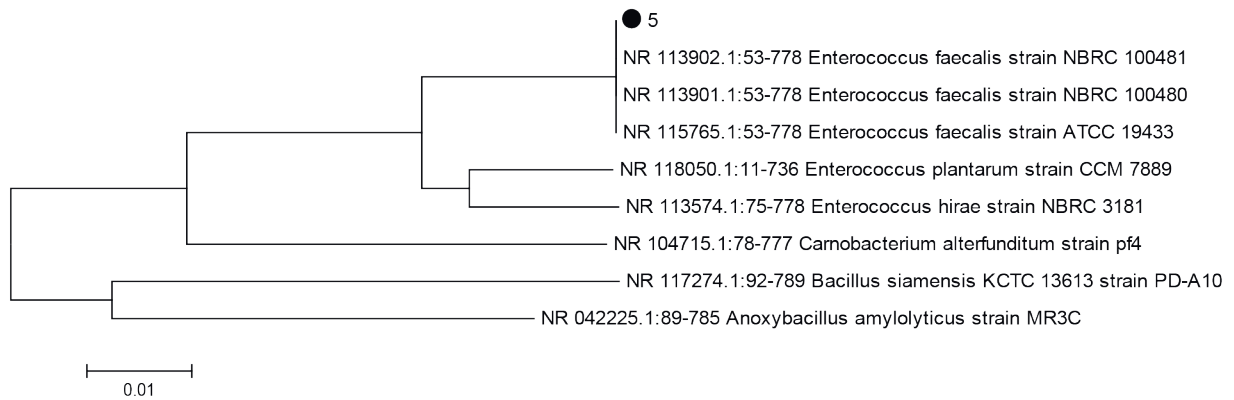
**Figure 5** – Phylogenetic tree constructed based on the analysis of the 16S rRNA gene fragment showing the relationship of *Lactobacillus fermentum* 14 to *Lactobacillus fermentum* strain NBRC 15885

**5 – *Enterococcus faecalis***

Nucleotide sequence:

CCGAGTGCTTGCACTCAATTG-  
 GAAAGAGGAGTGGCGGACGGGTGAG-  
 TAACAAGTGGGTAACTACCCAT-  
 CAGAGGGGGATAAACAATTGGAAACAG-  
 GTGCTAATACCGCATAACAGTTTATGC-  
 CGCATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTT-  
 CGGGTGTGCTGATGGATGGACCCGCGGT-  
 GCATTAGCTAGTTGGTGGAGTAACGGCT-  
 CACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCT-  
 GAGAGGGTGGTGGGCAACTGGGACT-  
 GAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAG-  
 GCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATG-  
 GACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGC-

GTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTA-  
 AACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGAC-  
 GTTAGTAAGTGAACGTCCCCTGACGG-  
 TATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTAC-  
 GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG-  
 GTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGC-  
 GTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTCTTA-  
 AGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAAC-  
 CGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGA-  
 CTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTG-  
 GAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCG-  
 TAGATATATGGAGGAACACCAGTGGC-  
 GAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTAC-  
 GCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAA-  
 CAGGA



**Figure 6** – Phylogenetic tree constructed based on the analysis of the 16S rRNA gene fragment of *Enterococcus faecalis*

The degree of homology with the nearest strain NR 113902.1:53-778 *Enterococcus faecalis* strain NBRC 100481 was 100.00%.

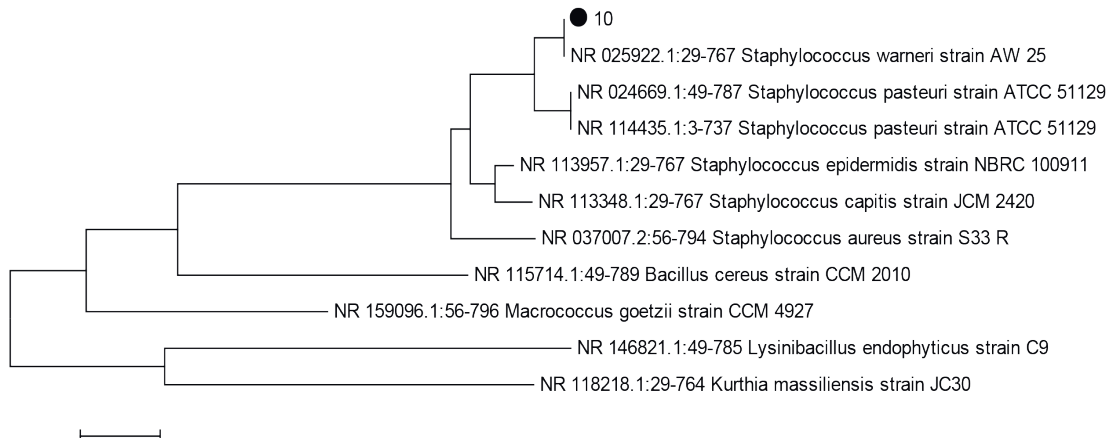
**Catalase positive bacteria:**

**10 – *Staphylococcus warneri***

Nucleotide sequence:

T G C A G T C G A G C G A A C A G A T A -  
 A G G A G C T T G C T C C T T T G A C G T T A G C G -  
 G C G G A C G G G T G A G T A A C A C G T G G A T A -  
 A C C T A C C T A T A A G A C T G G G A T A A C T T C -  
 G G G A A A C C G G A G C T A A T A C C G G A T A A -  
 C A T A T T G A A C C G C A T G G T T C A A T A G -  
 T G A A A G G C G G C T T T G C T G T C A C T T A T A G -  
 A T G G A T C C G C G C C G T A T T A G C T A G T T G -  
 G T A A G G T A A C G G C T T A C C A A G G C A A C -  
 G A T A C G T A G C C G A C C T G A G A G G G T -

G A T C G G C C A C A C T G G A A C T G A G A C A C -  
 G G T C C A G A C T C C T A C G G G A G G C A G -  
 C A G T A G G G A A T C T T C C G C A A T G G G C -  
 G A A A G C C T G A C G G A G C A A C G C C G C G T -  
 G A G T G A T G A A G G T C T T C G G A T C G T A -  
 A A A C T C T G T T A T C A G G G A A G A A C A A A T -  
 G T G T A A G T A A C T G T G C A C A T C T T G A C G G -  
 T A C C T G A T C A G A A G C C A C G G C T A A C T A C -  
 G T G C C A G C A G C C G C G G T A A T A C G T A G G T G -  
 G C A A G C G T T A T C C G G A A T T A T T G G G C G T A -  
 A A G C G C G C G T A G G C G G T T T T T T A A G T C T -  
 G A T G T G A A A G C C A C G G C T C A A C C G T G -  
 G A G G G T C A T T G G A A A C T G G A A A A C T T -  
 G A G T G C A G A A G A G G A A A G T G G A A T T C -  
 C A T G T G T A G C G G T G A A A T G C G C A G A G A -  
 T A T G G A G G A A C A C C A G T G G C G A A G G C -  
 G A C T T T C T G G T C T G T A A C T G A C G C T G A T G T -  
 G C G A A A G C G T G G G G A T C A A A C A G G A



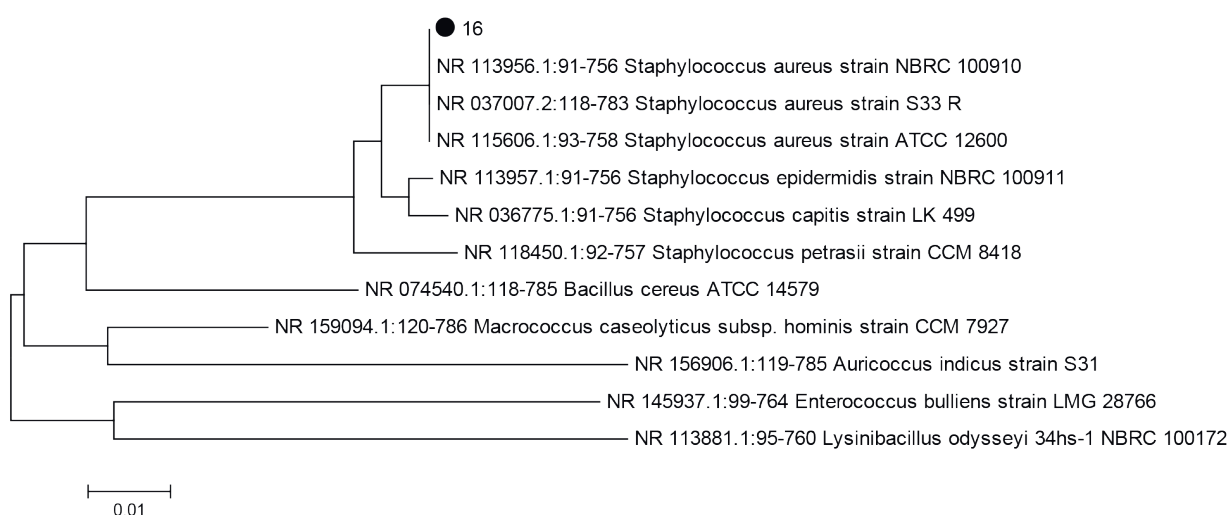
**Figure 7** – Phylogenetic tree constructed based on the analysis of the 16S rRNA gene fragment of *Staphylococcus warneri* 10  
 The degree of homology with the nearest strain NR 025922.1:29-767 *Staphylococcus warneri* strain AW 25 was 99.73%.

**16 – *Staphylococcus aureus***

Nucleotide sequence:

ACACGTGGATAACCTACCTATA-  
 AGACTGGGATAACTTCGGGAAACCG-  
 GAGCTAATACCGGATAATATTTGAACC-  
 GCATGGTTCAAAGTGAAAGACGGTCTT-  
 GCTGTCACCTTATAGATGGATCCGCGCT-  
 GCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACG-  
 GCTTACCAAGGCAACGATGCATAGCC-  
 GACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTG-  
 GAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTAC-  
 GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTC-  
 CGCAATGGGCGAAAGCCTGACG-  
 GAGCAACGCCCGCTGAGTGAT-

GAAGGTCTTCGGATCGTAAAACCTCTGT-  
 TATTAGGGAAGAACATATGTGTAAGTA-  
 ACTGTGCACATCTTGACGGTACCTAAT-  
 CAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAG-  
 CAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGC-  
 GTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGC-  
 GCGCGTAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGT-  
 GAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGT-  
 CATTGGAAACTGGAAAACCTTGAGTG-  
 CAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTG-  
 TAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAG-  
 GAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTG-  
 GTCTGTACTGACGCTGATGTGCGAAAGC-  
 GTGGGG



**Figure 8** – Phylogenetic tree constructed based on the analysis of the 16S rRNA gene fragment of *Staphylococcus warneri* 16

The degree of homology with the nearest strain NR 113956.1:91-756 *Staphylococcus aureus* strain NBRC 100910 was 99.85%.

These identified strains of staphylococci were used as test cultures for the selection of antagonistically active lactic acid bacteria.

**Results and discussion**

As a result of molecular genetic identification of the studied strains, isolated for the first time from goat milk of the Almaty region, based on the analysis of nucleotide sequences

16S rRNA gene values were determined for bacterial strains: for the *Lactobacillus fermentum* 14 strain, the identity with the NR 113335.1:93-789 strain *Lactobacillus fermentum* strain NBRC 15885 was 99.86%; for the strain *Lactobacillus fermentum*

8, the identity with the strain NR 104927.1:82-719 *Lactobacillus fermentum* strain CIP 102980 was 100.00%; for the strain *Lactobacillus fermentum* 4, the degree of homology with the nearest strain NR 104927.1:55-784 *Lactobacillus fermentum* strain CIP 102980 was 99.73%; for strain *Lactobacillus fermentum* 2, the degree of homology with the nearest strain NR 104927.1:55-784 *Lactobacillus fermentum* strain CIP 102980 was 100.00%.

Thus, the isolation of lactic acid bacteria from local raw milk will increase the creation of starter culture for the dairy industry of domestic production.

**Conclusion**

Thus, this study presents the results of molecular genetic identification of bacteria based on the analysis of the nucleotide sequences of the 16S rRNA

gene isolated from raw goat milk of the Zaanen breed of the Almaty region. All bacterial strains were sequenced and analyzed. A comparative analysis of the nucleotide sequences of both strains of lactic acid bacteria showed their high identity. A passport was drawn up for a strain of *Lactobacillus*

*fermentum 14* isolated from goat milk of the Almaty region. *Lactobacillus fermentum 14* was deposited in the Republican Collection of Microorganisms (Astana) as a promising strain for inclusion in the composition of bacterial starter cultures in the production of fermented dairy products [25].

## References

1. Shenderov B.A. Funkcional'noe pitaniye i ego rol' v profilaktike metabolicheskogo sindroma [Functional nutrition and its role in the prevention of metabolic syndrome]. M.: DeLi print (2008). 319 p. – (In Russian)
2. Broberg A., Jacobsson K., Ström K., Schnürer J. Metabolite Profiles of Lactic Acid Bacteria in Grass Silage // *Applied and Environmental Microbiology*. 2007. Vol. 73. P. 5547–5552.
3. Quinto E.J., Jiménez P., Caro I. et al. Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review // *Food and Nutrition Sciences*. 2014. Vol. 5. P. 1765–1775.
4. Ludwig W., Schleifer K.H., Whitman W.B. Revised road map to the phylum Firmicutes // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Firmicutes*. New York, Springer-Verlag, USA, 2009. Vol. 3. P. 1–17.
5. Daba H., Saidi S. Detection of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from milk in various farms in north-east Algeria by a new procedure // *Agronomy Research*. 2015. Vol. 13. No. 4. P. 907–918.
6. Bernhom N., Licht T.R., Brogren C.H. et al. Effects of Lactococcus lactis on Composition of Intestinal Microbiota: Role of Nisin // *Applied and Environmental Microbiology*. 2006. Vol. 72. P. 1239–1244.
7. Maldonado A., Ruiz-Barba J.L., Jimenez-Diaz R. Production of plantaricin NC8 by *Lactobacillus plantarum* NC8 is induced in the presence of different types of Gram-positive bacterin // *Arch. Microbiol.* - 2003. - Vol.1. - P.29-35.
8. Preter V., Raemen H., Cloetens L., Houben E., Rutgeerts, Verbeke K. Effect of dietary intervention with different pre- and probiotics on intestinal bacterial enzyme activities // *Eur. J. Clin.Nutr.* 2007. – Vol. 10. – P.1038-1046.
9. Reid G. Probiotic Lactobacilli for urogenital health in women // *J Clin Gastroenterol.* -2008. - Vol.42., Suppl 3, Pt 2. P. 234-236.
10. Mathur H, Beresford TP, Cotter PD. Health Benefits of Lactic Acid Bacteria (LAB) Fermentates. *Nutrients*. 2020 Jun 4;12(6):1679. doi: 10.3390/nu12061679.
11. Marco M.L., Heeney D., Binda S., Cifelli C.J., Cotter P.D., Foligné B., Gänzle M., Kort R., Pasin G., Pihlanto A., et al. Health benefits of fermented foods: Microbiota and beyond. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2017;44:94–102. doi: 10.1016/j.copbio.2016.11.010.
12. Papamanoli E., Tzanetakis N., Litopoulou-Tzanetaki E., Kotzekidou P. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci.* 2003;65:859–867. doi: 10.1016/S0309-1740(02)00292-9.
13. Coccolin L., Dolci P., Rantsiou K., Urso R., Cantoni C., Comi G. Lactic acid bacteria ecology of three traditional fermented sausages produced in the North of Italy as determined by molecular methods. *Meat Sci.* 2009;82:125–132. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.01.004.
14. Salmerón I., Thomas K., Pandiella S.S. Effect of potentially probiotic lactic acid bacteria on the physicochemical composition and acceptance of fermented cereal beverages. *J. Funct. Foods*. 2015;15:106–115. doi: 10.1016/j.jff.2015.03.012.
15. Parvez S., Malik K., Kang S.A., Kim H.-Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J. Appl. Microbiol.* 2006;100:1171–1185. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x.
16. Linares D.M., Gómez C., Renes E., Fresno-Baro J.M., Tornadijo M.E., Ross R.P., Stanton C. Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria with Potential to Design Natural Biofunctional Health-Promoting Dairy Foods. *Front. Microbiol.* 2017;8:846. doi: 10.3389/fmicb.2017.00846.
17. Vegas E.Z.S., Nieves B., Araque M., Velasco E., Ruiz J., Vila J. Outbreak of infection with *Acinetobacter* strain RUH 1139 in an intensive care unit // *Infection Control and Hospital Epidemiology*. – 2006. – Vol. 27. – P. 397-404.
18. Yu J., Wang H.M., Zha M.S., Qing Y.T., Bai N., Ren Y., Xi X.X., Liu W.J., Menghe B.L.G., Zhang H.P.. Molecular identification and quantification of lactic acid bacteria in traditional fermented dairy foods of Russia. *Journal of Dairy Science*. Volume 98, Issue 8, 2015. Pages 5143-5154. ISSN 0022-0302, <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9460>.
19. Patil, M. M., Pal, A., Anand, T. and Ramanna, K.V., Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from curd and cucumber. *Indian J. Biotechnol.*, 2010; 19: 166-172.
20. Fahathabad, E. H. And Eslamifer, M., Isolation and application of one strain of *Lactobacillus paraplantarum* from tea leaves (*Camellia sinensis*). *Amer. J. Food Technol.*, 2011; 6(5): 429-434.
21. De Man J. C., Rogosa M., Sharpe M. E. 1960 Medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 23, 130–135. *J. Appl. Bacteriol.* 23, 130–135.
22. Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs. *Nucleic Acids Research*, 1997. Vol. 25, No. P. 3389-3402. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
23. Kumar, S., K. Tamura, and M. Nei. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in bioinformatics*. Vol. 5 No 2. 150-163. June, 2004.

24. Altschul, S.F., et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs. *Nucleic Acids Research*, 1997. Vol. 25, No. P. 3389-3402.

25. Dzhobulaeva A.K., Sadanov A.K., Ajtkel'dieva S.A., Bajkara B.T., Dzhakibaeva G.T., Kebekbaeva K.M. Molekulyarno-geneticheskaya identifikaciya dvuh shtammov molochnokislyh bakterij na osnove analiza nukleotidnyh posledovatel'nostej 16S rRNA GENA [Molecular genetic identification of two strains of lactic bacteria based on the analysis of nucleotide sequences of the 16S rRNA gene] *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij*. No 8-1 (2014). P. 63-67- (In Russian)

4-бөлім  
**ЗООЛОГИЯ**

---

Section 4  
**ZOOLOGY**

---

Раздел 4  
**ЗООЛОГИЯ**

**Р.Т. Барак**

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы  
ТОО «Научно-производственный центр рыбного хозяйства», Казахстан, г. Алматы  
e-mail: barakovrin@gmail.com

## **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ САЗАНА (*CYPRINUS CARPIO*) ИЗ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ОЗЕРА БАЛКАШ В УСЛОВИЯХ СОВРЕМЕННОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ**

Озеро Балкаш – это один из крупнейших водоемов Юго-Восточного Казахстана, занимающего 2 место по площади после Каспийского моря. Существующие на сегодняшний день экологические проблемы наносят ущерб ихтиофауне озера, где значительно страдают многие популяции промысловых видов рыб. Рыбы являясь частью экосистемы способны проявлять адаптационные свойства изменяя свои биологические (видовые) особенности в ответ на изменения окружающей среды. С ростом загрязнения водных экосистем происходят качественные изменения внешнего и внутреннего строения рыб. Выбранный объект исследования – сазан (*Cyprinus carpio*) является наглядным примером проявлений адаптаций в ответ на изменения качества среды обитания. Изучение изменчивости морфометрических признаков у рыб является актуальным направлением в выявлении аномалий и мониторинга общего состояния здоровья рыб. В этой связи, нами были изучены 28 пластических признаков и 16 меристических (счетных) признаков, а также наличие отклонений в внешнем облике сазана (фенодевиат). Проведенное исследование с использованием метода многомерного статистического анализа позволило определить нагрузки и направленность изменений отдельных признаков сазана. Основываясь на полученных результатах морфологических исследований, фенотипическая пластичность сазана коррелирует с негативными условиями окружающей среды западной части озера Балкаш.

**Ключевые слова:** озеро Балкаш, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, внешние признаки, фенотипическая изменчивость, морфологические аномалии.

R.T. Barakov

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty  
LLP «Research and production center of fisheries», Kazakhstan, Almaty  
e-mail: barakovrin@gmail.com

### **Morphological characteristics of the carp (*cyprinus carpio*) from the western part of lake balkash under conditions of modern anthropogenic pessure**

Balkash Lake is one of the largest reservoirs in South-Eastern Kazakhstan, taking the 2nd place in terms of area after the Caspian Sea. The current environmental problems are damaging the ichthyofauna of the lake, where many populations of commercial fish species are significantly affected. Fish, being part of an ecosystem, are able to show adaptive properties by changing their biological (species) characteristics in response to environmental changes. With the increase in pollution of aquatic ecosystems, qualitative changes in the external and internal structure of fish occur. The chosen object of study, carp (*Cyprinus carpio*), is a good example of manifestations of adaptations in response to changes in the quality of the habitat. The study of the variability of morphometric traits in fish is an important direction in identifying anomalies and monitoring the general health of fish. In this regard, we studied 28 plastic features and 16 meristic (countable) features, as well as the presence of deviations in the appearance of the carp (external malformations). The study using the method of multivariate statistical analysis made it possible to determine the load and direction of changes in individual signs of carp. Based on the results of morphological studies, the phenotypic plasticity of carp correlates with the negative environmental conditions of the western part of Lake Balkash.

**Key words:** Balkash Lake, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, external features, phenotypic variability, morphological anomalies.



Р.Т. Бараков

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.  
«Балық шаруашылығы ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС, Қазақстан, Алматы қ.  
e-mail: barakovrin@gmail.com

### **Қазіргі антропогендік жүктеме жағдайында балқаш көлінің батыс бөлігіндегі сазанның (*Cyprinus carpio*) морфологиялық сипаттамалары**

Балқаш көлі – Оңтүстік-Шығыс Қазақстанның ең ірі су айдындарының бірі, аумағы бойынша Каспий теңізінен кейінгі 2 орынды алады. Қазіргі кездегі экологиялық проблемалар көлдің ихтиофаунасына да зиян келтіруде, мұнда көптеген кәсіптік балық түрлерінің популяциялары айтарлықтай зардап шегуде. Балықтар экожүйенің бөлігі болып қана қоймай, қоршаған ортаның өзгеруіне жауап ретінде олардың биологиялық (түрлік) ерекшеліктерін өзгерту арқылы бейімделу қасиеттерін де көрсете алады. Су экожүйелерінің ластануының жоғарылауымен балықтардың сыртқы және ішкі құрылымында сапалы өзгерістер орын алады. Таңдалған зерттеу нысаны – сазан (*Cyprinus carpio*) тіршілік ету ортасының сапасының өзгеруіне жауап ретінде бейімделу көріністерінің айқын мысалы болып табылады. Балықтардағы морфометриялық белгілердің өзгергіштігін зерттеу ауытқуларды анықтаудағы және балықтардың жалпы жай-күйін бақылаудағы өзекті бағыт болып табылады. Осыған байланысты біз 28 пластикалық (сапалық) белгілер мен 16 меристикалық (сандық) белгілерді, сондай-ақ сыртқы (фенодевиат) түріндегі ауытқулардың болуын зерттедік. Көпөлшемді статистикалық талдау әдісін қолдана отырып, жүргізілген зерттеу сазанның жеке-леген белгілерінің өзгеру жүктемелері мен бағытын анықтауға мүмкіндік берді. Морфологиялық зерттеулердің нәтижелеріне сүйене отырып, сазанның фенотиптік бейімділігі Балқаш көлінің батыс бөлігіндегі жағымсыз экологиялық жағдайлармен байланысты болуы мүмкін.

**Түйінді сөздер:** Балқаш көлі, *Cyprinus Carpio* Linnaeus, 1758, сыртқы белгілері, фенотиптік өзгергіштігі, морфологиялық ауытқулары.

#### **Введение**

Озеро Балкаш – это большое по своей площади озеро, расположенное в аридной зоне Юго-Восточного Казахстана. Стратегическая важность данного озера заключается в богатстве и разнообразии биоресурсов. В сравнении с другими водоемами Казахстана в озере сосредоточено около 20% всей вылавливаемой рыбы [1,2]. За свою историю промыслового освоения на озере Балкаш произошли изменения, где на смену более ценных в коммерческом отношении видам стали доминировать малоценные виды рыб. Еще в период с 1932 по 1969 гг. сазану принадлежало от 59 до 77% (в весовом выражении – 5500 -12800 т) от общего объема годового вылова. К середине 80-х годов численность сазана неуклонно падает (менее 1% от общего улова) ввиду возникшего хищнического лова и стремительного снижения уровня воды [3,4].

В силу продолжающегося экологического и антропогенного пресса на экосистему озера, значительные изменения можно наблюдать в структуре популяций многих видов рыб. В результате экологических обострений, вызванных деятельностью человека, наблюдаются качественные изменения в структуре популяций. Среди таких изменений можно отметить изменчивость внешнего облика рыб. Согласно литературным дан-

ным изучение внешних признаков у рыб является частью ихтиомониторинга, и может служить инструментом в диагностике состояния здоровья многих промысловых видов рыб [5, 6, 7, 8, 9]. Кроме этого, данный подход широко применяется в изучении процессов видообразования и макроэволюций внутри популяций [10, 11, 12, 13]. С другой стороны, исследование морфологических показателей рыб является актуальным направлением в оценке и прогнозировании экологического состояния рыб.

В качестве основного объекта исследования был выбран сазан (*Cyprinus carpio*). Выбор объекта был продиктован тем, что сазан является важным в коммерческом отношении промысловым видом и распространен практически по всей акватории озера Балкаш. С другой стороны, сазан считается пластичным видом виду своей высокой степени адаптации к изменениям внешней среды обитания [14,15]. Целью работы являлось изучение морфобиологических особенностей сазана из западной части озера Балкаш в условиях негативного воздействия хозяйственной деятельности человека на популяцию одного из ценного промыслового вида рыб. Резюмируя вышеприведенное, в настоящей статье представлены результаты морфологических исследований сазана *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 из западной части озера Балкаш.

## Материал и методы

Отбор проб проводился в летнее время (август 2022 г.) из промысловых уловов западной части озера Балкаш (46°40'49.48»С; 74°43'23.73»В). Основу выборки составили экземпляры сазана с длиной тела от 300 до 400 мм. Фиксацию рыб производили в 4% растворе формальдегида. Для проведения морфологического анализа использовали общепринятые методы рыбохозяйственных исследований [16]. При проведении морфологического анализа рыба лежала на правом боку. Всего было изучено 28 пластических признаков и 16 меристических (счетных) признаков, а также наличие морфологических аномалий (фенодевиат) у сазана. Основные обозначения морфологических признаков были следующими: ab – абсолютная длина (L), мм; ad – длина по Смитту, мм; ac – длина без хвостового плавника (l), мм; Q – полная масса тела, г; q – тела без внутренних органов, г; ao – длина головы; od – длина туловища; gh –наибольшая высота тела; ik – наименьшая высота тела; aq – антедорсальное расстояние; rd – постдорсальное расстояние; au – антеанальное расстояние; az – антевентральное расстояние; fd – длина хвостового стебля; qs – длина основания (D) спинного плавника; qt – наибольшая высота (D) спинного плавника; уу1 – длина основания (A) анального плавника; ej – наибольшая высота (A) анального плавника; vx – длина грудного плавника; vz – расстояние от начало грудного до брюшного плавника P и V; zu – расстояние от начало брюшного до анального плавника V и A; aP – антепектральное расстояние; lm – длина головы у затылка; pp – ширина лба; ap – длина рыла; пр – диаметр глаза; ро – заглазничный отдел головы; Дж – число жестких лучей в спинном плавнике; Дм – число мягких лучей в спинном плавнике; Аж – число жестких лучей в анальном плавнике; Ам – число мягких лучей в анальном плавнике; Р – число лучей в грудном плавнике; V – число лучей в брюшном плавнике; ll – количество чешуй в боковой линии; sup. – количество чешуй над боковой линией; sub – количество чешуй под боковой линией; ll fd – количество чешуй в хвостовом сте-

бле; sp.br – число жаберных тычинок; vert. – число позвонков, vert. ch. – число грудных позвонков; vert. tail – число хвостовых позвонков; СЮ – число боковых выходных отверстий подглазничной ветви сейсмодатчика канала; СРМпрор + СРМден – число боковых выходных отверстий предкрышечно-нижнечелюстной ветви сейсмодатчика канала в предкрышечных костях + число боковых и терминальных выходных отверстий предкрышечно-нижнечелюстной ветви сейсмодатчика канала в нижнечелюстных костях.

Были рассчитаны коэффициенты упитанности: Fulton – упитанность по Фультону; Clark – упитанность по Кларк [16].

До начала проведения статистической обработки провели стандартизацию данных [17] для избегания возможных некорректных данных. Статистическую обработку данных проводили по методическому руководству [18]. В качестве программного обеспечения для обработки данных послужили программа Excel 2013 и Past версии 4.03 [19]. Для расчета нагрузок на морфологические признаки и их сравнения использовали метод многомерного статистического анализа (метод главных компонент). Данный метод был применен для наблюдений морфологических различий по полу.

## Результаты и обсуждение

Результаты статистической обработки выявили основные нагрузки на признаки сазана у исследуемой выборки сазана. По всей выборки сазана из западного Балкаша (n=20) только у двух особей сазана наблюдались морфологические аномалии. Наблюдались следующие отклонения: у одной особи были нарушены ряды чешуй в хвостовом стебле по большей части в результате их уменьшения, у другой особи был редуцирован анальный плавник по длине его основания. Наличие подобных морфологических отклонений подтверждается с литературными данными [20]. Основные морфологические показатели сазана из западной части озера Балкаш представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Основные морфо-биологические показатели сазана из озера Балкаш

Признаки	Балкаш 2022 г., n=20			
	min-max	M±m	CV	±s
1	2	3	4	5
<i>Основные биологические показатели</i>				
L, mm	350-400	377,8±12.58	3.82	14.4

lst, mm	314-372	346±13.70	4.56	15.8
Q, g	285-334	311,7±11.96	4.44	13.8
q, g	595-858	711.6±59.38	10.37	73.8
<i>Коэффициенты упитанности</i>				
Fulton	1.04-1.69	1.32±0.11	10.92	0.14
Clark	0,93-1,28	1.13±0.08	8.84	0.10
<i>Счетные признаки</i>				
Дж	2-4	3±0.10	10.54	0.3
Дм	18-20	19.1±0.57	3.88	0.7
Аж	2-3	2.9±0.26	12.53	0.4
Ам	5-7	6±0.29	8.36	0.5
Р	11-17	13.6±1.10	10.03	1.4
V	8-15	9.6±1.00	16.27	1.6
ll	35-41	38.4±1.15	3.8	1.5
sup.	5-7	5.9±0.36	9.13	0.5
sub	5-7	5.8±0.53	10.83	0.6
ll <sub>fd</sub>	9-13	11.1±1.02	11	1.2
sp.br	27-33	28.9±1.34	5.62	1.6
vert.	35-40	38.1±1.11	3.51	1.3
vert.ch.	19-24	22±0.78	5.29	1.2
vert. tail	13-18	16.3±1.00	7.78	1.3
<i>Пластические признаки</i>				
ao	22.5-29.4	26±4.75	7.54	6.1
od	70.6-77.5	74±9.84	5.45	12.6
gh	28.6-36.7	32.1±3.51	4.58	4.6
ik	9.8-16.6	12.5±3.59	11.82	4.6
aq	42.5-57.9	48.3±7.14	6.38	9.6
rd	11.7-22.1	16.3±7.19	16.66	8.4
ay	67.1-79.7	75.1±9.65	5.66	13.2
az	41.9-51.8	45.9±7.37	7.20	10.3
fd	14.8-22.1	18±5.89	12.50	7.0
<i>Продолжение таблицы 2</i>				
Признаки	Балкаш 2022 г., n=20			
	min-max	M±m	CV	±s
l	2	3	4	5
qs	32.9-42.4	38.3±5.24	5.83	7.0
qt	12.5-23	15.5±4.32	12.66	6.1
yy <sub>1</sub>	5.2-10.1	8.2±3.71	17.42	4.4
ej	11.7-16.9	14.2±3.39	9.84	4.4
vx	14.6-22.5	18.2±4.09	9.44	5.3
zz <sub>1</sub>	14.1-20.5	17.2±3.27	7.59	4.1
vz	19.3-51.7	34.4±12.7	37.52	40.1
zy	16.6-31	26.6±2.34	12.43	10.3
aP	19.5-30	24.3±5.77	10.24	7.8
lm	57.9-104.5	76.9±5.22	10.68	6.6
nn	28.7-63.9	41.1±5.11	20.53	6.8
an	21.2-62.7	34.7±5.29	26.89	7.5
np	9-19.3	14.9±1.94	18.92	2.3
po	41.6-77.3	54.9±4.59	13.77	6.1

Показатели упитанности сазана ниже средних показателей в сравнении с многолетними данными прошлого столетия [14, 20]. В среднем упитанность по Фультону составила – 1.32, по

Кларк – 1.13. Низкие показатели упитанности могут говорить об неблагоприятных условиях питания, гетерогенности среды обитания и индивидуальных особенностях организма.

Отличия внешних признаков сазана можно проследить между самками и самцами. Основные отличия по признакам по полу представлены в таблице 3. В целом главные отличия морфологических признаков по полу были следующими: *пластические признаки* – антедорсальное расстояние (aq), антеанальное расстояние (au), антевентральное расстояние (az), расстояние от грудного до брюшного плавника (vz), расстояние от брюшного до анального плавника (zy); *счетные признаки* – число лучей в грудном плавнике (P), число лучей в брюшном плавнике (V), количество чешуй в боковой линии (ll), число жаберных тычинок (sprg.), число грудных позвонков (vert. ch.), число боковых выходных отверстий предкрышечно-нижнечелюстной ветви сейсмодатчика в предкрышечных костях + число боковых и терминальных выходных отверстий предкрышечно-нижнечелюстной ветви сейсмодатчика в нижнечелюстных костях (SPMpor + SPMden).

По счетным признакам количество грудных и вентральных лучей в плавниках было больше

одного у самцов чем у самок сазана. По количеству жаберных тычинок, грудных позвонков у самцов было больше на 1 единицу, однако, в отношении боковых выходных отверстий в предкрышечных костях и терминальных отверстий в нижнечелюстных костях число пор было больше у самок. По числу чешуй в боковой линии особей различий не наблюдалось.

В отношении пластических признаков: антедорсальное, антевентральное, пектоветральное и вентроанальное расстояние было больше у самок нежели у самцов, исключение может составить антеанальное расстояние которое было больше у самцов. Основные различия по морфологическим признакам представлены на рисунке 1.

В целом полученные результаты согласуются с литературными данными [19, 20, 21, 22, 23], что на изменчивость отдельных признаков (счетных признаков) могут влиять как средовые факторы и собственно генотип сазана, но с большей степенью определяется вторым нежели первым фактором.

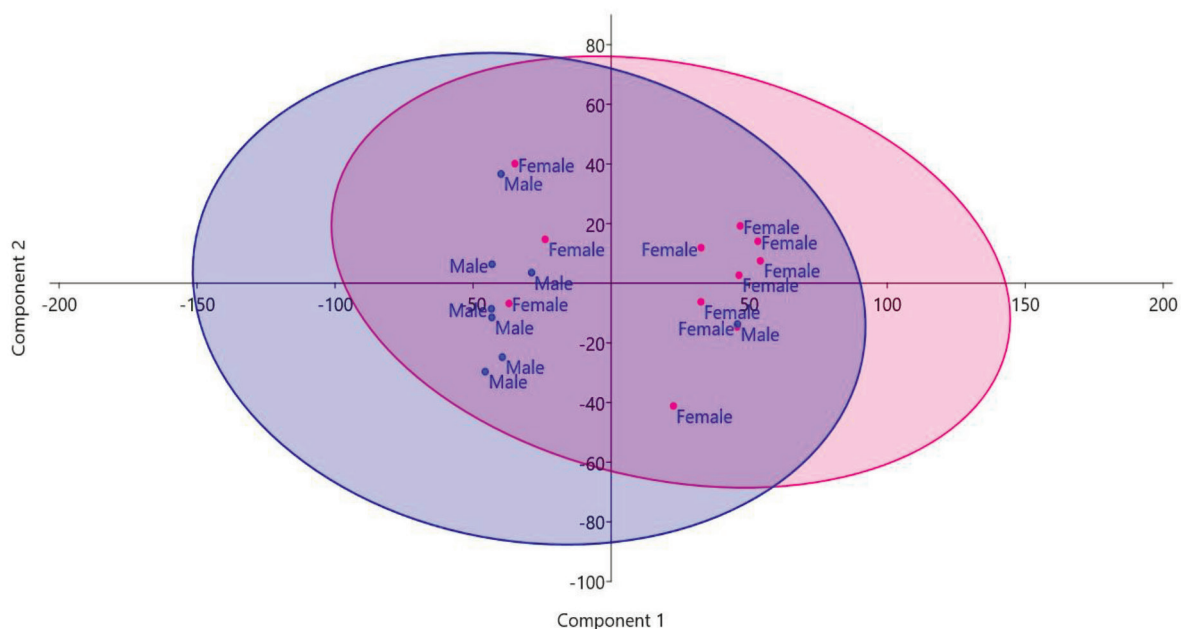


Рисунок 1 – Морфологические различия самок и самцов по совокупности пластических признаков

На рисунке 1 видно, что отрицательные нагрузки на пластические признаки (антедорсальное, антевентральное, пектовентральное и вентроанальное расстояние) выражены у самцов, нежели у самок. Для самок сазана, характерны положительные нагрузки на пластические признаки, в связи с чем, у них наблюдалось увеличенное расстояние между плавниками. Только у

некоторой части исследованных самок пластические признаки были сходными с самцами. Незначительные различия по полу были выражены в расстоянии между плавниками. Как правило, такие различия были связаны с индивидуальными особенностями самок и самцов, а также могли быть вызваны их гидродинамической активностью в водной среде.

**Таблица 2** – Морфобиологические отличия самок и самцов сазана из западной части озера Балкаш по основным признакам с учетом нагрузок на главные компоненты

Признаки	Балкаш, n (♂) = 8	Балкаш, n (♀) = 12	Главные компоненты		
	M±m	M±m	1	2	3
1	2	3	4		
<i>Пластические признаки</i>					
aq	148.7±3.73	152.4±9.28	0.0284	0.0977	0.5414
ay	237±10.75	231.6±8.21	-0.13622	0.4982	-0.34475
az	142.2±7.25	144.1±7.66	-0.0429	0.4512	-0.0304
vz	80.1±17.72	130.5±29.32	0.9710	0.1367	-0.0973
zy	81.9±8.73	84.8±6.01	0.0105	0.3689	0.0744
<i>Счетные признаки</i>					
P	14.25±0.88	13.1±1.02	-0.2929	0.1917	0.0879
V	10.37±1.81	9.1±0.33	-0.1965	0.3926	-0.4346
ll	38,25±1,06	38,4±1,24	0.0444	-0.2316	0.3983
spbr.	29.37±1.47	28.6±1.24	-0.0830	0.4689	0.6015
vert. ch.	22.12±0.91	21.7±0.71	-0.2594	0.3970	-0.0355
CPMprop + CPMden	8.62±0.88	10.2±1.69	0.7565	0.3680	-0.1617

Выявленные морфологические отклонения у 2-х экземпляров сазана было обусловлено скорее всего генотипом или возникшей мутацией. Однако, по проведенным исследованиям [20] отмечается, что у сазана из западной части озера Балкаш наблюдаются высокая частота морфологических аномалий (3-13%). Приведенные результаты исследований могут свидетельствовать о том, что в существующих условиях комплексного загрязнения водной среды озера Балкаш и промысла происходит увеличение частоты возникновения морфологических отклонений у сазана в следствии его неспособности компенсировать воздействие факторов окружающей среды.

### Заключение

1. Изученные морфометрические показатели сазана из западной части озера Балкаш не выходят за пределы специфики исследуемого вида, однако, в условиях экологического и ан-

тропогенного воздействия некоторые счетные и пластические признаки могут подвержены к изменению.

2. Наличие в выборке сазана особей с аномалиями (фенодевиатами) свидетельствуют о нарушении в раннем развитии организма вызванных негативными условиями водной среды озера Балкаш.

3. Морфологические отличия сазана по полу вызваны его биологическими особенностями и по большей части зависят от генотипа и биотических условий среды обитания.

*Работа выполнена в рамках грантового финансирования Министерства экологии и природных ресурсов Республики Казахстан (Грант № BR10264236)*

### Благодарности

Автор статьи благодарен за помощь в обработке данных и рекомендаций по написанию

статьи Шарахметову Саяту Ермуханбетовичу. Я также благодарен Махметову Ильясу Сериковичу за помощь в сборе ихтиологического материала.

### Литература

1. Steven G. Pueppke, Margulan K. Iklasov, Volker Beckmann ID, Sabir T. Nurtazin, Niels Thevs 4, Sayat Sharakhmetov and Buho Hoshino 5 Challenges for Sustainable Challenges for sustainable use of the fish resources from Lake Balkhash, a fragile lake in an arid ecosystem // *Sustainability*. – 2018. – Т. 10. – №. 4. – С. 1234. <https://doi.org/10.3390/su10041234>
2. Sarmoldaeva G.R., Shalgimbaeva S.M., Omarova Zh.S., Dzhumakhanova G.B., Kairat B.K., Dautbaeva K.A. Histomorphological study of the reproductive system carp females (*Cyprinus carpio* L.) from Lake Balkhash // *J. Experimental Biology* – 2017. – Vol.71. – P. 32-39.
3. Кенжебеков Б.К., Исбеков К.Б., Асылбекова С.Ж., Хузина Г.Г., Даупов Ж.А., Маженов Д.Ш. Зависимость отдельных видов рыб в оз. Балкаш от абиотических факторов. Аграрная наука сельскохозяйственному производству Монголии, Сибири и Казахстана // Сборник научных докладов XIII Международной научно-практической конференции. Ч. 2. Улан-Батор. 6-7 июля 2010. С. 585-587. 10.17117/na.2017.11.02
4. Крупа Е.Г., Цой В.Н., Лопарева Т.Я., Пономарева Л.П., Анурьева А.Н., Садырбаева Н.Н., Асылбекова С.Ж., Исбеков К.Б. Многолетняя динамика гидробионтов озер Балкаш и ее связь с факторами среды // Вестник АГТУ. сер: Рыбное хозяйство. – 2013. – №2. С. 85-96.
5. Савваитова К.А., Чеботарева Ю.В., Пичугин М.Ю., Максимов С.В. Аномалии в строении рыб как показатель состояния природной среды // Вопросы ихтиологии. 1995. Т.35.
6. Решетников Ю.С., Попова О.А., Кашулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен П.-А., Сталдвик Ф. Оценка благополучия рыбной части водного сообщества по результатам морфопатологического анализа рыб // Успехи современной биологии. 1999. – №2. – С.165-177.
7. Чеботарева Ю.В., Савоскул С.П., Пичугин М.Ю., Савваитова К.А., Максимов С.В. Характеристика аномалий в строении внешних и внутренних органов у рыб // Разнообразие рыб Таймыра. – М.: Наука, 1999. – С.142-146.
8. Попов П.А. О некоторых теоретических и практических аспектах ихтиомониторинга // Сибирский экологический журнал. – 2004. – Т.11, №4. – С.507-512
9. Abecia J.E., Osmar J.L., Crook D.A., Banks S. C., Wedd D.J., King A.J. Morphological changes in fish // *Ecol Freshw fish* – 2022. – Vol.31. – P. 369-378. <https://doi.org/10.1111/eff.12636>
10. Мина М.В., Мироновский А.Н., Капитанова Д.В. Фенетические отношения и вероятные пути морфологических диверсификации африканских усачей комплекса *Barbus Intermediae* из озера Тана (Эфиопия) // Вопросы ихтиологии. – 2011.- Т. 51. – Вып. 2. – С. 149-163. 10.31857/S0042875220030121
11. Журавлев В.Б. Изучение популяционной структуры вида и микроэволюции рыб методами многомерного статистического анализа. 2001. – С. 77-82.
12. Johansen R., Needham J.R., Colquhoun D.J., Poppe T.T., Smith A.J. Guedelines for health and welfare monitoring of fish used in research // *Laboratory animals*. – 2006. – Issue 40. – P. 323-340. 10.1258/002367706778476451
13. Ronan J.O., Tuktu A., Johnston S.E., Kane A., Poole R., Reed T.E. Evolutionary stasis of heritable morphological trait in a wild fish population despite apparent directional selection // *Ecology and Evolution*. –2019. – Vol. 9. – P. 7096-7111. <https://doi.org/10.1002/ece3.5274>
14. Митрофанов В.П., Дукравец Г.М., Мельников В.А. Род *Cyprinus* Linné, 1758 – Сазан // Рыбы Казахстана. – Алма-Ата: Наука, 1988. –Т.3. – С.231-279.
15. Eugene K.B. Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio*: from Roman gourmets to the swimming flowers // *Aquaculture*. – 1995. – Vol. 129. – P. 3-48. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00227-F](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00227-F)
16. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. – М.: Пищевая промышленность, 1966. – 376 с.
17. Milligan G.W. A study of Standartization of Variables in Cluster Analysis // *Journal of Classification* 5. – 1988. – P. 181-204.
18. Лакин Г.Ф. Биометрия – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
19. Harper A.T., Paul D.R. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia Electronica*. – 2001. – Vol. 4. – Issue 1. – P. 1-9.
20. Мамилов Н.Ш., Муталипов Р.А., Сутуева Л.Р., Конысбаев Т.Г. Морфологическое разнообразие сазана *Cyprinus carpio* в западной части озера Балкаш и Капчагайском водохранилище // *Eurasian Journal of Ecology*. –2018. – Т.2 – Выпуск 55. – С.103-108.
21. Levin B.A. Drastic shift in the number of lateral line scales in the common roach *Rutilus rutilus* as a result of heterochronies: experimental data // *J. Applied ichthyology* – 2010. – Vol.26. – P.303-306. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01426.x>
22. Чудновская Г.В., Саловаров В.О., Демидович А.П. Биометрия в ихтиологии: Учебное пособие. – Иркутск: Издательство Иркутского ГАУ им. А.А. Ежовского, 2018. – 156 с.
23. Beland C. Effects of genetic and environmental variation on the morphology of *Pimelodella chagresi*, a Neotropical Catfish species: McGill University. – 2004. – P. 3-5.
24. Famofo O.O., Abdul W.O. Biometry, condition factors and length-weight relationships of sixteen fish species in Iwopin fresh water ecotype of Lekki, Ogun State, Southwest Nigeria // *Heliyon*. – 2020. – Vol. 6. – P. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02957>

25. Quadroni S., Santis V., Carosi A., Vanetti I., Zaccara S. Past and present environmental factors differentially influence genetic and morphological traits of Italian Barbels // *Water* – 2023. – Vol. 15. – Issue 325. – P. 2-19. <https://doi.org/10.3390/w15020325>

### References

1. Abecia J.E., Osmar J.L., Crook D.A., Banks S. C., Wedd D.J., King A.J. (2022) Morphological changes in fish. *Ecol Freshw fish*, vol.31, pp. 369-378. <https://doi.org/10.1111/eff.12636>
2. Beland C. Effects of genetic and environmental variation on the morphology of *Pimelodella chagresi*, a Neotropical Catfish species (2004). *McGill University*, pp. 3-5.
3. Chebotareva YU.V., Savoskul S.P., Pichugin M.YU., Savvaitova K.A., Maksimov S.V. (1999) Harakteristika anomalij v stroenii vneshnih i vnutrennih organov u ryb [Characteristics of anomalies in the structure of external and internal organs in fish]. Variety of fish in Taimyr. – M.: Nauka, 1999. – P.142-146.
4. CHudnovskaya G.V., Salovarov V.O., Demidovich A.P. (2018) Biometriya v ihtiologii: Uchebnoe posobie [Biometrics in ichthyology: Textbook]. Irkutsk: Publishing house of the Irkutsk State Agrarian University. A.A. Yezhevsky, 2018. – 156 p.
5. Eugene K.B. Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio*: from Roman gourmets to the swimming flowers (1995). *Aquaculture*, vol. 129., pp. 3-48. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00227-F](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00227-F)
6. Famoofo O.O., Abdul W.O. Biometry, condition factors and length-weight relationships of sixteen fish species in Iwopin fresh water ecotype of Lekki, Ogun State, Southwest Nigeria (2020). *Heliyon*, vol. 6, pp. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02957>
7. Harper A.T., Paul D.R. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis (2001). *Palaeontology Electronica*, vol. 4, pp. 1-9.
8. Johansen R., Needham J.R., Colquhoun D.J., Poppe T.T., Smith A.J. (2006) Guidelines for health and welfare monitoring of fish used in research. *Laboratory animals*, issue 40, pp. 323-340. 10.1258/002367706778476451
9. Kenzhebekov B.K., Isbekov K.B., Asylbekova S.ZH., Huzina G.G., Daupov ZH.A., Mazhenov D.SH. (2010) Zavisimost' ot del'nyh vidov ryb v oz. Balhash ot abioticheskikh faktorov [The dependence of individual fish species in the lake. Balkhash from abiotic factors]. Agrarian science to agricultural production in Mongolia, Siberia and Kazakhstan // Collection of scientific reports of the XIII International Scientific and Practical Conference. Part 2. Ulaanbaatar. July 6-7, 2010, pp. 585-587. 10.17117/na.2017.11.02
10. Krupa E.G., Coj V.N., Lopareva T.YA., Ponomareva L.P., Anur'eva A.N., Sadyrbaeva N.N., Asylbekova S.ZH., Isbekov K.B. (2013) nogoletnyaya dinamika gidrobiontov ozer Balhash i ee svyaz' s faktorami sredy [Long-term dynamics of hydrobionts in Balkhash lakes and its relationship with environmental factors]. *Vestnik AGTU. ser: Rybnoe hozyajstvo*, vol. 2, pp. 85-96.
11. Lakin G.F. Biometriya. (1990) Biometriya [Biometrics]. M.: Higher School, 1990. – 352 p.
12. Levin B.A. Drastic shift in the number of lateral line scales in the common roach *Rutilus rutilus* as a result of heterochronies: experimental data (2010). *J. Applied ichthyology*, vol.26, pp.303-306. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01426.x>
13. Mamilov N.SH., Mutalipov R.A., Sutueva L.R., Konysbaev T.G. (2018) Morfologicheskoe raznoobrazie sazana *Cyprinus carpio* v zapadnoj chasti ozera Balkash i Kapchagajskom vodohranilishche [Morphological diversity of carp *Cyprinus carpio* in the western part of Lake Balkash and the Kapchagay reservoir]. *Eurasian Journal of Ecology*. –2018. – V.2 – Issue 55. – P.103-108.
14. Milligan G.W. (1988) A study of Standartization of Variables in Cluster Analysis. *Journal of Classification* 5, P. 181-204.
15. Mina M.V., Mironovskij A.N., Kapitanova D.V. (2011) Feneticheskie otnosheniya i veroyatnye puti morfologicheskikh diversifikacii afrikanских usachej kompleksa *Barbus* Intermediate iz ozera Tana (Efiopiya) [Phenetic Relationships and Probable Pathways of Morphological Diversification of African Barbels from the *Barbus* Intermediate Complex from Lake Tana (Ethiopia)]. *Issues of ichthyology*. – 2011. – T. 51. – Issue. 2. – S. 149-163. 10.31857/S0042875220030121
16. Mitrofanov V.P., Dukravec G.M., Mel'nikov V.A. (1988) Rod *Cyprinus* Linné, 1758 – Sazan [*Genus Cyprinus* Linné, 1758 – Carp]. *Fishes of Kazakhstan*. – Alma-Ata: Science, 1988. -V.3. – P.231-279.
17. Popov P.A. (2004) O nekotoryh teoreticheskikh i prakticheskikh aspektah ihtiomonitoringa [About some theoretical and practical aspects of ichthyomonitoring]. *Siberian ecological journal*. – 2004. – V.11, No. 4. – P.507-512.
18. Pravdin I.F. (1966) Rukovodstvo po izucheniyu ryb [Guide to the study of fish]. M.: Food industry, 1966. – 376 p.
19. Quadroni S., Santis V., Carosi A., Vanetti I., Zaccara S. Past and present environmental factors differentially influence genetic and morphological traits of Italian Barbels (2023). *Water*, vol. 15, pp. 2-19. <https://doi.org/10.3390/w15020325>
20. Reshetnikov Yu.S., Popova O.A., Kashulin N.A., Lukin A.A., Amundsen P.-A., Staldivik F. (1999) Ocenka blagopoluchiya rybnoy chasti vodnogo soobshchestva po rezul'tatam morfopatologicheskogo analiza ryb [Assessment of the well-being of the fish part of the aquatic community based on the results of the morphopathological analysis of fish]. *Advances in modern biology*. 1999. – No. 2. – P.165-177.
21. Ronan J.O., Tuktu A., Johnston S.E., Kane A., Poole R., Reed T.E. (2019) Evolutionary stasis of heritable morphological trait in a wild fish population despite apparent directional selection. *Ecology and Evolution*, vol. 9, pp. 7096-7111. <https://doi.org/10.1002/ece3.5274>
22. Steven G. Pueppke, Margulan K. Iklasov, Volker Beckmann ID, Sabir T. Nurtazin, Niels Thevs 4, Sayat Sharakhmetov and Buho Hoshino 5 Challenges for Sustainable Challenges for sustainable use of the fish resources from Lake Balkhash, a fragile lake in an arid ecosystem. *Sustainability*, vol. 10., p. 1234. <https://doi.org/10.3390/su10041234>

23. Sarmoldaeva G.R., Shalgimbaeva S.M., Omarova Zh.S., Dzhumakhanova G.B., Kairat B.K., Dautbaeva K.A. (2017) Histomorphological study of the reproductive system carp females (*Cyprinus carpio* L.) from Lake Balkhash. *J. Experimental Biology*, vol.71, pp. 32-39.

24. Savvaitova K.A., Chebotareva YU.V., Pichugin M.YU., Maksimov S.V. (1995) Anomalii v stroenii ryb kak pokazatel' sostoyaniya prirodnoj sredy [Anomalies in the structure of fish as an indicator of the state of the natural environment]. *Issues of ichthyology*. 1995. V.35.

25. ZHuravlev V.B. (2001) Izuchenie populyacionnoj struktury vida i mikroevolyucii ryb metodami mnogomernogo statisticheskogo analiza [Study of the population structure of the species and microevolution of fish by the methods of multivariate statistical analysis]. 2001. – С. 77-82.



**Г.Б. Кегенова** Казахский Национальный Университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы  
e-mail: [gkegenova78@gmail.com](mailto:gkegenova78@gmail.com)

## СООБЩЕСТВА РЫБ В МАЛЫХ ВОДОЕМАХ БАСЕЙНА Р. ИЛЕ

Биологические инвазии в пресноводных экосистемах являются одной из основных угроз сохранению естественного биологического разнообразия. В связи с большим числом видов, намеренно и случайно интродуцированных в Балкашский бассейн, аборигенная ихтиофауна оказалась оттесненной в малые водоемы. Устойчивое существование в таких водоемах затруднено в силу случайных непредсказуемых воздействий. В 2021 и 2022 гг в малых водоемах бассейна р.Иле в пределах Алматинской области было отмечено 19 видов рыб, которые относятся к 8 семействам и 4 отрядам. Видовое разнообразие исследованных водоемов состоит из аборигенных (25%) и чужеродных (75%) видов рыб. Наибольшее видовое разнообразие было отмечено в пруду Капшагайского нересто – выростного хозяйства (11 видов), наименьшее видовое разнообразие отмечено в реках Теренкара (2 вида) и Леп (1 вид). На основании сравнения видового состава рыбного населения все исследованные водоемы распределены на три кластера. Капшагайское НВХ, реки Малый Чарын, Кайназар, Талгар, Иссык и река №3 составляют первую группу кластера, сходство видового разнообразия между водоемами составила 54.5%. Реки Теренкара и Леп составляют остальные 2 группы и отличаются от всех исследованных водоемов бедностью видового состава ихтиофауны.

Из аборигенных видов рыб по численности и распространению доминирует пятнистый губач *Triplophysa strauchii*. Малочисленными видами являются балкашский голянь (0,06%) и тибетский голец (0,02%). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значительном сокращении ареалов аборигенных рыб. Из чужеродных видов рыб доминировали – амурский чебачок, китайский горчак и речная абботина, не имеющие хозяйственной ценности, а также представляющие угрозу для сохранения аборигенной ихтиофауны.

**Ключевые слова:** малые реки, ихтиофауна, разнообразие, сообщество, Балкашский бассейн, аборигенные виды, чужеродные виды, инвазия.

G.B. Kezenova

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty  
e-mail: [gkegenova78@gmail.com](mailto:gkegenova78@gmail.com)

### Fish communities in small reservoirs of the ile river basin

Biological invasions in freshwater ecosystems are one of the main threats to the preservation of natural biological diversity. Due to the large number of species intentionally and accidentally introduced into the Balkash basin, the native ichthyofauna was pushed into small reservoirs. Sustainable existence in such reservoirs is difficult due to random unpredictable influences. In 2021 and 2022 in small reservoirs of the river basin 19 species of fish were observed in the Ile within the Almaty region, which belong to 8 families and 4 orders. The species diversity of the studied reservoirs consists of native (25%) and alien (75%) fish species. The greatest species diversity was observed in the pond of the Kapshagai spawning farm (11 species), the least species diversity was noted in the Terenkara (2 species) and Lep (1 species) rivers. Based on a comparison of the species composition of the fish population, all the studied reservoirs are divided into three clusters. Kapshagai NVH, the Maly Charyn, Kainazar, Talgar, Issyk Rivers and the No. 3 river make up the first group of the cluster, the similarity of species diversity between the reservoirs was 54.5%. The Terenkara and Lep rivers make up the remaining 2 groups and differ from all the studied reservoirs by the poverty of the species composition of the ichthyofauna.

Of the native fish species, the spotted sponge *Triplophysa strauchii* dominates in number and distribution. Small species are the balkhash minnow (0.06%) and the tibetan stone loach (0.02%). Thus, the data obtained indicate a significant reduction in the ranges of native fish. Of the alien fish species, the topmouth gudgeon, rosy bitterling and false gudgeon dominated, which have no economic value, and also pose a threat to the preservation of the native ichthyofauna.

**Key words:** small rivers, ichthyofauna, diversity, community, Balkhash basin, native species, alien species, invasion.

Г.Б. Кегенова

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.  
e-mail: gkegenova78@gmail.com**Іле өзені бассейнінің шағын суқоймаларындағы балықтардың қауымдастығы**

Тұщы су экожүйелеріндегі биологиялық инвазиялар табиғи биологиялық алуантүрлілікті сақтаудың негізгі қауіптерінің бірі болып табылады. Балқаш бассейніне әдейі және кездейсоқ енгізілген түрлердің көптігіне байланысты жергілікті ихтиофауна шағын суқоймаларына ығыстырылды. Мұндай суқоймаларда тұрақты тіршілік ету кездейсоқ күтпеген әсерлерге байланысты қиын. 2021 және 2022 жылдары Іле өзені бассейнінің кіші суқоймаларында Алматы облысының шегінде 19 балық түрі байқалды, олар 8 тұқымдасқа, 4 отрядқа жіктеледі. Зерттелген су объектілерінің түрлерінің алуантүрлілігі абориген (25%) және бөтен (75%) балық түрлерінен тұрады. Түрлердің ең үлкен алуантүрлілігі Қапшағай уылдырық шашу – шабақ өсіру шаруашылығының тоғандарында байқалды (11 түр), түрлердің ең аз алуантүрлілігі Тереңқара (2 түр) және Леп (1 түр) өзендерінде байқалды. Балық популяциясының түрлік құрамын салыстыру негізінде барлық зерттелген су объектілері үш кластерге бөлінеді. Қапшағай уылдырық шашу – шабақ өсіру шаруашылығы, Кіші Шарын, Қайназар, Талғар, Есік өзендері және №3 өзен кластердің бірінші тобын құрайды, бұл сулардың арасындағы түрлердің алуантүрлілігінің ұқсастығы 54.5% құрады. Тереңқара және Леп өзендері қалған 2 топты құрайды және зерттелген барлық суқоймаларынан ихтиофаунаның түрлік құрамының кедейлігімен ерекшеленеді.

Жергілікті балық түрлерінің саны мен таралуы бойынша теңбіл салпыерін *Triplophysa trauchii* басым. Аз кездескен түрлер – балқаш гольяны (0,06%) және тибет талма балығы (0,02%). Осылайша, нәтижелер жергілікті балықтардың таралу аймағының айтарлықтай төмендегенін көрсетеді. Бөгде балық түрлерінің ішінде шаруашылық құндылығы жоқ, сондай – ақ жергілікті ихтиофаунаны сақтауға қауіп төндіретін амур шабағы, қытай кекіресі және өзен абботинасы басым болды.

**Түйінді сөздер:** кіші өзендер, ихтиофауна, алуантүрлілік, қауымдастық, Балқаш бассейні, аборигендік түрлер, бөгде түрлер, инвазия.

**Введение**

Пресноводные водоемы являются уникальными экосистемами по разнообразию населяющих их позвоночных животных, и в первую очередь, рыб и амфибий [1-2]. В то же время, пресная вода является ключевым ресурсом, необходимым для благополучия человека. Люди используют воду не только для удовлетворения жажды, но и для выращивания сельскохозяйственных растений, технических и бытовых нужд, получения электроэнергии, ведения аквакультуры, отдыха и других потребностей. В результате этого пресноводные водоемы оказались самым уязвимым компонентом биосферы [3-5].

В связи с положением в центре континента для Центральной Азии проблема рационального использования и сохранения пресноводных экосистем стоит особенно остро [6]. Особенностью ихтиофауны Балкашского бассейна является небольшое число аборигенных видов, многие из которых являются эндемиками [7]. Широкомасштабная акклиматизация гидробионтов в озере Балхаш, проведенная во второй половине XX-го века, привела к кардинальным измене-

ниям состава и структуры ихтиофауны в самом озере и крупных реках Балкаш – Илийского бассейна [8]. Инвазивные чужеродные виды стали одной из самых серьезных экологических проблем в мире [9-11].

В Балкашском бассейне вселение новых видов рыб сопровождалось строительством плотин на основных реках, усиленным выловом аборигенных видов и чрезмерной охраной вселенных видов [8]. В результате интродукции чужеродных видов естественный ареал и численность аборигенной ихтиофауны резко сократились [12]. Международным союзом охраны природы (МСОП – IUCN) состояние нескольких эндемичных для региона видов рыб признано как угрожаемое – VU [IUCN Red List – *Schizothorax argentatus*, *Perca schrenki*, *Triplophysa labiata*, *T.sewertzowii*, *Phoxinus poljakowii*] [13-16].

В настоящее время процессы инвазии в водоемах Балкаш – Илийского бассейна продолжаются [17-19]. Для сохранения естественного разнообразия необходимы систематические исследования состояния разнообразия пресноводных водоемов [20-23].

В связи с этим целью проведенного нами исследования являлось изучение современного состава ихтиофауны малых водоемов в бассейне р. Иле.

### Материалы и методы исследования

Материалы для исследований были собраны в весенне – летний периоды 2021-2022 года в юго – восточной части Алматинской области в пределах территории Балкаш – Илийского бассейна (рис.1). Рыбы отловлены из Капшагайско-

го нересто – выростного хозяйства (выростной пруд, сбросной канал) и в малых реках: 1) р. Теренкара; 2) р. №3 трасса ЗЕ-ЗК (возле поселка Койшибек); 3) р. Талгар; 4) р. Кайназар; 5) р. Иссык; 6) р. Малый Чарын; 7) р. Леп. Отлов рыб проводился с помощью малькового бредня с ячеей 4 мм и рыболовного сачка с ячеей 5 мм. Перечисленные водоемы относятся к бассейну р. Или и составляют гидрографическую сеть Заилийского Алатау, с высокогорным – ледниковым типом питания [24].

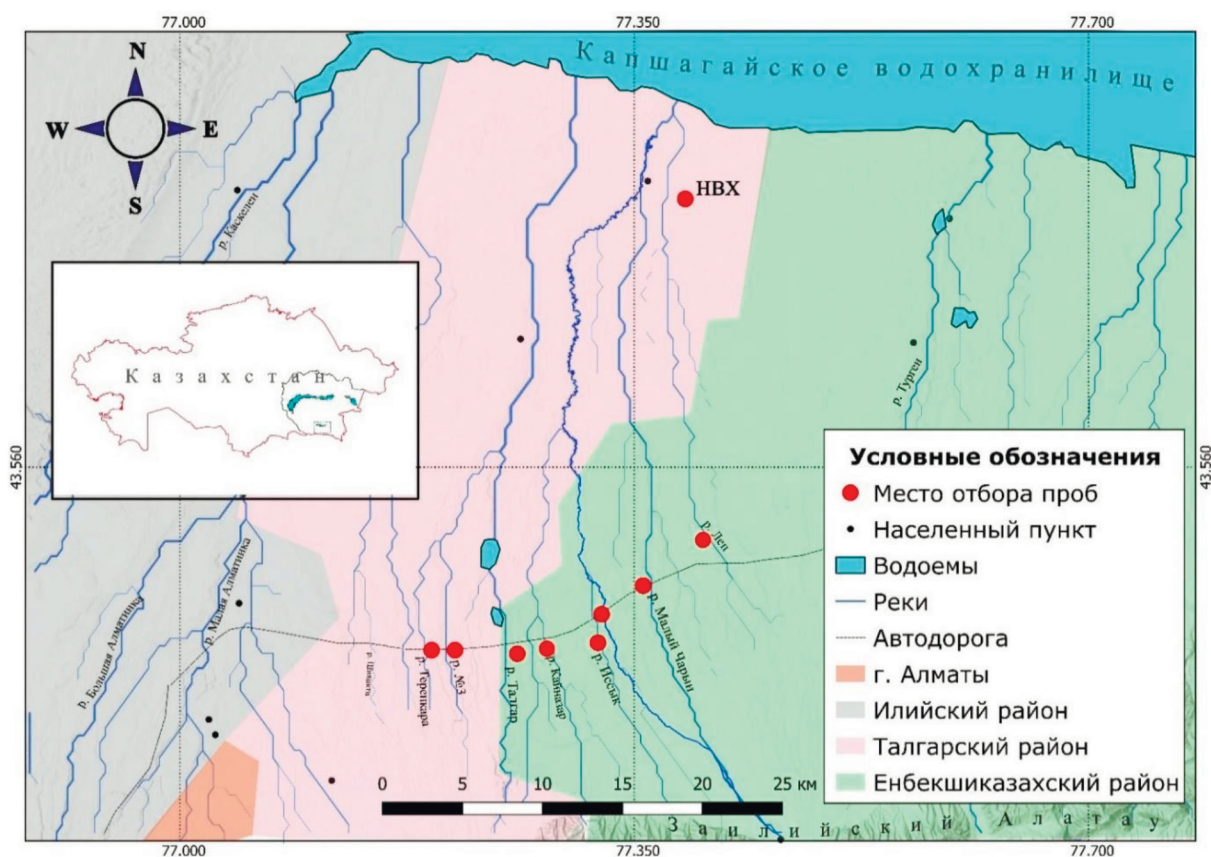


Рисунок 1 – Карта района исследований

Собранный ихтиологический материал фиксировался в 4%-ном растворе формалина. Разнообразие рыбного населения исследуемых рек оценивалась по следующим показателям:  $S$  – общее число видов в сообществе (видовое богатство), индекс доминирования ( $D$ ), индекс Шеннона ( $H$ ), индекс Симпсона ( $1-D$ ), равномерность распределения по Симпсону ( $E$ ), равномерность распределения по Шеннону ( $J$ ).

Доля вида ( $p$ ) в сообществе вычислялась отношением численности вида  $n$  к общей численности всех видов  $N$  сообщества в пробе. Для определения видового сходства использовали индекс сходства Чекановского–Сьеренсена по формуле  $K = \frac{2c}{a+b}$ , [25-26]. Кластерный анализ сходства рыбных сообществ составлен с использованием программы PAST [27]. Карта места сбора материалов создана с помощью программы QGIS

3.22 [28]. Валидные названия рыб даны по источникам [29-30] и сведений, содержащихся в информационно-поисковой системе FishBase [31]. Пробы воды из исследованных рек проанализированы многопараметрическим анализатором воды *Hanna Instruments HI96728*, с по-

мощью которого были определены основные физико – химические показатели, как pH, общая минерализация, количество нитратов ( $\text{NO}_3^-$ ), аммония ( $\text{NH}_4^+$ ) и мутность воды [32]. Общий объем исследованного материала представлен в таблице 1.

**Таблица 1** – Общий объем исследованного материала по малым водоемам Алматинской области

№	Название водоема	Координаты	Количество экземпляров	Количество видов	Количество отобранных проб воды
1	Капшагайское НВХ	43° 42.560'С 77° 23.190'В	314	11	3
2	р. Теренкара	43° 27.540'С 77° 10.140'В	39	2	1
3	р. №3	43° 27.441'С 77° 10.811'В	37	5	1
4	р. Кайназар	43° 27.480'С 77° 11.460'В	25	4	1
5	р. Талгар	43° 27.360'С 77° 15.420'В	59	5	1
6	р. Иссык	43° 27.727'С 77° 19.151'В	14	6	1
7	р. Малый Чарын	43° 29.640'С 77° 21.240'В	28	4	1
8	р. Леп	43° 30.384'С 77° 22.626'В	28	1	1
	Всего:		544		10

### Результаты исследования и их обсуждения

*Общая характеристика обследованных водоемов.* Капшагайское нересто – выростное хозяйство было построено в 1973 году, с общей площадью более 700 га, в целях пополнения запасов растительноядных рыб и карпа в Капшагайском водохранилище. В настоящее время источником водоснабжения хозяйства является

р. Леп. Хозяйство остро испытывает нехватку воды для обеспечения всего прудового фонда, в связи с этим, в настоящее время эксплуатируются только 30% прудового фонда хозяйства [33].

В таблице 2 приведены физико-химические параметры воды из прудов Капшагайского нересто – выростного хозяйства.

**Таблица 2** – Физико-химические параметры прудов Капшагайского нересто – выростного хозяйства

Дата	Место облова	pH	Общая минерализация, мг/л	$\text{NH}_4^+$	$\text{NO}_3^-$	Мутность, FTU	T °С воды
13.08.2021	Выростной пруд	8.27	0.78	0.53	0	3.95	22
08.10.2021	Сбросной канал	8.45	2.53	0	0	3.10	15
08.10.2021	Выростной пруд	7.92	0.48	0	0.30	3.48	15
14.10.2021	Водоподающий канал	7.00	0.50	0	0	2.08	15
14.10.2021	Выростной пруд	6.47	0.30	0.15	0.10	5.23	15
14.10.2021	Сбросной канал (на выходе)	6.5	0.45	0.20	0.10	2.08	15
14.10.2021	Капшагайское водохранилище	6.5	0.27	0	0	4.68	15

Анализ воды из данного хозяйства показывает, что переменные значения pH,  $\text{NO}_3^-$  находятся в пределах нормы и допустимы для нормальной жизнедеятельности гидробионтов. Оптимальная

концентрация нитратов в воде для прудовых хозяйств находится в пределах 0,5-1,5 мг/л [26]. В двух пробах воды из выростного пруда наблюдалось содержание  $\text{NH}_4^+$  в пределах от 0,15-до 0,53

мг/л, что является крайне нежелательным для содержания молоди рыб [34].

Река *Иссык* образуется из двух притоков: левого – р. Жарсай и правого – р. Тескенсу, общая протяженность реки составляет – 121 км, из них 22 км протекают в горном ущелье под названием «Иссыкское ущелье». Река Иссык считается самой прозрачной рекой Зайлийского Алатау. Протекая по равнине впадает в р. Иле. Малые

реки Кайназар, Леп и Малый Чарын являются правыми притоками реки Иссык [35].

Река *Талгар* имеет длину 117 км и образуется от слияния Правого, Среднего и Левого Талгара. После выхода на равнину река Талгар разветвляется на два крупных и несколько мелких рукавов, которые теряются в грунте, чаще не доходят до р. Или [35]. Исследованный участок реки был относительно неглубоким, с каменистым берегом и илистым дном.



Рисунок 2 – р. Талгар в нижнем течении



Рисунок 3 – р. Леп

Река *Теренкара* является правым притоком реки Чилик. С юго-запада впадает в водохранилище Капшагай на р. Иле [35]. Средняя глубина реки составля-

ет от 1,3 до -1,5 м с каменисто–песчаным дном. Течение реки – быстрое. Физико–химические параметры воды из исследованных рек приводятся в таблице 3.

Таблица 3 – Основные физико-химические показатели воды исследованных рек

Дата	Водоем	pH	Общая минерализация, мг/л	$\text{NH}_4^+$	$\text{NO}_3^-$	Мутность. FTU	T °C воды
26.05.2022	р. Теренкара	7.50	151	0	1.30	3.43	13
26.05.2022	р. №3 Трасса ЗЕ-ЗК	7.63	69	0	0.40	10.57	16
30.05.2022	р. Кайназар	7.55	152	0	1.70	5.62	16
30.05.2022	р. Талгар	7.50	103	0	1.10	10.48	15
30.05.2022	р. Иссык	6.90	97	0	1.10	15.45	16
30.05.2022	р. Малый Чарын	6.76	156	0	1.20	6.65	15
30.05.2022	р. Леп	7.62	158	0	1.70	6.85	15

Водородный показатель в реках варьирует от слабо кислого до слабо-щелочного, что является оптимальным для роста и развития гидробионтов данного бассейна. Общая минерализация воды в реках невысока. Наиболее мутная вода была в реках Теренкара, Кайназар, Леп и Малый Чарын.

цвет воды – коричневый. В остальных реках вода также была замутненной. Во всех исследованных пробах воды присутствовали нитраты. Повышение мутности воды и содержания нитратов указывают на значительную почвенную эрозию в бассейнах всех исследованных рек.

*Характеристика ихтиофауны исследованных водоемов.* Современная ихтиофауна Балкаш – Илийского бассейна представлены в основном понтическим пресноводным и китайским равнинным фаунистическим комплексами [36]. По сведениям разных источников [37-40], в результате интродукции, видовой состав ис-

следуемого бассейна увеличился от 25-до 42 видов, из них более 50% составляют вселенцы. В настоящей работе приводятся сведения о составе ихтиофауны ранее не изученных рек, за исключением рек Иссык, Талгар и прудов Капшагайского нересто – выростного хозяйства (табл. 4).

**Таблица 4** – Таксономический список рыбного населения малых водоемов Иле – Балкашского бассейна (в пределах территории Алматинской области)

№	Виды	Происхождение	Водоемы									
			Капшагайское НВХ		Малые реки							
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Отряд карпообразные – Cypriniformes, семейство карповые – <i>Cyprinidae</i>												
1	Плотва <i>Rutilus rutilus</i> (Linnaeus, 1758)	ч	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+
2	Белый амур <i>Stenopharyngodon idella</i> (Valenciennes, 1844)	ч	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Речная абботина <i>Abbotina rivularis</i> (Basilewsky, 1855)	ч	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0
4	Амурский чебачок <i>Pseudorasbora parva</i> (Temminck et Schlegel, 1846)	ч	+	+	0	+	+	0	+	0	0	0
5	Китайский горчак <i>Rhodeus sericeus</i> (Pallas, 1776)	ч	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0
6	Серебряный карась <i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1872)	ч	+	+	0	+	+	0	+	0	0	0
7	Сазан <i>Cyprinus carpio</i> (Linnaeus, 1758)	ч	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Белый толстолобик <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (Valenciennes, 1844)	ч	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	Осман голый <i>Gymnodiptychus dybowskii</i> (Kessler, 1874)	А	0	0	+		0	0	00	0	0	0
Отряд карпообразные – Cypriniformes, семейство <i>Leuciscidae</i> ( <i>Phoxininae</i> )												
10	Гольян балхашский <i>Rhynchocypris poljakowii</i> (Kessler, 1879)	А	0	0	0	+	0	+	0	0	0	0
Семейство Балиторевые – <i>Balitoridae</i>												
11	Пятнистый губач <i>Triplophysa strauchii</i> (Kessler, 1874)	А	0	0	+	+	+	+	+	0	0	0
12	Серый голец <i>Triplophysa dorsalis</i> (Kessler, 1872)	А	0	0	0	+	0	+	+	0	0	0
13	Тибетский голец <i>Triplophysa stoliczkai</i> (Steindachner, 1866)	А	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0
Отряд сомообразные Siluriformes, семейство Сомовые <i>Siluridae</i>												
14	Обыкновенный сом <i>Silurus glanis</i> (Linnaeus, 1758)	ч	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Отряд сарганообразные Beloniformes, семейство адрианихтовые <i>Adrianichthyidae</i>												
15	Медака <i>Oryzias latipes</i> (Temminck & Schlegel, 1846)	ч	+	+	0	0	0	+	0	+	0	0
Отряд окунеобразные Perciformes, семейство окуневые <i>Percidae</i>												
16	Обыкновенный судак <i>Sander lucioperca</i> (Linnaeus, 1758)	ч	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Семейство бычковые <i>Gobiidae</i>												

17	Китайский элеотрис <i>Micropercops cinctus</i> (Dabry de Thiersant, 1872)	Ч	+	+	0	0	0	0	0	0	0
18	Китайский бычок <i>Rhinogobius brunneus</i> (Temminck & Schlegel, 1845)	Ч	+	+	0	0	0	0	0	+	0
Отряд окунеобразные Perciformes, подотряд Channoidei, семейство Змееголовые Channidae											
19	Змееголов <i>Channa argus</i> (Cantor, 1842)	Ч	0	+	0	0	0	0	0	0	0
Всего видов рыб по исследованным водоемам:			11	11	2	5	4	5	6	4	1
Примечание: А – аборигенный, Ч – чужеродный 1 – Капшагайское нересто – выростное хозяйство, выростной пруд; 2 – Капшагайское нересто – выростное хозяйство, сбросной канал; 3 – р. Теренкара; 4 – р. №3; 5 – р. Кайназар; 6 – р. Талгар; 7 – р. Иссык; 8 – р. Малый Чарын; 9 – р. Леп.											

В исследуемых водоемах нами были обнаружены 19 видов рыб включая виды, которые являются объектами искусственного разведения и выращивания в прудах рыбоводных хозяйств, которые относятся к 8 семействам, 4 отрядам. Видовое разнообразие водоемов состоит из аборигенных (25%) и чужеродных (75%) видов рыб (4 табл.).

По данным литературных источников [1,11], аборигенная ихтиофауна Балкашского бассейна включает в себя 11-13 видов рыб, из них в наших сборах были представлены лишь 5 видов (табл. 5).

Таблица 5 – Доля аборигенных рыб в составе сообществ

№	Вид	Количество, экз	Биомасса, г	Доля рыб в сообществах рек, <i>p</i>
1	Осман голый	27	94.6	р. Теренкара – 0.69
2	Гольян балхашский	5	0.61	р. №3 – 0.03; Талгар – 0.15
3	Пятнистый губач	41	149.78	р. №3 – 0.14; р. Иссык – 0.18; р. Теренкара – 0.31; р. Кайназар – 0.24; р. Малый Чарын – 0.14
4	Серый голец	11	24.87	р. №3 – 0.03; р. Иссык – 0.06; р. Талгар – 0.33
5	Тибетский голец	2	7.93	р. Талгар – 0.03; р. Иссык – 0.06

Из таблицы 5 видно, что из всех обнаруженных аборигенных видов рыб по численности и распространению доминирует пятнистый губач, доля которого в сообществах составила от 0.14 до 0.31. Малочисленными видами являются балхашский гольян (0.06) и тибетский голец (0.02), которые обнаружены в реках Талгар, Иссык и в реке №3. В малых реках нами не были обнаружены балхашский окунь, балхашская маринка и илийская маринка, занесенные в Красную Книгу Республики Казахстан [12], также в сообществах рыб не выявлены виды – голец Северцова, одноцветный губач, семиреchenский гольян, входящие в КК Алматинской области и МСОП [13-16].

Большую долю в разнообразии рыбного населения исследованных водоемов составляют чужеродные виды рыб, всего обнаружены 14

видов (74%), из них 7 (50%) видов относятся к промысловым объектам: белый толстолобик, белый амур, карп, судак, сом, змееголов, плотва, карась, в том числе 3 вида искусственно культивируются в условиях Капшагайского нересто – выростного хозяйства: белый толстолобик, белый амур, карп. Количество чужеродных видов рыб, не имеющих хозяйственной ценности составило 7 видов (50%). К ним относятся: амурский чебачок, китайский бычок, речная абботина, китайский горчак, медака, китайский элеотрис. Данные виды являются массовыми в прудах Капшагайского нересто – выростного хозяйства. В исследованных реках чужеродные виды рыб попадались от 1 до 16 экземпляров в пробе. В таблице 6 приведены видовой состав, количественное и долевое соотношение непромысловых интродуцентов (табл. 6).

Таблица 6 – Состав чужеродных видов рыб в исследованных реках

№	Виды чужеродных рыб	Водоемы											
		р. Кайназар		р. Иссык		р. Малый Чарын		р. №3		р. Леп		р. Талгар	
		N. экз	p	N. экз	p	N. экз	p	N. экз	p	N. экз	p	N. экз	p
1	Плотва	0	0	0	0	0	0	0	0	28	1	0	0
2	Речная абботина	1	0.04	5	0.31	14	0.5	0	0	0	0	0	0
3	Амурский чебачок	16	0.64	1	0.06	4	0.14	11	0.29	0	0	0	0
4	Китайский горчак	0	0	0	0	3	0.11	0	0	0	0	0	0
5	Серебряный карась	1	0.04	5	0.31	0	0	19	0.51	0	0	0	0
6	Медака	0	0	0	0	1	0.04	0	0	0	0	2	0.07
7	Китайский бычок	0	0	0	0	2	0.07	0	0	0	0	0	0
	Всего видов:	3		3		5		2		1		1	

По результатам анализа рыбных сообществ установлено, что в малых реках распространены видами являются амурский чебачок, речная абботина и серебряный карась, из них амурский чебачок и речная абботина доминируют по показателю долевого соотношения в сообществах 0.64 и 0.5 соответственно. Наибольшим видовым разнообразием чужеродных рыб обладает р. Малый Чарын. Ихтиофауна реки Леп была представлена только одним видом – плотвой. Отмечается, что плотва, как фитофильная рыба, создает плотные скопления в подпорной зоне и пойменных водоемах, где хорошо развивается водная растительность [39]. Медака и китайский бычок в сообществах представлены единичными экземплярами, с долей 0.04 и 0.07 соответственно. В рыбном сообществе р. Талгар обнаружен 1 вид чужеродной рыбы – медака с долей 0.07. Из всех исследованных рек чужеродные виды отсутствовали в р. Теренкара. Все перечисленные виды чужеродных рыб в настоящее время натурализовались и в естественных и в искусственных водоемах, а также в массовых количествах локализованы в искусственных прудах рыбоводных хозяйств. В рыбном сообществе прудов Капшагайского нересто-выростного хозяйства данные виды

распространены во всех прудах производственного назначения и являются многочисленными массовыми видами сорных рыб [40]. Из списка акклиматизированных видов непромысловых рыб, характерных для водоемов Балхаш – Илийского бассейна, в период исследований нами не были обнаружены востробрюшка *Hemiculter leucisculus* (Basilewsky) и гамбузия *Gambusia affinis holbrookii*.

В исследованных прудах Капшагайского НВХ нами были обнаружены следующие 3 вида промысловых чужеродных рыб, не являющиеся объектом культивирования: обыкновенный судак, обыкновенный сом и змееголов, при этом численность и распространение последнего растет. Присутствие перечисленных хищных видов в прудовом хозяйстве крайне нежелательно, поскольку поедая молодь культивируемых рыб, они наносят серьезный ущерб хозяйству. Проникновение этих видов в пруды, вероятно, возможно через водоподающие каналы из рек Леп и Жарсу.

Для описания разнообразия рыбных сообществ были использованы интегральные показатели разнообразия (табл.7) и построена диаграмма равномерности распределения видов (рис.4).

Таблица 7 – Индексы разнообразия рыбного населения исследованных водоемов по состоянию на 2022 г.

Показатели разнообразия сообществ	Исследованные водоемы							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Количество видов (S)	8	2	5	5	5	6	6	1



1	2	3	4	5	6	7	8	9
Общее количество рыб (n)	454	39	37	25	27	12	28	28
Индекс доминирования (D)	0.24	0.57	0.37	0.47	0.31	0.26	0.31	1.00
Индекс Симпсона (1-D)	0.76	0.43	0.63	0.53	0.69	0.74	0.69	0.00
Индекс Шеннона (H)	1.73	0.62	1.17	1.01	1.33	1.54	1.45	0.00
Равномерность распределения по Симпсону (E)	0.70	0.93	0.64	0.55	0.76	0.78	0.71	1.00
Равномерность распределения по Шеннону (J)	0.83	0.89	0.73	0.63	0.83	0.86	0.81	0

Название водоемов: 1 – Капшагайское НВХ, 2 – р. Теренкара, 3 – р. №3 река, 4 – р. Кайназар, 5 – р. Талгар, 6- р. Иссык, 7 – р. Малый Чарын, 8 – р. Леп.

Из таблицы 7 видно, что наибольшее разнообразие по индексам Симпсона (1-D) и Шеннона (H) характерны для прудов Капшагайского нересто – выростного хозяйства, рек

№3, Талгар, Иссык и Малый Чарын. Равномерность распределения по Симпсону (E) и Шеннону (J) было больше в реках Теренкара, Талгар и Иссык.

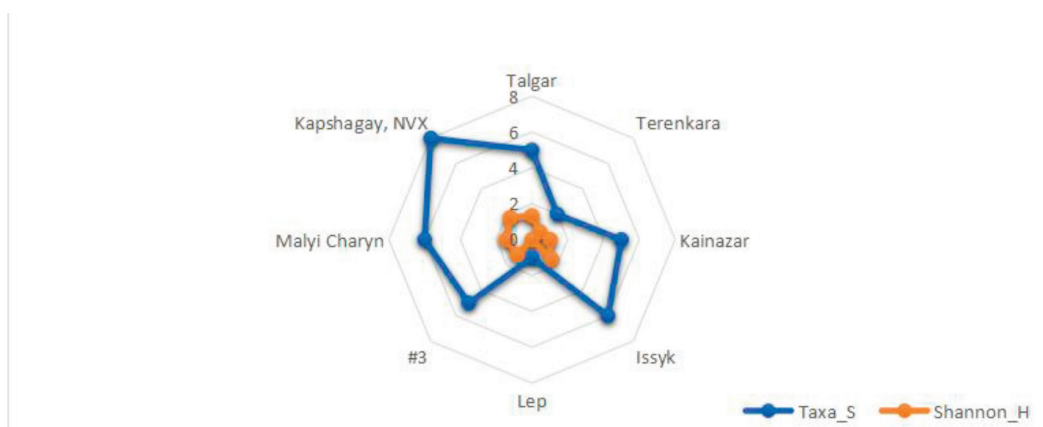


Таблица 4 – Диаграмма равномерности распределения

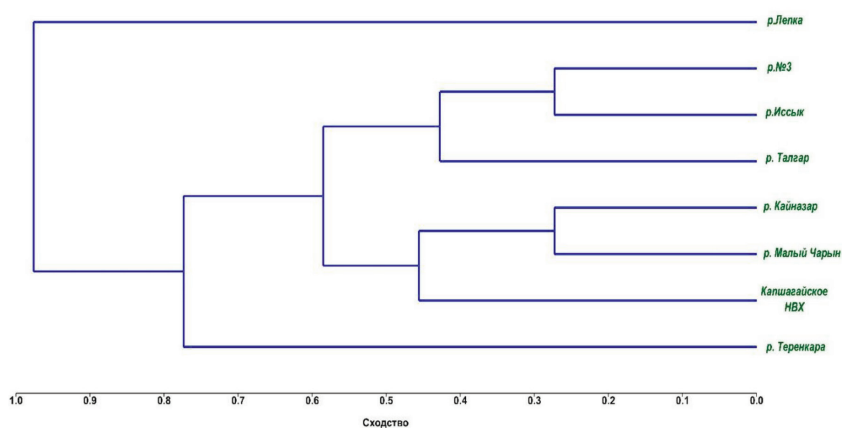


Таблица 5 – Кластерный анализ видового сходства малых водоемов Балхаш – Илийского бассейна

Кластерный анализа сходства видового состава (рис.5) выявил 3 группы водоемов: в первую группу водоемов входят Капшагайское НВХ, реки Малый Чарын, Кайназар, Талгар, Иссык и №3, сходство видового разнообразия между водоемами составила 54.5%. В данной группе водоемов обитают как аборигенные так и чужеродные виды рыб. Температура воды в водоемах находится в пределах 15-18<sup>0</sup>С. Реки Теренкара и Леп составляют остальные 2 группы и отличаются от всех исследованных водоемов бедностью видового состава ихтиофауны. В реке Леп обнаружен 1 чужеродный вид – плотва, в р. Теренкара обнаружены 2 вида – голый осман и пятнистый губач. Температура воды в реке составила 13<sup>0</sup>С. Факторами, определяющими обилие видового состава рек, являются скорость течения и температура воды.

#### **Выводы и Заключение:**

В исследованных малых водоемах всего обнаружено 19 видов рыб аборигенной и чужеродной ихтиофауны. Разнообразие аборигенной ихтиофауны состоит из пяти видов рыб, наибольшее распространение из которых получил пятнистый губач. По сравнению с результатами исследований проведенных 20 лет назад [37, 41], также установлены уменьшение численности и сокращение ареалов для тибетского гольца и

балхашского гольяна. В исследованных водоемах данные виды представлены единичными экземплярами. В реке Теренкара обнаружены исключительно аборигенные виды рыб. Установлено, наибольшее видовое разнообразие аборигенных видов в реках Талгар и Иссык.

Широко распространенными видами чужеродной ихтиофауны являются 5 видов рыб: амурский чебачок, серебряный карась, китайский горчак, речная абботина и медака. Данные виды зафиксированы в искусственных прудах, а также на равнинных участках горных рек: Иссык, Кайназар и река №3. Китайский элеотрис и китайский бычок представлены в сообществе с ценными видами рыб в прудах Капшагайского нересто – выростного хозяйства, также китайский бычок был обнаружен в единичных экземплярах в реке Малый Чарын.

Полученные данные свидетельствуют о широком расселении непромысловых видов чужеродной ихтиофауны в малых водоемах Балкаш – Илийского бассейна. Непромысловые виды чужеродной ихтиофауны встречаются не только в прудовых хозяйствах, но и в реках, где температура воды весной и летом прогревается до 18<sup>0</sup>С.

На таксономический состав ихтиофауны исследуемого бассейна существенно влияют естественные и антропогенные факторы. Все исследованные малые реки испытывают высокую антропогенную нагрузку.

#### **Литература**

- Jenkins M. Prospects for biodiversity // Science. – 2003. -Vol. 302. – P.1175-1177.
- Revenga. C., Campbell. I., Abell. R., de Villiers. P., Bryer. M. Prospects for monitoring freshwater ecosystems towards the 2010 targets // Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences. – 2005. -Vol. 360. – P. 397-413.
- Mota, M., Sousa, R., Araújo, J., Braga, C., Antunes, C. Ecology and conservation of freshwater fish: time to act for a more effective management. Ecol. Freshwater Fish. -2014. -Vol.23. -P. 111–113. <https://doi.org/10.1111/eff.12113>.
- Wang, C., Liang, Y.Q., 2017. Age and growth of *Triplophysa anterodorsalis* Zhu & Cao. 1989 in the Heishui River. China. J. Appl. Ichthyol. 33 (6). 1215–1217. <https://doi.org/10.1111/jai.13466>.
- Zhang, P., Qiao, Y., Grenouillet, G., Lek, S., Cai, L., Chang, J. 2021. Responses of spawning thermal suitability to climate change and hydropower operation for typical fishes below the Three Gorges Dam. Ecol. Indic. 121. 107186 <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107186>.
- Severskiy I.V. Water-related problems of Central Asia: some results of (GIWA) International Water Assessment Program// Ambio. V.33. №1-2. – 2004. -P.52-62.
- Митрофанов В.П. Формирование современной ихтиофауны Казахстана и ихтиогеографическое районирование // В кн.: Рыбы Казахстана. Алма-Ата: Наука. 1986. Т.1. -С. 6–40.
- Митрофанов В.П., Дукравец Г.М. Некоторые теоретические и практические аспекты акклиматизации рыб в Казахстане // Рыбы Казахстана. Алма – Ата: Ғылым. 1992. Т.5. -С.329-371.
- Xu H., Ding H., Li M. et al. The distribution and economic losses of alien species invasion to China. Biol. Invasions. Vol. 8. -2006. -P.1495–1500. <https://doi.org/10.1007/s10530-005-5841-2>.
- Mikeladze. Irakli. Biological invasion threats of biodiversity. Integrated Assessment. Vol. 2. -2015. -P.10-15.
- Liu, Y., Zheng, Y., Jahn, L.V. et al. Invaders responded more positively to soil biota than native or noninvasive introduced species. consistent with enemy escape // Biol. Invasions. Vol. 25. -2023. -P.351–364. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02919-y>.





12. Соколовский В.Р., Стрельников А.С., Терещенко В.Г., Тимирханов С.Р. Рыбы – вселенцы в Балхашской зоогеографической провинции и их влияние на аборигенную ихтиофауну // «Чужеродные виды в Голарктике (Борок-2)» Тез. Докладов Второго международного Симпозиума по изучению инвазивных видов. Рыбинск-Борок. – 2005. -С. -170-171.
13. Mamilov N. *Schizothorax argentatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T156744412A156744418. -2020.
14. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T156744412A156744418.en>
15. Mamilov N., Karimov B. *Perca schrenkii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T40709A156765012. -2020. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T40709A156765012.en>.
16. Mamilov N., Karimov B. *Triplophysalabiata*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T156722567A156722639. -2020. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T156722567A156722639.en>
17. Mamilov N. *Phoxinus poljakowii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T156735597A156735616. -2020.
18. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T156735597A156735616.en>.
19. Vasil'eva, E.D., Mamilov, N.S. & Magda, I.N. New species of Cypriniform fishes (Cypriniformes) in the fauna of the Balkhash–Ili basin. Kazakhstan. Journal of Ichthyology. Vol. 55. -2015. –P. 447–453. <https://doi.org/10.1134/S0032945215040141>
20. Mamilov, N.S., Konysbaev, T.G., Magda, I.N. and Vasil'eva E. D. Taxonomic Status of Four Rare Alien Fish Species of the Kapchagay Reservoir (Balkhash Basin, Central Asia). Journal of Ichthyology. Vol.61. -2021. -P. 339–347. <https://doi.org/10.1134/S0032945221030061>.
21. Mamilov, N., Shalakhmetova, T., Amirbekova, F., Konysbayev, T., Sutuyeva, L., Adilbayev, Z., & Abdullayeva, B. New data on diversity and distribution of fish in shallow waters in western lake balkhash (kazakhstan). Journal of Applied Ichthyology. Vol.38 (2). -2022. -P 241-246. doi:10.1111/jai.14294.
22. Araújo, F.G., Pinto, B.C.T., Teixeira, T.P. Longitudinal patterns of fish assemblages in a large tropical river in southeastern Brazil: evaluating environmental influences and some concepts in river ecology. Hydrobiologia Vol.618 (1). -2009. –P. 89–107. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9551-5>.
23. Foubert, A., Lecomte, F., Legendre, P., Cusson, M. Spatial organisation of fish communities in the St. Lawrence River: a test for longitudinal gradients and spatial heterogeneities in a large river system. Hydrobiologia Vol.809 (1). -2018. –P. 155–173. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3457-z>.
24. Liu, F., Wang, J., Zhang, F.B., Liu, H.Z., Wang, J.W. Spatial organisation of fish assemblages in the Chishui River. the last free-flowing tributary of the upper Yangtze River. China. Ecol. Freshwater Fish. Vol.30 (1). – 2021b. –P.48–60. <https://doi.org/10.1111/eff.12562>
25. Baoshan Ma, Zhipeng Chu, Ruihang Zhou, Bin Xu, Kaijin Wei, Bing Li, Tianyi Zhao. Longitudinal patterns of fish assemblages in relation to environmental factors in the Anning River, China // Ecological Indicators. Vol. 146. -2023. 109864. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023>.
26. Ресурсы поверхностных вод. Каталог ледников СССР. Т.13 Центральный и Южный Казахстан Выпуск 2. Бассейн оз. Балхаш. Часть 2. Река Чилик. – Л.: Гидрометеиздат. 1968. – 645 с.
27. Мэгаран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир. 1992. 184 с.
28. Терещенко В.Г., Терещенко Л.П., Сметанин ММ. Оценка различных индексов для выражения биологического разнообразия сообществ // Биоразнообразие: степень таксономической изученности. М.: Наука. 1994. С. 86-97.
29. Hammer Ø. et al. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia electronica. – 2001. – Т. 4. – №. 1. – С. 9.
30. QGIS Development Team. 2021. QGIS 3.22.1. Geographic InformationSystem. Open-Source Geospatial Foundation Project:<http://qgis.osgeo.org>. Дата обращения: 02.01.2023.
31. Богуцкая Н.Г., Насека А. Каталог бесчелюстных и рыб пресных и солоноватых вод России с номенклатурными и таксономическими комментариями. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2004.-389 с.
32. Карпов В.Е. Список видов рыб и рыбообразных Казахстана // В кн.: Рыбохозяйственные исследования в Республике Казахстан: история и современное состояние. Алматы: Бастау. 2005. С. 152–168.
33. Froese, R., Pauly D. Editors. 2021. FishBase. World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org). version (08/2021).
34. Муравьев А.Г. Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами // 3-е издание Кристмас+. Санкт – Петербург. 2004.
35. Кан О.М., Кегенова Г.Б., Джаллаева Л.А. Характеристика производителей карпа (*Cyprinus carpio*) Капшагайского нересто – выростного хозяйства // Вестник КазНУ. Серия экология, 1 (33) -2012.-С.121-124.
36. Карпанин Д.П., Иванов А.П. Рыбоводство. – Изд-во: Пищ. пром.Москва. 1967 г.-372 с.
37. Емельянова Л.А. Формирование рек «карасу» восточной части левобережья Илийской долины. // Биология и география. Вып.V. - Алма-Ата: Изд. МВиССО КазССР, 1970 г., с. 219-229
38. Стрельников А.С., Терещенко В.Г., Стрельникова А.П. Анализ последствий массовой акклиматизации и саморасселения новых видов рыб и их влияние на аборигенную ихтиофауну в водоемах Балхашской зоогеографической провинции // Водные биоресурсы и их рациональное использование. Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. 2016. №3. С.37-44.
39. Мамилов Н.Ш. Чужеродные виды рыб в малых водоемах Балхашского бассейна и их взаимодействия с аборигенной ихтиофауной // Мат. II между. Симпозиума Чужеродные виды в Голарктике (Борок-2). 2005. С. 190-191.
40. Мамилов Н.Ш., Балабаева Г.К., Койшыбаева Г.С. Распространение чужеродных видов рыб в малых водоемах Балхашского бассейна // Российский Журнал Биологических Инвазий № 2 2010. С.29-36.
41. Касымбеков Е.Б., Пазылбеков М.Ж. Современное состояние водных биоресурсов Балхаш – Илийского бассейна // Водные ресурсы и среда обитания. Т.3. №1. 2020 г. С.89-105.

42. Кегенова Г.Б. Видовое разнообразие сорных рыб в прудовых хозяйствах Алматинской области//Современное состояние водных биоресурсов: материалы международной конференции. г. Новосибирск. 11-13 ноября. 2021. С.132-136.
43. Тимирханов С.Р. Ихтиофауна малых рек Балхаш-Алакольского бассейна // Вестник КазГУ. серия биологическая. 2000. №4. С. 60–66.

## References

1. Araújo, F.G., Pinto, B.C.T., Teixeira, T.P. Longitudinal patterns of fish assemblages in a large tropical river in southeastern Brazil: evaluating environmental influences and some concepts in river ecology. *Hydrobiologia* Vol.618 (1). -2009. –P. 89–107. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9551-5>.
2. Baoshan Ma, Zhipeng Chu, Ruihang Zhou, Bin Xu, Kaijin Wei, Bing Li, Tianyi Zhao. Longitudinal patterns of fish assemblages in relation to environmental factors in the Anning River, China // *Ecological Indicators*. Vol. 146. -2023. 109864. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023>.
3. Boguckaya N.G., Naseka A. Каталог beschelyustnyh i ryb presnyh i solonovatyh vod Rossii s nomenklaturnymi i taksonomicheskimi kommentariyami. M.: Tovarishchestvo nauchnyh izdaniy KMK. 2004.-389 s.
4. Emel'yanova L.A. Formirovanie rek "karasu" vostochnoj chasti levoberezh'ya Ilijskoj doliny. // *Biologiya i geografiya*. Vyp.V. –Alma-Ata: Izd. MViSSO KazSSR, 1970 g., s. 219-229
5. Foubert, A., Lecomte, F., Legendre, P., Cusson, M. Spatial organisation of fish communities in the St. Lawrence River: a test for longitudinal gradients and spatial heterogeneities in a large river system. *Hydrobiologia* Vol.809 (1). -2018. –P. 155–173. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3457-z>.
6. Froese, R., Pauly D. Editors. 2021. FishBase. World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org). version (08/2021).
7. Hammer Ø. et al. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia electronica*. – 2001. – T. 4. – №. 1. – S. 9.
8. Jenkins M. Prospects for biodiversity // *Science*. – 2003. -Vol. 302. – P.1175-1177.
9. Kan O.M., Kegenova G.B., Dzhallaeva L.A. Kharakteristika proizvoditelej karpa (*Cyprinus carpio*) Kapshagajskogo neresto – vy'roznogo khozyajstva // *Vestnik KazNU. Seriya e'kologiya*, 1 (33) -2012.-S.121-124.
10. Karpanin D.P., Ivanov A.P. Rybovodstvo. – Izd-vo: Pishch. prom.Moskva. 1967 g.-372 s.
11. Karpov V.E. Spisok vidov ryb i ryboobraznyh Kazahstana // V kn.: Rybohozyajstvennye issledovaniya v Respublike Kazahstan: istoriya i sovremennoe sostoyanie. Almaty: Bastau. 2005. S. 152–168.
12. Kasymbekov E.B., Pazylbekov M.ZH. Sovremennoe sostoyanie vodnyh bioresursov Balhash – Ilijskogo bassejna // *Vodnye resursy i sreda obitaniya*. T.3.№1. 2020 g. S.89-105.
13. Kegenova G.B. Vidovoe raznoobrazie sornyh ryb v prudovyh hozyajstvakh Almatinskoy oblasti//Sovremennoe sostoyanie vodnyh bioresursov: materialy mezhdunarodnoj konferencii. g. Novosibirsk. 11-13 noyabrya. 2021. S.132-136.
14. Liu, F., Wang, J., Zhang, F.B., Liu, H.Z., Wang, J.W. Spatial organisation of fish assemblages in the Chishui River. the last free-flowing tributary of the upper Yangtze River. China. *Ecol. Freshwater Fish*. Vol.30 (1). – 2021b. –P.48–60. <https://doi.org/10.1111/eff.12562>
15. Liu, Y., Zheng, Y., Jahn, L.V. et al. Invaders responded more positively to soil biota than native or noninvasive introduced species. consistent with enemy escape // *Biol. Invasions*. Vol. 25. – 2023. -P.351–364. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02919-y>.
16. Mamilov N. Phoxinus poljakowii. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T156735597A156735616. -2020.
17. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T156735597A156735616.en>.
18. Mamilov N. Schizothorax argentatus. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T156744412A156744418. -2020. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T156744412A156744418.en>
19. Mamilov N., Karimov B. Perca schrenkii. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T40709A156765012. -2020. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T40709A156765012.en>.
20. Mamilov N., Karimov B. Triplophysa labiata. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T156722567A156722639. – 2020.
21. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T156722567A156722639.en>
22. Mamilov N.SH. Chuzherodnye vidy ryb v malyh vodoyomah Balhashskogo bassejna i ih vzaimodejstviya s aborigennoj ihtiofaunoy// *Mat. II mezhd. Simpoziuma Chuzherodnye vidy v Golarktike (Borok-2)*. 2005. S. 190-191.
23. Mamilov N.SH., Balabieva G.K., Kojshybaeva G.S. Rasprostranenie chuzherodnyh vidov ryb v malyh vodoemah Balhashskogo bassejna // *Rossijskij Zhurnal Biologicheskikh Invazij* № 2 2010. S.29-36.
24. Mamilov, N., Shalakhmetova, T., Amirbekova, F., Konyshbayev, T., Sutuyeva, L., Adilbayev, Z., & Abdullayeva, B. New data on diversity and distribution of fish in shallow waters in western lake balkhash (kazakhstan). *Journal of Applied Ichthyology*. Vol.38 (2). -2022. -P 241-246. doi:10.1111/jai.14294.
25. Mamilov, N.S., Konyshbaev, T.G., Magda, I.N. and Vasil'eva E. D. Taxonomic Status of Four Rare Alien Fish Species of the Kapchagay Reservoir (Balkhash Basin, Central Asia). *Journal of Ichthyology*. Vol.61. -2021. -P. 339–347. <https://doi.org/10.1134/S0032945221030061>.
26. Megarran E. *Ekologicheskoe raznoobrazie i ego izmerenie*. M.: Mir. 1992. 184 s.
27. Mikeladze Irakli. Biological invasion threats of biodiversity. *Integrated Assessment*. Vol. 2. -2015. -P.10-15.
28. Mitrofanov V.P. Formirovanie sovremennoj ihtiofauny Kazahstana i ihtiogeograficheskoe rajonirovanie // V kn.: *Ryby Kazahstana*. Alma-Ata: Nauka. 1986. T.1. -S. 6–40.

29. Mitrofanov V.P., Dukravec G.M. Nekotorye teoreticheskie i prakticheskie aspekty akklimatizacii ryb v Kazahstane // *Ryby Kazahstana*. Alma – Ata: Fylym. 1992. T.5. -S.329-371.
30. Mota, M., Sousa, R., Araújo, J., Braga, C., Antunes, C. Ecology and conservation of freshwater fish: time to act for a more effective management. *Ecol. Freshwater Fish.*-2014.-Vol.23.-P. 111–113. <https://doi.org/10.1111/eff.12113>.
31. Murav'ev A.G. Rukovodstvo po opredeleniyu pokazatelej kachestva vody polevymi metodami // 3-e izdanie Kristmas+. Sankt – Peterburg. 2004.
32. QGIS Development Team. 2021. QGIS 3.22.1. Geographic InformationSystem. Open-Source Geospatial Foundation Project:<http://qgis.osgeo.org>. Data obrashcheniya: 02.01.2023.
33. Resursy poverhnostnyh vod. Katalog lednikov SSSR. T.13 Central'nyj i YUzhnyj Kazahstan Vypusk 2. Bassejn oz. Balhash. CHast' 2. Reka CHilik. – L.: Gidrometeoizdat. 1968. – 645 s.
34. Revenga, C., Campbell, I., Abell, R., de Villiers, P., Bryer, M. Prospects for monitoring freshwater ecosystems towards the 2010 targets // *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*. – 2005. -Vol. 360. – P. 397-413.
35. Severskiy I.V. Water-related problems of Central Asia: some results of (GIWA) International Water Assessment Program// *Ambio*. V.33. №1-2. – 2004. -P.52-62.
36. Sokolovskij V.R., Strel'nikov A.S., Tereshchenko V.G., Timirhanov S.R. Ryby – vselency v Balhashskoj zoogeograficheskoj provincii i ih vliyanie na aborigennuyu ihtiofaunu //«CHuzherodnye vidy v Golarctike (Borok-2)» Tez. Dokladov Vtorogo mezhdunarodnogo Simpoziuma po izucheniyu invazijnyh vidov. Rybinsk-Borok. – 2005. -S. -170-171.
37. Strel'nikov A.S., Tereshchenko V.G., Strel'nikova A.P. Analiz posledstvii massovoj akklimatizacii i samorasseleniya novyh vidov ryb i ih vliyanie na aborigennuyu ihtiofaunu v vodoemah Balhashskoj zoogeograficheskoj provincii // *Vodnye bioresursy i ih racional'noe ispol'zoovanie*. Vestnik AGTU. Ser.: Rybnoe hozyajstvo. 2016.№3. S.37-44.
38. Tereshchenko V.G., Tereshchenko L.P., Smetanin M.M. Ocenka razlichnyh indeksov dlya vyrazheniya biologicheskogo raznobraziya soobshchestv // *Bioraznobraziye: stepen' taksonomicheskoy izuchennosti*. M.: Nauka. 1994. S. 86-97.
39. Timirhanov S.R. Ihtiofauna malyh rek Balhash-Alakol'skogo bassejna //Vestnik KazGU. seriya biologicheskaya. 2000. №4. S. 60–66.
40. Vasil'eva, E.D., Mamilov, N.S. & Magda, I.N. New species of Cypriniform fishes (Cypriniformes) in the fauna of the Balkhash–Ili basin. Kazakhstan. *Journal of Ichthyology*. Vol. 55. -2015. –P. 447–453. <https://doi.org/10.1134/S0032945215040141>
41. Wang, C., Liang, Y.Q., 2017. Age and growth of *Triplophysa anterodorsalis* Zhu & Cao. 1989 in the Heishui River. China. *J. Appl. Ichthyol.* 33 (6). 1215–1217. <https://doi.org/10.1111/jai.13466>.
42. Xu H., Ding H., Li M. et al. The distribution and economic losses of alien species invasion to China. *Biol. Invasions*. Vol. 8. -2006. -P.1495–1500. <https://doi.org/10.1007/s10530-005-5841-2>.
43. Zhang, P., Qiao, Y., Grenouillet, G., Lek, S., Cai, L., Chang, J. 2021. Responses of spawning thermal suitability to climate change and hydropower operation for typical fishes below the Three Gorges Dam. *Ecol. Indic.* 121. 107186 <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107186>.

<sup>1,2</sup>A.M. Kenzhegaliev , <sup>3</sup>P.A. Esenbekova \*,  
<sup>3</sup>A.C. Myrkasymova , <sup>1</sup>Zhaksybaev M.B. 

<sup>1</sup>Kazakh National Pedagogical University named after Abay, Kazakhstan; Almaty

<sup>2</sup>Kazakh SRI of Plant Protection and Quarantine named after Zh. Zhiembayeva, Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>Institute of Zoology of the Republic of Kazakhstan, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: esenbekova\_periz@mail.ru

## ARBOREAL HEMIPTERA (HETEROPTERA) OF MOUNTAIN ECOSYSTEMS OF SOUTH-EASTERN KAZAKHSTAN

The fauna of arboreal hemiptera of mountain ecosystems of south-eastern Kazakhstan includes 51 species from 10 families: Tingidae, Nabidae, Anthocoridae, Reduviidae, Miridae, Aradidae, Lygaeidae, Coreidae, Acanthosomatidae, Pentatomidae. According to trophic specialization, they are divided into 4 groups: mycetophages (3 species), phytophages (22 species), zoophytophages (8 species); zoophages (18 species), and according to life forms they are distributed into 5 groups: dendrobiont (28 species), dendro-tamnobiont (8 species), dendro-tamno-hortobiont (4 species), dendro-hortobiont (10 species); eurybiont (1 species), according to the number of generations per year, arboreal hemiptera are divided into 6 groups: monovoltine (37 species), bivoltine (5 species), 2-3 generations per year (3 species), polyvoltine (2 species), acyclic (3 species), the number of generations is unknown (1 species). Among the arboreal hemiptera of Kungei Alatau, 29 species hibernate in the imago stage, 13 species in the egg stage, 7 species in the larval and imago stages, and 2 species in the larval stage. There are 2 ecological groups in the woody hemipterofauna of mountain ecosystems of south-eastern Kazakhstan: meso-xerophiles (2 species), mesophiles (49 species). Economically, the fauna of arboreal hemiptera includes both harmful and beneficial species. Most of the harmful species belong to the families Tingidae, Miridae, Aradidae, Lygaeidae, Coreidae, Acanthosomatidae, Pentatomidae. Predatory species (Nabidae, Anthocoridae, Reduviidae, Pentatomidae, subfamilies Asopinae) are useful for humans, as they regulate the number of harmful insects in biocenoses. Analysis of the geographical distribution of the hemiptera of mountain ecosystems of south-eastern Kazakhstan allowed us to identify 17 types of species ranges. The fauna is based on species of hemiptera with Holarctic, trans-Palearctic, Western Palearctic, Trans-Eurasian, Western Eurasian habitats.

**Key words:** arboreal hemiptera, of mountain ecosystems of south-eastern Kazakhstan, mycetophages, phytophages, phytophages, zoophages.

A.M.Кенжеғалиев<sup>1,2</sup>, П.А. Есенбекова<sup>3\*</sup>, А.С. Мырқасымова<sup>3</sup>, Жақсыбаев М.Б.<sup>1</sup>

Абай атындағы Қазақ Ұлттық педагогикалық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>Ж. Жиёмбаев атындағы Қазақ өсімдік қорғау және карантин ҒЗИ, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>ҚР БҒМ ҒК «Зоология институты» РМҚ, Қазақстан, Алматы қ.

\*e-mail: esenbekova\_periz@mail.ru

### Оңтүстік-Шығыс Қазақстанның тау экожүйелерінің ағаш жартылай қаттықанаттылары (Heteroptera)

Оңтүстік Шығыс Қазақстанның тау экожүйелерінің ағаш жартылай қаттықанаттылар фаунасы 10 тұқымдасқа: Tingidae, Nabidae, Anthocoridae, Reduviidae, Miridae, Aradidae, Lygaeidae, Coreidae, Acanthosomatidae, Pentatomidae жататын 51 түрден тұрады. Олар қоректік байланысы жағынан 4 топқа бөлінеді: мицетофагтар (3 түр), фитофагтар (22 түр), зоофитофагтар (8 түр); зоофагтар (18 түр), ал тіршілік ортасына қарай 5 топқа бөлінеді: дендробионттар (28 түр), дендро-тамнобионттар (8 түр), дендро-тамно-хортобионттар (4 түр), дендро-хортобионттар (10 түр); эврибионт (1 түр), ағаш жартылай қаттықанаттылары жылына беретін ұрпақ санына қарай 6 топқа бөлінеді: моновольтинді (37 түр), бивольтинді (5 түр), жылына 2-3 рет ұрпақ беру (3 түр), поливольтинді (2 түр), ациклді (3 түр), ұрпақ саны белгісіз (1 түр). Оңтүстік Шығыс Қазақстанның тау экожүйелерінің ағаш жартылай қаттықанаттылары арасында ересек дарасы күйінде 29 түр, жұмыртқа сатысында – 13 түр, ересек дарасы және дернәсілдері сатысында – 7 түр, дернәсілдері сатысында – 2 түр қыстайды. Күнгей Алатаудың ағаш гемиптерофаунасы 2 экологиялық топқа

бөлінеді: мезо-ксерофилдер (2 түр), мезофилдер (49 түр). Шаруашылық тұрғыдан алғанда, ағаш жартылай қаттықанаттылар фаунасы зиянды да, пайдалы да түрлерді қамтиды. Зиянды түрлердің көпшілігі мына тұқымдастарға жатады: Tingidae, Miridae, Aradidae, Lygaeidae, Coreidae, Acanthosomatidae, Pentatomidae. Жыртқыш түрлер (Nabidae, Anthocoridae, Reduviidae, Pentatomidae, Asopinae тұқымдас тармағы) адам үшін пайдалы түрлер болып табылады, өйткені биоценоздардағы зиянды жәндіктердің санын реттейді. Оңтүстік Шығыс Қазақстанның тау экожүйелерінің ағаш жартылай қаттықанаттыларының географиялық таралуын талдау нәтижесінде олардың 17 таралу аймағына бөлінетіні анықталды. Фаунаның негізін голарктикалық, транспалеарктикалық, батыспалеарктикалық, трансевразиялық, батысеуразиялық таралу аймақтары бар жартылай қаттықанаттылар түрлері құрайды.

**Түйін сөздер:** ағаш жартылай қаттықанаттылары, Оңтүстік Шығыс Қазақстанның тау экожүйелері, мицетофагтар, фитофагтар, зоофитофагтар, зоофагтар.

А.М. Кенжеғалиев<sup>1,2</sup>, П.А. Есенбекова<sup>3\*</sup>, А.С. Мыркасымова<sup>3</sup>, Жаксыбаев М.Б.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Казахский НИИ защиты и карантина растений им. Ж.Жиембаева, Казахстан, г. Алматы

<sup>3</sup>РГП на ПХВ «Институт зоологии» КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: esenbekova\_periz@mail.ru

### Древесные полужесткокрылые (Heteroptera) горных экосистем Юго-Восточного Казахстана

Фауна древесных полужесткокрылых горных экосистем Юго-Восточного Казахстана включает 51 вид из 10 семейств: Tingidae, Nabidae, Anthocoridae, Reduviidae, Miridae, Aradidae, Lygaeidae, Coreidae, Acanthosomatidae, Pentatomidae. По трофической специализации они подразделяются на 4 группы: мицетофаги (3 вида), фитофаги (22 вида), зоофитофаги (8 видов); зоофаги (18 видов), а по жизненным формам распределяются по 5 группам: дендробионт (28 видов), дендро-тамнобионт (8 видов), дендро-тамно-хортобионт (4 вида), дендро-хортобионт (10 видов); эврибионт (1 вид), по числу поколений в год древесные полужесткокрылые разделяются на 6 групп: моновольтинный (37 видов), бивольтинный (5 видов), 2-3 поколения в год (3 видов), поливольтинный (2 вид), ациклический (3 вида), число поколений неизвестно (1 вид). Среди древесных полужесткокрылых горных экосистем Юго-Восточного Казахстана в стадии имаго зимуют 29 видов, в стадии яйца – 13 вида, в стадии личинки и имаго – 7 видов, в стадии личинки – 2 вида. В древесной гемиптерофауне горных экосистем Юго-Восточного Казахстана выделяются 2 экологических групп: мезо-ксерофилы (2 вида), мезофилы (49 видов). В хозяйственном отношении фауна древесных полужесткокрылых включает как вредные, так и полезные виды. Большинство вредных видов принадлежат семействам Tingidae, Miridae, Aradidae, Lygaeidae, Coreidae, Acanthosomatidae, Pentatomidae. Хищные виды (Nabidae, Anthocoridae, Reduviidae, Pentatomidae, подсемейство Asopinae) являются полезными для человека, так как регулируют численность вредных насекомых в биоценозах. Анализ географического распространения полужесткокрылых горных экосистем Юго-Восточного Казахстана позволил выделить 17 типов видовых ареалов. Основу фауны составляют виды полужесткокрылых с голарктическими, транспалеарктическими, западнопалеарктическими, трансевразийскими, западноевразийскими ареалами.

**Ключевые слова:** древесные полужесткокрылые, горные экосистемы Юго-Восточного Казахстана, мицетофаги, фитофаги, зоофитофаги, зоофаги.

## Introduction

Hemiptera are one of the most peculiar orders of insects inhabiting a wide variety of biotopes and playing an important role in biological processes in biogeocenoses. There are many predatory or mixed-food species among bedbugs, but herbivorous forms predominate; periodically multiplying in large numbers, they cause significant harm to forest and agricultural crops. Some hemiptera, being predators, exterminate pests of forests and cultivated crops [1, 2].

In Kazakhstan, despite the important economic importance of hemiptera, their species composition, biology, ecology, distribution by natural zones and vertical belts and economic importance in certain physical and geographical regions of the republic are insufficiently studied, which determines the relevance of this study.

The purpose of this work is to clarify the fauna of woody hemiptera of mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan, their biology, ecological and zoogeographic distribution and economic significance.

## Material and methods of research

The materials were collected by the authors in the mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan from 2019 to 2022. When collecting the material, standard entomological techniques were used – bedbugs were collected from herbaceous plants, shrubs and tree branches with a net; species living on the soil surface, at the roots of plants, in the forest litter, under the bark of trees and various shelters were caught with an exhaustor or tweezers [3, 4]. For species identification of species, clarification of their taxonomic position, biology, economic significance and distribution, sources from the literature list were used [5-17].

For the first time, an inventory and a comprehensive analysis of the fauna of woody hemiptera of mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan were carried out. Based on our own research, generalization of literature data and study of collection materials stored at the Institute of Zoology of the MES RK, an annotated list of woody hemiptera of mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan was compiled for the first time.

## Research results and their discussion

Below is a list of identified species of woody hemiptera of mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan.

### Family Tingidae

*Physatocheila smreczynskii* China, 1952. Tamno-dendrobionts (on shrubs and trees from the family Rosaceae); mesophyll (in forest biotopes, in mountains up to 900-1300 m [6]; wide oligophytophagus (family Rosacea); 2-3 generations per year; imago overwinter. Trans-Palearctic species.

### Family Nabidae

*Himacerus mirmicoides* (O. Costa, 1834). Horto-tamno-dendrobiont (in various herbaceous and herbaceous-shrubby, woody communities, mostly well-warmed and moderately mesophilic); mesophile (in forest clearings, under the canopy of a rare forest, in gardens, parks, meadows); zoophage (small insects: aphids, butterfly caterpillars, horsefly bugs, etc. [7]; monovoltine; imago overwinters (under plants, in litter). Western Palearctic species.

### Family Anthocoridae

*Acomporis alpinus* Reuter, 1875. Dendrobiont (on coniferous trees: Abies, Picea, Larix, Pinus), rises to the mountains up to 1200 m above sea level;

mesophile (in the forest zone, mostly in the mountains); zoophage (mainly feeds on aphids); monovoltine; imago overwinters [8]. Trans-Eurasian species.

*Acomporis pilipes* Stys, 1960. Dendrobiont (on coniferous trees); mesophyll (in the forest zone, mostly in the mountains up to 2000 m above sea level); zoophage (small insects and mites) [8]; monovoltine; imago overwinters. The North Turkestan endemic.

*Anthocoris flavipes* Reuter, 1884. Dendro-hortobiont (on shrubs and large herbaceous plants), mesophyll (in the mountains at an altitude of 1800-3000 m) [8]; zoophage; monovoltine; imago overwinters. Middle Tibetan-Tibetan mountain species.

*Anthocoris nemorum* (Linnaeus, 1761). Dendro-hortobiont (on various herbaceous, shrubby and woody plants), less often on grass; mesophyll (mountain forests, alpine and subalpine meadows, up to 1000-3000 m above sea level, found in gardens, where it plays an important role in regulating the number of pests of apple trees [17]; zoophage (wide polyphage, feeds on aphids, ticks, worms, thrips, eggs and caterpillars of the scoop, eggs of Miridae; 2-3 generations per year; imago overwinters. It is distributed throughout the Palearctic, mainly in the forest zone. In Tajikistan, it was collected on Caragana arborescens (in a colony of larvae of Psylla vera leafhopper), Myricaria, sea buckthorn [8]. Trans-Palearctic species.

*Anthocoris pilosus* (Jakovlev, 1877). Dendro-hortobiont (in the mountains it is found in large numbers on herbaceous plants, shrubs and deciduous trees: Populus, Salix, fruit trees), mesophyll; zoophage (feeds on aphids, larvae of leafhoppers, Miridae, thrips, eggs and caterpillars of butterflies, mites), is one of the main enemies of different species of aphids on woody and shrubby breeds; polyvoltine 4-5 generations per year; imago overwinters. This species is the most effective in reducing the number of apple aphids in the Almaty fruit-growing zone [18]. Trans-Eurasian species.

*Tetraphleps aterrima* (J.Sahlberg, 1878). Dendrobiont (in mixed forests and spruce woodlands lives on cedar woodland, larch, birch and pine); mesophyll (in mountains up to a height of 2700-2900 m); zoophage (small insects, their larvae and eggs); monovoltine; imago overwinters. In the literature, it is mentioned from fir [19]. Trans-Eurasian species.

*Orius horvathi* (Reuter, 1884). Dendro-hortobiont (on various herbaceous plants: Medicago, Trofolium, etc.); mesophyll (from deserts to highlands, in floodplains of rivers); zoophage (aphids,



leafhoppers, thrips, small caterpillars of butterflies, ticks and their eggs, eggs of a harmful turtle, bread bug); 2-3 generations per year; imago overwinters. Feeding on aphids (*Aphis pomi*), tobacco thrips and mites was noted [8]. Trans-Palearctic species.

*Orius vicinus* (Ribaut, 1923). Tamno-hortobiont (on the flowers and leaves of various herbaceous plants, shrubs, trees); mesophyll (on different stations, from deserts to highlands up to 2000 m or more); zoophage (a wide polyphage, mainly with scutes and other small insects); bivoltine; imago overwinter. It was found on a birch tree in Tuva [20]. Trans-Eurasian species.

### Family Reduviidae

*Empicoris culiciformis* (De Geer, 1773). Eurybiont (doesn't have a clear station and tiered confinement and can be found in a wide variety of moderately moistened biotopes); mesophile (a wide variety of moderately moistened biotopes, on soil and on bushes, on bark and under bark, sometimes in bird nests); zoophage (blood-sucking mosquitoes, book and dust lice, barn pests, hay eaters: *Liposcelis divinatorium*, *Trogium pulsatorium*); the number of generations is unknown; adults and larvae of older ages overwinter. Birds' nests, bark cracks, tree hollows, piles of dry leaves and grasses are used as winter shelters [21]. Flying into the light. Holarctic species.

*Rhynocoris annulatus* (Linnaeus, 1758). Dendro-hortobiont (on trees: pine, spruce, juniper, birch, hazel, alder, oak, aspen; on various shrubs and herbaceous vegetation: umbelliferous, leguminous, compound-flowered); mesophyll (forest, forest-steppe zones, riverine forests); omnivorous zoophage (leaf beetles, wasps, bees, butterfly caterpillars and others); one generation per year; larvae of IV-V ages overwinter. Overwintering of larvae is proved by field observations [22]. West Eurasian species.

*Rhynocoris iracundus* (Poda, 1761). Dendro-hortobiont; mesophyll (various natural zones: from settled valleys and hot, sparsely wooded slopes of foothills and low mountains to high-altitude forest clearings and subalpine meadows up to 2000 m, on plains on trees, shrubs and herbaceous vegetation); zoophage (they lie in wait for prey on tall flowering plants and willingly catch various insects: leaf beetles, wasps, bees, butterfly caterpillars, etc.); one generation per year; older larvae overwinter [21]. It overwinters in the larval and imago stages [23]. Western Palearctic species.

### Family Miridae

*Deraeocoris olivaceus* (Fabricius, 1777). Dendrobiont (on various broad-leaved trees and shrubs); mesophyll; zoophytophagus; monovoltine; imago overwinter. Trans-Eurasian species.

*Agnocoris rubicundus* (Fallen, 1807). Dendrobiont (on deciduous, fruit trees and shrubs, more often on eve); mesophyll (mixed forest, in floodplains, in mountains 800-2300 m); polyphytophagus (feeds on seeds of willow *Salix*, maple, etc.); monovoltine; winter imago. It is listed among the pests of fruit crops [23, 24], which, apparently, does not correspond to reality. Holarctic species.

*Apolygus limbatus* (Fallen, 1807). Dendrobiont; mesophyll (forest zone); polyphytophagus (mainly on willows, as well as on birch and alder); bivoltine; eggs overwinter. Trans-Eurasian species.

*Dichrooscytus consobrinus* Horvath, 1904. Dendrobiont (on juniper); mesophyll (on steep rocky slopes); narrow oligophytophagus (*Juniperus* sp.); monovoltine [25]; imago hibernate. Altai-Altava mountain type.

*Dichrooscytus pseudosabinae* Reuter, 1896. Dendro-hortobiont; mesophyll (apple forest, clearings, subalpine meadow, up to 2400 m); polyphytophagus (on juniper and grassy plants); monovoltine; imago overwinter. Turkestan-Altava mountain type.

*Pinalitus rubricatus* (Fallen, 1807). Dendrobiont (in the crown of coniferous trees), mesophyll; zoophytophagus; bivoltine; eggs overwinter. Western Palearctic species.

*Blepharidopterus angulatus* (Fallen, 1807). Dendrobiont (on hardwoods of *Alnus*, *Betula*, *Salix*, *Corylus* and other fruit trees); mesophyll (in valley mixed forests and mountain stream near the upper border of the forest); zoophytophagus (feeds on aphids); monovoltine; eggs overwinter. Trans-Palearctic species.

*Malacocoris chlorizans* (Panzer, 1794). Dark dendrobiont (on fruit, deciduous trees and shrubs). Rosaceae; mesophyll; zoophytophagus (small insects and other invertebrates); bivoltine; eggs overwinter. West Eurasian species.

*Orthotylus melanotylus* Kerzhner, 1962. Dendrobiont (on deciduous trees); mesophyll (mixed forest, on *Salix*, on the floodplain on *Tamarix*, *Myricaria*, in the mountains at an altitude of 800-1200 m); zoophytophagus; monovoltine; eggs overwinter. Flying into the light. Altai-Turkestan-North Turanae species.

*Orthotylus oshanini* Reuter, 1883. Dendrobiont (on Spiraea); mesophyll (steppe, floodplain meadows, in the mountains 800-1500 m); zoophytophagus; monovoltine; eggs overwinter. Middle East Eurasian species.

*Campylomma verbasci* (Meyer-Dur, 1843). Dendro-hortobiont; mesophyll (steppe, wasteland, low-mountain meadow, 700-1200 m); zoophytophagus (on various deciduous, including fruit trees – apple trees, pears, suckers; on grasses: Verbascum, Carduus, where Psylla mali and other small insects, mites and their eggs feed); polyvoltine; eggs overwinter [26]. Trans-Palearctic species.

*Compsidolon alatavicum* (Kerzhner, 1962). Dendrobiont; mesophyll (mixed forest, upper border of coniferous woodlands, 1000-2400 m); narrow oligophytophagus (Picea schrenkiana); monovoltine; eggs hibernate (Kerzhner, 1962). Alatava is endemic.

*Psallus anticus* (Reuter, 1876). Dendrotamnobiont (on willow, oak, spiraea and karagana (Esenbekova, 2008); mesophyll (steppes, deciduous forests, meadows, in valleys of mountain rivers, in mountains up to 900-1500 m); zoophytophagus; monovoltine; eggs overwinter [27]. Srednetetiskie species.

*Sacculifer rufinervis* (Jakovlev, 1880). Dendrobiont; mesophyll (steppes, steppe slopes, in mountains up to 900-1100 m); narrow oligophytophagus (on Spiraea hypericifolia) [27]; monovoltine; eggs overwinter. Turkestan-Turan species.

#### Family Aradidae

*Aradus aterrimus* Fieber, 1864. Dendrobiont (on Pinus pine); mesophyll (in the mountains rises to a height of 2300-2500 m above sea level); mycetophagus; feeds on mushroom juice; acyclic; overwinters imago and larvae of all stages. Trans-Eurasian species.

*Aradus cinnamomeus* Panzer, 1794. Dendrobiont (on young pines); mesophyll; mycetophagus, feeds on mushroom juice; acyclic; imago and larvae of all stages overwinter [28]. West Eurasian species.

*Aradus lugubris* Fallen, 1807. Dendrobiont (on the tinder of coniferous trees in the mountains); mesophyll, mycetophagus, feeds on mushroom juice [12]; acyclic; imago and larvae of all stages overwinter. Holarctic species.

#### Family Lygaeidae

*Arocatus roeselii* (Schilling, 1829). Dendrobiont (on coniferous trees under the bark, alder fruits Alnus); mesophyll; polyphytophagus; monovoltine, winter imago. Western Palearctic species.

*Orsillus depressus* (Mulsant & Rey, 1852). Dendrobiont (on coniferous, more often on juniper); mesophyll (subalpine meadow); wide oligophytophagus; monovoltine; eggs overwinter. Western Palearctic species.

*Orsillus maculatus* Fieber, 1861. Dendrobiont (in pine cones, cypress and juniper); meso-xerophile; wide oligophytophagus; monovoltine; eggs overwinter. In Cyprus, Cupressus sempervirens has been recorded in cones [11]. West Eurasian species.

*Kleidocerys resedae resedae* (Panzer, 1797). Dendro-tamnobiont (almost everywhere where there is birch and alder); mesophyll (forest-steppe, in the mountains up to 2000 m above sea level); polyphytophagus (Betula, Fraxinus, Alnus, Ledum, Spiraea, Corylus); monovoltine; imago overwinter, larvae of V age – under the bark, in hollows, in rolled up dry leaves. Mainly on birch trees, as well as on other trees and shrubs. Sometimes it is noted in large populations and then sucking pedicels, birch catkins causes their massive fall and actually destroys the harvest of birch seeds. Damaged leaves bend the edges to the lower side [23]. Trans-Eurasian species.

*Oxycarenus modestus* Fallen, 1829. Dendrobiont (trophically related to alder Alnus); mesophyll (in the mountains up to 1500 m); narrow oligophytophagus (on Alnus glutinosa, A. incana); monovoltine; imago and larvae of different ages overwinter (in old alder cones, under the bark of different trees [11]. West Eurasian species.

*Gastrodes grossipes grossipes* (De Geer, 1773). Dendrobiont (in cones of spruce, pine and fir; under bark scales); mesophyll (coniferous forests); broad oligophytophage (seeds of Pinus, Abies, Larix and other trees); bivoltine, winter imago. Trans-Eurasian species.

#### Family Coreidae

*Gonocerus patellatus* Kiritshenko, 1916. Dendrobiont (inhabitant of tree species: Rosa, etc.); mesophyll; polyphytophagus; monovoltine; imago hibernate [30]. Iranian-Turanian species.

*Gonocerus juniperi* Herrich-Schaffer, 1839. Dendrobiont (inhabitant of tree species: on Juniperus, as well as Cupressus, Pinus, Picea, Guercus, etc.); meso-xerophile; wide oligophytophagus (mainly on juniper and other conifers); monovoltine; imago hibernate under the bark of trees and in the forest litter [31]. Western Palearctic species.

#### Family Acanthosomatidae

*Acanthosoma spinicolle* Jakovlev, 1880. Dendrobiont (on deciduous and coniferous trees); meso-

phyll (in forests: mixed forest, 900-1000 m); polyphytophagus; monovoltine; imago overwinter [11, 32]. East Palearctic species.

*Elasmucha ferrugata* (Fabricius, 1787). Dendro-tamnobiont (on *Ribes* currant, *Lonicera* honeysuckle, etc.); mesophyll (in forests, in valleys of rivers and streams, in mountains up to 1500 m); polyphytophagus (noted as a pest of berry bushes, on red currant [33]); monovoltine; imago overwinter. Trans-Palearctic species.

### Family Pentatomidae

*Arma custos* (Fabricius, 1794). Dendro-hortobiont (on single trees and shrubs, on the slopes of dry hills and mountains, edges, parks, shaded wet and swampy forest areas, in floodplain forests, especially on *Salix* willow and alder *Alnus*); mesophile (mixed mesophilic forests, in the mountains up to 900-1300 m); zoophage (feeds on various small arthropods, more often by larvae of leaf beetles, actively looking for prey); monovoltine; imago overwinter [10, 34]. Trans-Eurasian species.

*Jalla dumosa* (Linnaeus, 1758). Dendro-hortobiont (on various woody and herbaceous plants); mesophyll (forest-steppe zone, in the mountains within the limits of subalpine meadows, ecologically associated with mesophytic areas of sparse forests, forest meadows); zoophage (feeds on various small arthropods); monovoltine; winter imago. In the literature [10] it is also noted that bedbugs and larvae feed on the juices of aromatic plants, such as oregano (*Oryganum*), mint (*Mentha*). Trans-Eurasian species.

*Picromerus bidens* (Linnaeus, 1758). Dendrobiont (forest zone, forest-steppe, mountain-forest belt, sometimes enters the steppes, broad-leaved, mixed and coniferous forests, rises into the mountains to the upper border of the forest); mesophyll (forest meadows, clearings, tree-shrub vegetation of river valleys, birch-aspen spikes, occasionally on deposits and fields); zoophage (various small arthropods, can occasionally feed on vegetable juice); monovoltine; eggs overwinter [32, 35]. Holarctic species.

*Rhacognatus punctatus* (Linnaeus, 1758). Dendrobiont (forest zone, forest-steppe, mountain-forest belt, in mixed forests, on *Salix*, *Betula*, aspen, raspberry, nettle, etc. plants); mesophyll (moistened forest meadows, river valleys with woody and shrubby vegetation); zoophage (various small arthropods); monovoltine; winter imago. The imago of the new generation appears in mid-August [36]. Trans-Palearctic species.

*Zicrona caerulea* (Linnaeus, 1758). Horto-tamnobiont; mesophyll (on floodplains in the steppe,

in forests, tree plantations and near them, often on grasses, meadows on *Polygonum* sp. and others, in mountains up to 800-2600 m, on subalpine meadows); zoophage (feeds on various small arthropods, destroys larvae of leaf beetles *Haltica* spp.); monovoltine; imago overwinter [10]. Holarctic species.

*Chlorochroa juniperina juniperina* (Linnaeus, 1758). Dendrobiont; mesophyll (foothills, subalpine belt); wide oligophytophagus (on larch, scots pine, b.h. juniper *Juniperus nana*); monovoltine; winter imago. A new generation in early August [36]. Trans-Palearctic species.

*Chlorochroa pinicola* (Mulsant & Rey, 1852). Dendrobiont (on coniferous: juniper, spruce, b.h. on pine); mesophyll (forest zone, forest-steppe, mountain-forest belt); narrow oligophytophagus (species of the genus *Pinus*); monovoltine; imago overwinter [37]. Euro-Siberian-Kazakh species.

*Palomena prasina* (Linnaeus, 1761). Dendro-tamno-hortobiont (on trees, imago, after leaving wintering, fly off to open places, including cultural fields, later they return to forests, but mainly keep to the edges; larvae develop on herbaceous plants and shrubs); mesophyll (apple and mixed forest); polyphytophagus (more often on shrubs and trees: *Ribes*, *Rubus*, *Rosa*, *Quercus*, *Crataegus*, *Prunus*, *Sorbus*, *Acer*, *Fraxinus*, *Tilia*, *Betula*, *Alnus*, etc.); monovoltine; winter imago. A new generation in early August [36]. Western Palearctic species.

*Palomena viridissima* (Poda, 1761). Dendro-tamnobiont (on trees and shrubs from the family. Rosaceae); mesophyll; polyphytophagus (more often on deciduous trees [10]; monovoltine; imago overwinter. Trans-Palearctic species.

*Pentatoma rufipes* (Linnaeus, 1758). Dendro-tamnobiont; typically forest (mostly in deciduous forests, rises to a height of up to 1700 m above sea level); mesophyll; polyphytophagus (on various trees and shrubs: *Quercus*, *Fagus*, *Tilia*, *Betula*, *Acer*, *Alnus*, *Corylus*, *Cornus* and others; sucks vegetative and generative parts [10]; monovoltine; larvae overwinter. Trans-Eurasian-oriental view.

*Piezodorus lituratus* (Fabricius, 1794). Dendro-tamnobiont; mesophyll (steppe, tall grass meadows, floodplain forest, edges, clearings, rises into the mountains to a height of 1500 m above sea level); wide oligophytophagus (on various Leguminosae *Leguminosae*: *Vicia*, *Caragana*, etc., young imagos are often found on many types of trees and shrubs [10]; monovoltine; imago overwinter. Western Palearctic species.

The following is a list of identified species of arboreal hemiptera (Heteroptera) Mountain ecosystems of South-Eastern Kazakhstan (Table 1).

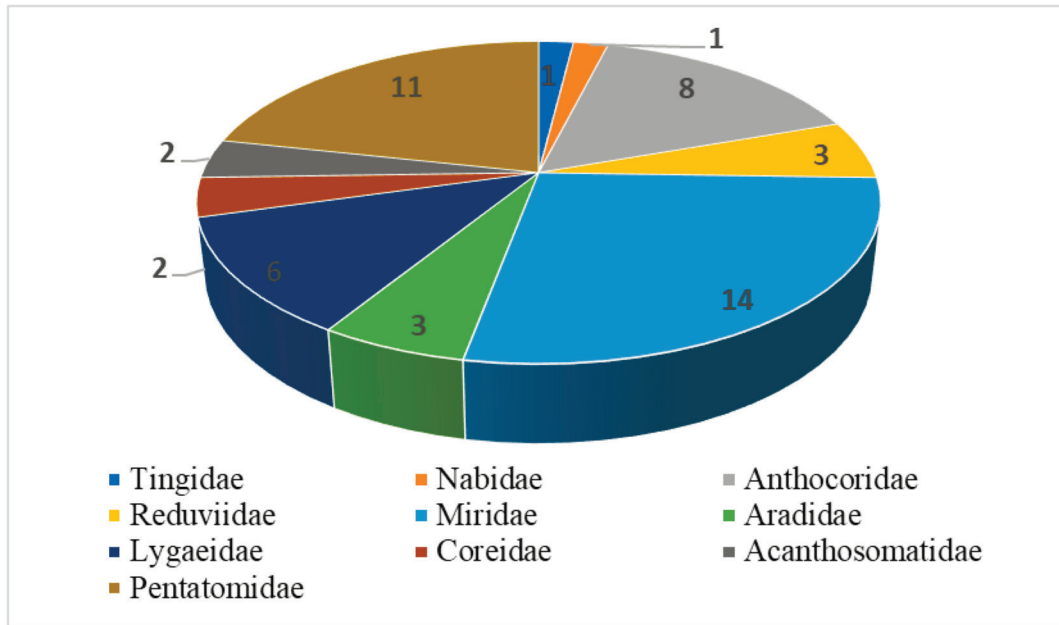
**Table 1** – Taxonomic composition of woody hemiptera (Heteroptera) of mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan

Family	Species	Quantity	%
Tingidae	<i>Physatocheila smreczynskii</i> China, 1952	1	2
Nabidae	<i>Himacerus mirmicoides</i> (O.Costa, 1834)	1	2
Anthocoridae	<i>Acompocoris alpinus</i> Reuter, 1875	8	16
	<i>Acompocoris pilipes</i> Stys, 1960		
	<i>Anthocoris flavipes</i> Reuter, 1884		
	<i>Anthocoris nemorum</i> (Linnaeus, 1761)		
	<i>Anthocoris pilosus</i> (Jakovlev, 1877)		
	<i>Tetraphleps aterrima</i> (J.Sahlberg, 1878)		
	<i>Orius horvathi</i> (Reuter, 1884)		
	<i>Orius vicinus</i> (Ribaut, 1923)		
Reduviidae	<i>Empicoris culiciformis</i> (De Geer, 1773)	3	6
	<i>Rhynocoris annulatus</i> (Linnaeus, 1758)		
	<i>Rhynocoris iracundus</i> (Poda, 1761)		
Miridae	<i>Deraeocoris ventralis</i> Reuter, 1904	14	27
	<i>Agnocoris rubicundus</i> (Fallen, 1807)		
	<i>Apolygus limbatus</i> (Fallen, 1807)		
	<i>Dichrooscytus consobrinus</i> Horvath, 1904		
	<i>Dichrooscytus pseudosabinae</i> Reuter, 1896		
	<i>Pinalitus rubricatus</i> (Fallen, 1807)		
	<i>Blepharidopterus angulatus</i> (Fallen, 1807)		
	<i>Malacocoris chlorizans</i> (Panzer, 1794)		
	<i>Orthotylus melanotylus</i> Kerzhner, 1962		
	<i>Orthotylus oshanini</i> Reuter, 1883		
	<i>Campylomma verbasci</i> (Meyer-Dur, 1843)		
	<i>Compsidolon alatavicum</i> (Kerzhner, 1962)		
	<i>Psallus anticus</i> (Reuter, 1876)		
<i>Sacculifer rufinervis</i> (Jakovlev, 1880)			
Aradidae	<i>Aradus aterrimus</i> Fieber, 1864	3	6
	<i>Aradus cinnamomeus</i> Panzer, 1794		
	<i>Aradus lugubris</i> Fallen, 1807		
Lygaeidae	<i>Arocatus roeselii</i> (Schilling, 1829)	6	12
	<i>Orsillus depressus</i> (Mulsant & Rey, 1852)		
	<i>Orsillus maculatus</i> Fieber, 1861		
	<i>Kleidocerys resedae resedae</i> (Panzer, 1797)		
	<i>Oxycarenus modestus</i> Fallen, 1829		
	<i>Gastrodes grossipes grossipes</i> (De Geer, 1773)		
Coreidae	<i>Gonocerus patellatus</i> Kiritshenko, 1916	2	4
	<i>Gonocerus juniperi</i> Herrich-Schaffer, 1839		
Acanthosomatidae	<i>Acanthosoma spinicolle</i> Jakovlev, 1880	2	4
	<i>Elasmucha ferrugata</i> (Fabricius, 1787)		
Pentatomidae	<i>Arma custos</i> (Fabricius, 1794)	11	21
	<i>Jalla dumosa</i> (Linnaeus, 1758)		
	<i>Picromerus bidens</i> (Linnaeus, 1758)		
	<i>Rhacognatus punctatus</i> (Linnaeus, 1758)		
	<i>Zicrona caerulea</i> (Linnaeus, 1758)		
	<i>Chlorochroa juniperina juniperina</i> (Linnaeus, 1758)		
	<i>Chlorochroa pinicola</i> (Mulsant & Rey, 1852)		
	<i>Palomena prasina</i> (Linnaeus, 1761)		
	<i>Palomena viridissima</i> (Poda, 1761)		
	<i>Pentatoma rufipes</i> (Linnaeus, 1758)		
<i>Piezodorus lituratus</i> (Fabricius, 1794)			
10		51	100

**Conclusion**

The fauna of woody hemiptera (Heteroptera) of the mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan

includes 51 species from 10 families: Tingidae (1), Nabidae (1), Anthocoridae (8), Reduviidae (3), Miridae (14), Aradidae (3), Lygaeidae (6), Coreidae (2), Acanthosomatidae (2), Pentatomidae (11) (diagram 1).



**Diagram 1** – Distribution of species by family

According to trophic specialization, woody hemiptera of mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan are divided into 4 groups: mycetophagus (3 species); the main core of the fauna consists of phytophages (22 species): narrow oligophytophagus (5 species), wide oligophytophagus (6 species), polyphytophagus (11 species), zoophytophages (8 species); zoophages (18 species).

According to life forms, woody hemiptera of mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan are divided into 5 groups: dendrobiont (28 species), dendro-tamnobiont (8 species), dendro-tamno-hortobiont (4 species), dendro-hortobiont (10 species); eurybiont (1 species).

According to the number of generations per year, woody hemiptera of mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan are divided into 6 groups: monovoltine (37 species), bivoltine (5 species), 2-3 generations per year (3 species), polyvoltine (2 species), acyclic (3 species), the number of generations is unknown (1 species).

Among woody semi-hard-winged mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan, 29 species

hibernate in the imago stage, 13 species in the egg stage, 7 species in the larval and imago stages, and 2 species in the larval stage.

In the hemipterofauna of woody hemiptera of mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan, 2 ecological groups are distinguished: meso-xerophiles (2 species), mesophiles (49 species).

Economically, the fauna of woody semi-hard-winged mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan includes both harmful and beneficial species. Most harmful species are pests of forestry and agriculture [27, 28]. They mainly belong to the families Tingidae, Miridae, Aradidae, Lygaeidae, Coreidae, Acanthosomatidae, Pentatomidae. Predatory species (Nabidae, Anthocoridae, Reduviidae, Pentatomidae, subfamilies Asopinae) are useful for humans, as they regulate the number of harmful insects in biocenoses [28, 29].

Analysis of the geographical distribution of semi-hard-winged mountain ecosystems of Southeastern Kazakhstan allowed us to identify 17 types of species ranges. The fauna is based on species of hemiptera with Holarctic (5 species), trans-Palearc-

tic (9 species), Western Palearctic (8 species), trans-Eurasian (12 species), Western Eurasian (5 species) habitats. In the remaining species ranges, only one species is known: East Palearctic (1 species), Middle Tethyan (1 species), Iranian-Turan (1 species); Turkestan-Turan (1 species), Central Tibetan-Tibetan mountain (1 species), Altai-Altava mountain (1 species), Turkestan-Altava mountain (1 species), Altai-Turkestan-North Turan (1 species), Central

East Eurasian (1 species), Euro-Siberian-Kazakhstan (1 species), trans-Eurasian-oriental (1 species), Altava endemic (1 species).

**Source of financial support for the article.**

The name of the topic of the scientific, scientific and technical program BR10965224 “Working out the cadaster of the animal world of the Northern Tien Shan to preserve their genetic diversity”.

**References**

1. Rabitsch W. (2010) True bugs (Hemiptera, Heteroptera). *BioRisk*. No 4, pp. 407-433.
2. Vinokurov N.N., Golub V.B., Kanyukova E.V. (2010) Catalogue of hemiptera insects (Heteroptera) of the Asian part. Novosibirsk: Publishing house of SB AS. 319 p. [In Russian].
3. Golub, V.B., Tsurikov, M.N. & Prokin, A.A. (2012) Insect collections: material collection, treatment and storage. Moscow: Association of Scientific Publications KMK, 339 p. [In Russian].
4. Cristiano F. Schwertner, Renan Carrenho, Felipe F.F. Moreira, Gerasimos Cassis. (2021) Hemiptera Sampling Methods, Measuring Arthropod Biodiversity, 10.1007/978-3-030-53226-0, (289-313), (2021).
5. Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region. (2013) Supplement / eds. B. Aukema, Chr. Rieger. Netherlands Entomol. Soc. Amsterdam. Vol. 6. 629 p.
6. Putshkov V.G. (1974). Berytidae, Pyrrhocoridae, Piezmatidae, Aradidae and Tingidae. // Fauna of Ukraine. – T. 21. – VIP. 4. – Kiev. – 332 s. [In Russian].
7. Pericart J. (1983) Hemipteres Tingidae Euro-Mediterraneens. Federation Francaise des societees de sciences naturelles. Paris. T. 69. 620 p.
8. I.M. Kerzhner (1981). Semi-winged family Nabidae. Proboscis insects. // Fauna of the USSR. – T. 13. – Vol. 2. – L. Nauka, 1981. – 327 p. [In Russian].
9. Elov E.S. (1976) Hemiptera sem. Anthocoridae (Heteroptera) Central Asia and Kazakhstan. *Entomological Review*. Vol. 55. Issue. 2. pp. 369-380. [In Russian].
10. Puchkov V.G. (1962) Coreidae. Fauna of Ukraine. T. 21. Vol. 2. Kiev, AS USSR,. 163 c. [In Russian].
11. Puchkov V.G. (1965) Pentatomoidea of Central Asia (Hemiptera). *Frunze: Ilim*. 329 p. [In Russian].
12. Puchkov V.G. (1969). Lygaeidae // Fauna of Ukraine. – T. 21. – Issue. 3. – Kiev: View. AS USSR. – 388 p. [In Russian].
13. Kerzhner, I.M., Yachevsky, T.L. (1964). Order Heteroptera (Hemiptera) Semi-winged. Key to insects of the European part of the USSR: in five volumes / I. M. Kerzhner, T. L. Yachevsky. – M., L.: Science. – T. 1. – S. 655–845. [In Russian].
14. Kirichenko A.N. (1913). Semi-winged insects (Insecta, Hemiptera) // Fauna of Russia and neighboring countries. – T. 1. – Vol. 1. – 301 s.
15. Petrova V.P. (1975) Pentatomidae of Western Siberia (Hemiptera). Novosibirsk. 236 p. [In Russian].
16. Chernova G.P. (1979). New palearctic species of the family Coreidae (Heteroptera). // *Entomol. review*. – Vol. 58. – Issue 3. – pp. 578-581. [In Russian].
17. Puchkov V.G. (1987) Hemiptera. Reduviidae. Fauna of Ukraine. *Naukova dumka*. Kiev. Vol. 21. Issue 5. 248 p. [In Russian].
18. Asanova R.B., Iskakov B.V. (1977). Harmful and useful hemiptera (Heteroptera) Kazakhstan. The determinant. Alma-Ata: Publishing house “Kainar”. 204 p. [In Russian].
19. Josifov M.V. (1974) Die Heteropteren der bulgarischen Schwarzmeerküste. *Bulletin de l’Institut de Zoologie et Musée*. N. 39. S. 5-27.
20. Heiss E. (1980) Nomenklatorische Änderungen und Differenzierung von *Aradus crenatus* Say, 1831, und *Aradus cinnamomeus* Panzer, 1806, aus Europa und USA. (Insecta: Heteroptera, Aradidae). *Berichte des Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereins in Innsbruck*. Bd. 67. S. 103-116.
21. Chernova G.P. Heteroptera of the families Coriidae, Alydidae and Stenocephalidae of the faunas of the USSR and neighboring countries: Abstract. dis. cand. biol. sciences. – L., 1979. – 20 p. [In Russian].
22. Neymorovets V.V. (2003) Supplement to the fauna of Hemiptera (Heteroptera) Krasnodar Territory and the Republic of Adygea. *Entomological Review*. Vol. 82. Issue 3. pp. 584-589. [In Russian].
23. Kirichenko A.N. (1918) Hemiptera-Heteroptera of the Caucasus region. Notes of the Caucasus. Museum. Series A. No. 6. Part I. 177 p. [In Russian].
24. Gydayatov D.A. Semi-winged groups of the pentatomomorph of Azerbaijan. – Baku: Elm Publishing House, 1982. – 160 p. [In Russian].
25. Josifov M. (1981) Heteroptera, Pentatomoidea. II. Fauna in Bulgaria. T. 12. Sofia. 205 p.
26. Thomas D.B. (1983) Taxonomic status of the genera *Chlorochroa* Stall, *Rhytidilomia* Stal, *Lioderion* Kirkaldy, and *Pitedia* Reuter, and their included species (Hemiptera: Pentatomidae) // *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 76(2). P. 215-224.

5-бөлім  
**АДАМ ЖӘНЕ ЖАНУАРЛАР ФИЗИОЛОГИЯСЫ**

---

Section 5  
**HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY**

---

Раздел  
**ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

IRSTI 77.05.01, 77.05.015

<https://doi.org/10.26577/eb.2023.v94.i1.013>**S.S. Alibekova** , **I.S. Aliev** , **S.A. Aliyev** Azerbaijan State Academy of Physical Culture and Sport, Azerbaijan, Baku  
\*e-mail: [ilgar.aliyev@sport.edu.az](mailto:ilgar.aliyev@sport.edu.az)

## SPORTIVE STRESS AND ITS IMPACT ON THE IMMUNE STATE OF ATHLETES DEALING WITH FREESTYLE WRESTLING

The article is dedicated to the study of the effect of physical loads on the maintenance and functional activity of lymphocytes in the peripheral blood system of freestyle wrestlers in the dynamics of the training macrocycle. Because of the impact from physical loads, a decrease occurs in the content of lymphocytes and their functional activity is reduced. Those changes depend on the intensity of physical loads; they become maximal at the end of the competition period and minimal in the transition period. It may be assumed that the immune system plays a significant role in the adaptation of the body to significant physical loads. The results of the conducted study show that the characteristics of cellular immunity are formed in wrestlers already at an early stage of sports training. It happens partly because of the presence of static pathology, associated with the reaction to physical loads within the framework of the training process. An enhanced immunological examination of wrestlers with an assessment of the mitochondrial activity of the lymphocyte population enables us to evaluate the individual threshold level of physical loads, the excess of which leads to a disturbance of the immune metabolism. Therefore, the inclusion of an additional transitional period in the training macrocycle helps to a more complete recovery of the studied indicators.

**Key words:** sport stress, physical load, adaptation, immunity, lymphocytes, functional activity, wrestlers.

С.С. Әлібекова, И.С. Әлиев, С.А. Әлиев

Әзірбайжан Мемлекеттік Дене Шынықтыру Академиясы  
Мәдениет және спорт, Әзірбайжан, Баку қ.  
\*e-mail: [ilgar.aliyev@sport.edu.az](mailto:ilgar.aliyev@sport.edu.az)

### Спорттық стресс және оның еркін күреспен айналысатын спортшылардың иммундық күйіне әсері

Мақала жаттығу макроциклінің динамикасында еркін күресшілердің шеткі қан жүйесіндегі лимфоциттердің сақталуына және функционалдық белсенділігіне физикалық жүктемелердің әсерін зерттеуге арналған. Физикалық жүктемелердің әсерінен лимфоциттердің құрамы төмендейді және олардың функционалдық белсенділігі төмендейді. Ол өзгерістер физикалық жүктемелердің қарқындылығына байланысты; олар бәсекелестік кезеңінің соңында максималды, ал өтпелі кезеңде минималды болады. Иммундық жүйе дененің маңызды физикалық жүктемелерге бейімделуінде маңызды рөл атқарады деп болжауға болады. Жүргізілген зерттеу нәтижелері балуандарда жасушалық иммунитеттің ерекшеліктері спорттық жаттығулардың бастапқы кезеңінде қалыптасатынын көрсетті. Бұл ішінара жаттығу процесі аясында физикалық жүктемелерге реакциямен байланысты статикалық патологияның болуына байланысты болады. Лимфоциттер популяциясының митохондриялық белсенділігін бағалай отырып, балуандардың күшейтілген иммунологиялық сараптамасы физикалық жүктемелердің жеке шекті деңгейін бағалауға мүмкіндік береді, оның асып кетуі иммундық метаболизмнің бұзылуына әкеледі. Сондықтан оқу макроцикліне қосымша өтпелі кезеңді енгізу зерттелетін көрсеткіштерді толық қалпына келтіруге көмектеседі.

**Түйінді сөздер:** спорттық стресс, физикалық жүктеме, бейімделу, иммунитет, лимфоциттер, функционалдық белсенділік, балуандар.



С.С. Алибекова, И.С. Алиев, С.А. Алиев  
 Азербайджанская Государственная Академия Физической  
 Культуры и Спорта, Азербайджан, г. Баку  
 \*e-mail: ilgar.aliyev@sport.edu.az

### Спортивный стресс и его влияние на иммунное состояние спортсменов, занимающихся вольной борьбой

Статья посвящена изучению влияния физических нагрузок на содержание и функциональную активность лимфоцитов в системе периферической крови борцов вольного стиля в динамике тренировочного макроцикла. Из-за воздействия физических нагрузок происходит уменьшение содержания лимфоцитов и снижается их функциональная активность. Эти изменения зависят от интенсивности физических нагрузок; они становятся максимальными в конце соревновательного периода и минимальными в переходный период. Можно предположить, что иммунная система играет существенную роль в адаптации организма к значительным физическим нагрузкам. Результаты проведенного исследования показывают, что особенности клеточного иммунитета формируются у борцов уже на раннем этапе спортивной подготовки. Отчасти это происходит из-за наличия статической патологии, связанной с реакцией на физические нагрузки в рамках тренировочного процесса. Усиленное иммунологическое обследование борцов с оценкой митохондриальной активности популяции лимфоцитов позволяет оценить индивидуальный пороговый уровень физических нагрузок, превышение которых приводит к нарушению иммунного метаболизма. Поэтому включение дополнительного переходного периода в тренировочный макроцикл способствует более полному восстановлению изучаемых показателей.

**Ключевые слова:** спортивный стресс, физическая нагрузка, адаптация, иммунитет, лимфоциты, функциональная активность, борцы.

#### Introduction

Several massive studies have shown that professional sports of the highest achievements have a depressing effect on the immune system. It has been determined that the frequency of acute and chronic diseases increases sharply in athletes at the peak of their sports form, which naturally reduces their athletic potential and the ability to achieve the best result. It was revealed that professional athletes, especially during periods of intense training, had an increased sensibility to infectious diseases such as upper respiratory tract infections. The main reason for this sensibility is considered the immunosuppression that is caused by physical loads. The final mechanism for the development of immunosuppression in professional athletes has not yet been elucidated, although it can be assumed that this is caused by the depletion of compensatory mechanisms and the disruption of the adaptation of the immune system (Aghayeva S, Alibekova S., 2015; Alibekova S, Aliyev S., 2017; Alibekova S., 2020a; Alibekova S., 2020b; Sterling Yu., 2007).

The changes occurred in the immune system under the impact of sports stress also has a contribution character, thus enabling to assume that immunological markers are more informative for studying physical loads of lower and moderate intensity (Alibekova S., 2020a; Gavrilin V., 2007; Courneya, K, et al., 2009).

It should be mentioned that before there existed a belief about the beneficial effects of physical culture and sports. It contributes to a decline in morbidity and an increase in life expectancy. Until modern circumstances, information has been accumulated on the ambiguous effect of physical loads during physical education and sports on immunity (Alibekova S., 2020a; Alibekova S., 2020b; Gavrilova E., 2009; Sterling Yu., et al, 2013). The carried-out studies entirely evidence the dependence of the parameters of the body's immunological reactivity on the volume and intensity of loads. It has been shown that with a moderate amount of physical activity, immunity indicators increase, but the greater the intensity of physical loads, the lower the immunological reactivity of the body may be. At the same time, minimal physical loads in terms of energy consumption leave immunity indicators stable and contributes to a stimulating effect on the immune system. Considering adaptation from the standpoint of immunity, R.S. Suzdalnitsky and V.A. Levando (2003) distinguish four phases of immunological adaptation. In the first phase, called the mobilization phase, the immunological reserves of the body are mobilized in response to low-intensity (heart rate up to 16 bpm) training loads. As the intensity and volume of training loads increase, a compensation phase is noted, in which the physiological protection of the body remains almost at the same level as in the previous phase. According to the data from these

authors, the third phase – the phase of decompensation, is observed, as a rule, in the competitive period against the background of high-intensity loads and is characterized by a severe decrease in immunity. After responsible competitions, acting as stress factors, the onset of functional paralysis of the immune system is possible. The fourth phase is observed after a significant reduction in training loads, when the indicators of the immunological and hormonal status are gradually restored (Gavrilova E., 2009; Gunina L., 2013; Khaydukov et al., 2009).

A comprehensive study of humoral factors of general and local immunity is sufficiently informative method for studying the immunological reactivity of a human body under stressful conditions. It is able to promptly identify the discrepancy between the loads presented and the functional capabilities of the immune system and signal a developing breakdown of adaptive mechanisms (Alibekova S., 2020b; Gavrilin V., 2007; Gavrilova E., 2009; Gunina L., 2013; Dichko E., 2013; Musin Z., 2007; Osadchaya O., et al., 2013).

As it is obvious, skeletal muscles have the unique ability to increase oxygen consumption essentially during contraction. These, of course, lead to the intensification of free radical oxidation, the initiation of adaptation and reparation, or, under certain conditions, to the development of inadaptation and functional deficiency. Since the role of free radical processes in the implementation of the influence of physical activity on the body was clarified, a period of intensive study began on the molecular mechanisms of damage to cellular and subcellular structures by free radicals, including reactive oxygen species. Up to nowadays, data have been collected on the significance of the free radical oxidation reaction within physiological processes during physical activity and the participation of the products of these reactions in the development of pathological conditions in athletes (Gavrilin V., 2007; Heint H., 2007).

In normal cases, any response of the body under the influence of stress-causing factors (including during physical loads) can be accompanied by a short-term increase in the number of reactive oxygen species and (Shephard R., 2010) there are two different types of natural oxygen species in the cell: the first are extremely active low molecular weight radicals with a relatively short period of existence – intermediate products of incomplete reduction of the oxygen molecule (superoxide anion radical, nitroxide, semi-ubiquinone), as well as oxygen molecules in the singlet state (nitric oxide, peroxy-nitric, hypohalogenites, etc.). The second type includes less de-

structive and larger radicals, which are formed during the interaction of radicals of the first type with cell biomolecules and have a relatively long lifecycle (for example, hydroxyl radical, lipid radicals). Although the direct determination of the content of reactive oxygen species in living cells is very difficult, because they have a high reactivity and a short half-decay. During the past decade, direct evidence has been obtained regarding an increase in the content of active oxygen both in the mitochondria of the muscle tissue of a healthy untrained person after physical load, and in the blood of qualified athletes immediately after submaximal loads (Gavrilin V., 2007; Sugiura S., 2000).

Intense physical loads also negatively affect the immune resistance of athletes and increases the sickness rate (Alibekova S., 2020b; Walsh N., et al., 2011). Within the framework of sports immunology, the primary spheres of study are the effect of intense muscular activity on the immune system and the development of maintaining the functions of the immune system in athletes (Walsh N., et al., 2011). The study of immunological parameters in athletes at various stages of the annual training cycle undeniably indicates the regularity of the allocation of such a nosology as sports stress immunodeficiency, which belongs to the category of secondary immunodeficiencies (Alibekova S., 2020b). This type of immunodeficiency is fundamentally different from secondary immunodeficiency conditions considered in the clinical practice of internal diseases due to the peculiarities of pathogenesis and clinical and laboratory manifestations. It is characterized by a numerous recorded changes in all parts of the immune system, profound metabolic changes and a pronounced imbalance of the neuroendocrine system (Suzdalnitsky R., 2003). A high level of metabolic processes against the background of physical exertion leads to stress on the immune system in the process of removing a large amount of decay products resulting from redox reactions. The intensification of metabolism in the immunocompetent cells themselves leads to disruption of the formation and accelerated disintegration of directly immune structures, which leads to dysregulation of the immune system. At the same time, it is necessary to remember that there are certain genetic determinants that determine the individual threshold level of physical activity for the athlete's body, the excess of which leads to metabolic and immune disturbances (Alibekova S., 2020b; Dychko E., et al., 2012; Musin Z., 2007; Osadchaya O., et al., 2013). In other words, sports activity serves as the background, where the

insolvency of the immune system is revealed, which is largely associated with genetic or acquired reduction in stress resistance.

The modern training process and competitive activity of athletes are associated with a high volume and level of physical loads that exceed the limit of functional capabilities of a body. In this regard, certain relevant and actual issues arise such as increasing the functional reserves of the body, contributing to an increase in the duration or intensity of physical loads, without exhausting these possibilities to the limit.

The objective of the study is to study the effect of sports stress on the immune status of athletes involved in freestyle wrestling.

### Materials and methods

The work summarizes the results of an immunological examination of 16 wrestlers aged 19-20 years old (average age 19.5 years) with 1-2 mass categories. The training macrocycle included four periods: 1st – precompetitive, lasting 3 months, with a frequency of training 3 times a week for 2 hours. each; 2nd – competitive, lasting 2-3 days, with the number of sparring 2-6 for the entire duration of the competition; 3rd – transition period, lasting 10 days with light training 2 times a week, 4th – additional transitional period with light training 2 times a week. The control group consisted of 10 practically healthy untrained individuals aged 19-20 years. The study was performed in compliance with all the provisions of bioethics. Blood sampling for research was carried out at the beginning and at the end of each period (in the first hour after exercise). To accomplish the task, hematological methods were used: the determination of the absolute and relative number of lymphocytes in peripheral blood was determined on an automatic analyzer (MEK 8222, Japan), their quantitative and qualitative char-

acteristics (microlymphotoxic method with monoclonal antibodies NPO Med-Bio-Spect, Moscow). Whole blood stabilized with EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid). Lymphocytes were isolated on a ficoll-verografin density gradient according to a modified Boyum method. The leukocyte formula was determined by direct counting of cellular elements in a thin smear stained according to the May-Grünwald-Romanovsky method. The cellular link of immunity was studied using flow cytometry on a FACS Calibur analyzer (Becton Dickinson, USA). Determination of the main subpopulations of lymphocytes (CD3+ (mature T-lymphocytes), CD4+ (T-helpers / inducers), CD8+ (T-suppressors) (using a set of four-color direct monoclonal antibodies Multi Test IMK (Becton Dickinson, USA). Multiset program (Becton Dickinson, USA).

### Results and their discussion

Based on the outcomes of conducted studies, it was established that the level of general health of the examined wrestlers was satisfactory. All subjects trained according to a single plan, however, the degree of adaptation to this load was different. It is worth to mention that all participants in the study at the time of the survey had a specialized sports experience of at least four years. The participants were divided into two groups: experimental (group I) and control (group II). These groups varied based on the extent of adaptation to physical loads. The average share of work in the second and third pulse zones was 11.3% in the experimental group with high adaptation and 23.1% in the control group with low adaptation, and the Maximum Oxygen Consumption (VO<sub>2</sub> max) was 49.7 ml O<sub>2</sub>/kg/min. and 45.4 ml O<sub>2</sub>/kg/min., respectively. No statistically significant differences were found between the groups in terms of other morpho-physiological parameters (Table 1).

**Table 1** – The effect of training process on morpho-functional characteristics of the wrestlers of the control and experimental groups (M±m)

Indicators	Control		Experimental	
	At the beginning of cycle	At the end of cycle	At the beginning of cycle	At the end of cycle
1	2	3	4	5
Age, years	18.5±3.4	19.0±1.3	18.5±2.4	19.4±3.0
Height, cm	178.5±1.8	180.5±2.0	181.2±1.7	183.1±2.2 *
Resting heart rate, bpm	70.6±1.2	74.4±1.2	68.0±1.4	75.0±1.1*

1	2	3	4	5
Heart rate Anaerobic threshold, bpm	172.0±0.7	180.0±0.9	174.0±0.7	180.0±0.6*
Heart rate max, bpm	182.0±0.50	200.3±0.52**	192.0±0.40	196.0±0.52*
Maximum oxygen consumption (VO <sub>2</sub> max), O <sub>2</sub> /kg/min	44.5±0.8	46.8±0.85	47.0±0.82	58.0±0.79**
Blood oxygen level (saturation), %	98,0	99,0	98,5	99,5
Proportion of muscle tissue, %	51.6±3.1	52.7±2.40**	53.5±2.55	57.0±2.48**
Proportion of adipose tissue, %	12.3±2.7	19.6±2.75*	11.5±2.70	14.5±2.90*
Mass, kg	65.5±0.9	69.6±1.2	68.5±1.0	72.6±1.3*

Note: difference between the groups \* – p<0,05, \*\* – p<0,001

Based on anthropometric data, mass proportion of adipose tissue and muscle tissue was calculated. In experimental group, after intense training loads, the mass proportion of muscle tissue was significantly higher than in control group with lower resistance of training loads 52.15% (51.6-52.7) and 55.25% (53.5-57.0), respectively. The proportion of adipose tissue was to the certain extent higher in control group and constituted 15.90% (12.3-19.6), while this indicator was 13.0% (11.5-14.5) in exper-

imental group. However, the given differences were not so essential from the statistical perspective.

The values for the main hematological indicators: the concentration of hemoglobin, the number of red blood cells, reticulocytes and platelets, as well as the level of hemotocrite practically did not varied in the group of athletes and persons of the control group who were not actively engaged in sport. There was no expression of those values both as a response to the training and for the duration of training cycle (Table 2).

**Table 2** – The effect of training process on the main indicators in the blood (g/l) of wrestlers from control and experimental groups (M±m)

Indicators	Control		Experimental	
	At the beginning of cycle	At the end of cycle	At the beginning of cycle	At the end of cycle
Hemoglobin, g/l	154.6±0,6	165.0±0,05	152.0±0,07	164.2±0,08
RBC (red blood cells), 10 <sup>12</sup> cells/l	4.98±0,08	5.35±0,05	4.88±0,007	5.45±0,08
Reticulocytes, %	4.0±0,2	7.0±0,3	3.5±0,2	5.2±0,6
Thrombocytes (platelets), 10 <sup>9</sup> /l	245.0±0,02	333.0±0,03	235.0±0,07	318.0±0,04
Hemacotrites, %	46.0±0,09	48.3±0,013	44.8±0,018	48.9±0,025
Average hemoglobin concentration in 1 red blood cell, kg	31.4±0,03	32.7±0,0035	30.3±0,045	31.5±0,018

Immunological history (Anamnesis morbi) was obtained by the method of interviewing athletes. The frequency of cold diseases in experimented athletes ranged to 2-3 cases per year. There were no signs of colds observed for any of the athletes at the time of study. According to anamnesis data, the body temperature during colds ranged from 37 to 39°C (based on information from the experimented individuals). There were no statistically significant differences between groups on this basis.

The anamnesis data is confirmed by laboratory information (Table 3). In the first group, the level

of total Ig E in the blood serum of athletes ranged from 159.3 to 536.7 IU/ml. All experimented athletes from this group had an increased level of total Ig E. There were no such experimented athletes in the second group, and the level of Ig E ranged from 12.0 to 95.4 IU/ml. The group of athletes with varying resistance of training loads significantly differed in the level of Ig E (p=0.016). As a response to the training load, no changes in the level of Ig E in the blood serum of athletes were observed. During the observation period, no expressed dynamics of the Ig E level was recorded in any athlete.

**Table 3** – The effect of training cycle on the immune system of wrestlers from control and experimental groups (M±m)

Indicators	Groups	Control		Experimental	
		Until loads, n=5	After loads, n=5	Until loads, n=6	After loads, n=6
General Ig G, g/l		8,70±2.1	13,50±2.4*	13,60±2.6	15,77±2.8*
General Ig A, g/l		1,72±0.70	2,13±0.6	2,53±0.7	3,64±0.62
General Ig M, g/l		0,94±0.54	2,80±0.50	1,09±0.01	1,51±0.70
General Ig E, IU/ml		12,35±6.4	72,97±6.00*	201,00±7.0	443,90±7.1*
C <sub>3</sub> component, g/l		0,49±0.11	1,84±0.13	0,62±0.10	1,69±0.18
C <sub>4</sub> component, g/l		0,19±0.08	0,33±0.07	0,22±0.04	0,30±0.13

Note: difference between the groups \* – p<0,05, \*\* – p<0,001

As it is obvious from the Table 3, under the impact of physical loads on the human immune system, the number of leukocytes increases, but their functional activity is tangibly reduced, the antigen – the presenting ability of macrophages is suppressed, depression of natural cells is observed, the number of T-lymphocytes decreases, the proliferative response of lymphocytes to T-mitogens is suppressed, and immunoglobulins disappear from blood or saliva during competition. The stress response during physical loads is realized through the sympatho-adrenal and hypothalamic-pituitary-adrenocortical system, which leads to an increase in the level of catecholamines and glucocorticoids. It is worth to mention that volume and intensive training have a powerful effect on the hormonal system. After such loads in the blood, there is a decrease in testosterone and other hormones involved in anabolic processes, and this is reflected in the immunological reactivity of especially young athletes. The physiological and biochemical processes that occur in the muscles during work should be necessarily tracked to understand the causes that affect the human immune system during physical loads.

Consequently, the study outcomes (Table 4) showed that the level of lymphocytes in the examined athletes before physical loads was

20.00±0.45%. After applying heavy loads, the content of peripheral blood lymphocytes was studied and this indicator increased by 24.05 ± 0.25%, which corresponds to the criteria for an adaptive training response.

General concentration of leukocytes in the blood of athletes was 19% lower (p < 0,05) than in control group (5,88±0,15 and 7,26±0,28, respectively). The content of lymphocytes and neutrophils in percentage is 11% higher (p<0.05); the increased content of monocytes in the blood of athletes makes us to pay attention on it: there are 43% (p<0.01) more of these cells with a nonspecific response. It was also fixed in the study that the immune system indicators do not change in athletes before performing heavy loads, and this is consistent with the data of some authors, indicating that in most cases the state of the immune system does not have any changes in athletes. Therefore, some authors consider that sports immunology is the immunology of a healthy person under conditions of essential sports loads (Yasko V, et al., 2012; Nieaman D., 2010).

Thus, the analysis of the obtained results shows that the assessment of the state of the immune system under the influence of physical activity should be carried out considering many factors, especially the type and direction of physical loads.

**Table 4** – The dynamics of indicators for functional state of blood leukocytes in the wrestlers of control and experimental groups in the various periods of training process (M±m)

Indicators	Control group	Experimental group
1	2	3
	Preparatory period	
Leukocytes, g/l	6,20±0,15	7,26±0,28
Lymphocytes, g/l	1,54±0,08	1,21±0,30
Monocytes, g/l	0,30±0,07	0,42±0,25
Neutrophils, g/l	4,1±0,04	4,55±0,29
	Competition period	

1	2	3
Leukocytes, g/l	5,80±0,16	5,38±0,18
Lymphocytes, g/l	1,72±0,07	1,65±0,24
Monocytes, g/l	0,70±0,06	0,24±0,23
Neutrophils, g/l	4,60±0,05	4,25±0,30
	Transition period	
Leukocytes, g/l	6,10±0,18	5,80±0,24
Lymphocytes, g/l	1,40±0,09	1,30±0,26
Monocytes, g/l	0,25±0,07	0,16±0,26
Neutrophils, g/l	4,4±0,08	3,10±0,18

Note: difference between the groups \* – p<0,05, \*\* – p<0,001

While being directed towards the classification of development of sportive stressor immune-deficit proposed by R. Shefgard (2010), we may state that the study conducted at the basic stage of the training process corresponded to the phase of mobilization or the phase of compensation for the response of the immune system. As the literature data shows (Pershin B, et al., 2002), these phases are characterized by a dissociation syndrome, in which, against the background of regular physical loads of medium or high intensity, some immunological indicators increase against the background of a decrease in others, and in the compensation phase, the number of reduced indicators exceeds the number compensatory increases. It is worth to mention that changes in the cellular link of the immune system in different age groups are varying at all. For younger athletes, regardless of the presence of hotspots (foci) of chronic infection, a significant decrease in the number of cells in the population is typical. In the older age group, hotspots of chronic infection show a significant increase in the number of regulatory T-lymphocytes compared with clinically healthy peers. In athletes of the older age group, changes in the parameters of the immune system are more typical for highly qualified athletes at the basic stage of the training cycle and are accompanied by activation of the effector link of cellular immunity, especially at the site of chronic infection and functional impairment of the cardiovascular system in the form of a violation of myocardial repolarization processes. In adult athletes, an increase in mitochondrial cell activity witnesses their functional activation and may be a compensatory response of T-lymphocytes to regulatory T-lymphocytes. An increase in the mitochondrial activity of cells indicates their functional activation and may be a compensatory reaction of minor populations, which mainly carry out regulatory functions, in response to the syndrome of dissociation of the main lymphocytic populations.

The evaluation of cumulative data obtained in the course of studies shows that, certain symptoms of latent immunodeficiency are developed in young athletes already in the early stages of professional sports training. They are in the form of inhibition of the effective link of cellular immunity with compensatory activation of a number of minor populations of lymphocytes in athletes with hotspots of chronic infection. In athletes of the older age group at the basic stage of the training cycle, changes in the parameters of the immune system are already more typical for highly qualified athletes and are accompanied by the activation of an effective link of cellular immunity, especially against the background of foci of chronic infection and functional disturbances of the cardiovascular system. Detailed changes occurred in the parameters of the immune system require closer attention from sports doctors, because they are a risk factor for the pathological transformation of the “sports heart” in young ages (Alibekova S., 2020b; Gavrilova E., 2009; Gunina L., 2013, Dychko E., et al., 2012; Heint H., 2007; West N., 2008).

### Conclusion

We should highlight this fact as well, that an extended immunological examination of young athletes with an assessment of the mitochondrial activity of lymphocyte populations allows us to assess the individual threshold level of physical loads, the excess of which leads to metabolic and immune disorders. The indicators of the immune system can go beyond the physiological boundaries and be pathological, if they are under the impact of high intense physical loads; it may cause an increase in morbidity and a decrease in sports performance. However, although we have this information about immune changes, it can hardly be argued that their nature and significance have not been adequately studied.

Thus, it was established that when exposed to the effect of physical loads, the functional activity of peripheral blood lymphocytes of athletes becomes lesser, which is expressed in a decrease in sports secretion of IL-2, IL-6, IL-10, as well as in a decline in the cytotoxic activity of CD16+ cells. Changes in the secretory and cytotoxic activity of lymphocytes depend on the intensity of physical loads. They are moderate in the pre-competitive period, and the largest – in the competitive period; in the transitional period of the training process, the changes become decreasing. The inclusion of an additional transitional period in the training process contributes to the complete normalization of the functional activity of lymphocytes. It has been

established that in the pre-competitive and competitive period of the training macrocycle, the absolute content of CD3+, CD4+, CD8+ lymphocytes in the peripheral blood of wrestlers decreases with the formation of a relative hypersuppressive variant of the immunodeficiency situation, under the effect of physical load. Immune disturbances are assessed as moderate in the pre-competitive period and as the greatest – in the competitive period. In the transitional period, there is no complete normalization of the parameters of the subpopulation composition of lymphocytes. The inclusion of an additional transitional period in the training macrocycle enables to make to a more complete recovery of the studied indicators.

### References

1. Агаева С.Э., Алибекова С.С. О взаимосвязи физических нагрузок, окислительного стресса и иммунного ответа. 5-я Международная конференция студентов и молодых ученых «Студенческий спорт: здоровье и процветание нации», Казань, 2015, Т.2, с.40-45
2. Алибекова С.С., Алиев С.А. Влияние тренировочных нагрузок на некоторые иммунные показатели и липидный спектр крови у борцов. // Материалы XXIII съезда Физиологического общества им. И.П. Павлов. (18-22 сентября 2017 г. г. Воронеж. 2017. С. 240-242.)
3. Алибекова С.С. «Влияние физических нагрузок на липидный профиль и иммунную систему крови у активных борцов». София, Болгария, 11-13 марта 2020 г., стр.54-64
4. Алибекова С.С. Влияние интенсивных физических нагрузок на уровень перекисных липидов, липидный профиль и функциональное состояние иммунной системы крови у борцов. // Материалы 10-й Международной научной конференции студентов и молодых ученых. Омск-2020.-С.74-79.
5. Стерлинг Ю.И., Кнорринг Г.Ю., Сизякина Л.П. Особенности регуляции иммунной системы при высоких физических нагрузках // Цитоклины и восстановление. – 2013. – Т.6. – № 2. – с.29-41
6. Алибекова С.С. Влияние физических нагрузок на иммунную систему борцов. // 1-я Международная научно-практическая конференция «Евразийский научный конгресс» (27-28 января 2020 г.) Barca Academy, издательство Barcelona. Испания. 2020 стр. 39-42
7. Гаврилин В.А. Спортивный стресс и его цена // Педагогика, психология и медико-биологические проблемы физического воспитания и спорта. Харьков, 2007, вып.2. – с.39-43
8. Курнея К.С., Селлар С.М., Стевинсон С., Макнили М.Л., Педдл С.Дж., Фриденрайх С.М., Танкель К., Баси С., Чуа Н., Мазурек А., Рейман Т. , Рандомизированное контролируемое исследование влияния аэробных упражнений на физическое функционирование и качество жизни у пациентов с лимфомой // J Clin Oncol. – 2009. – 560 с.
10. Суздальницкий Р.С., Левандо В.А. Новые подходы к пониманию иммунодефицитов при спортивном стрессе // Теория и практика физической культуры. – 2003. – №1, – с.18-22.
11. Гаврилова, Е.А. Стрессовый иммунодефицит у спортсменов. М., 2009. – 192 с.
12. Гунина Л.М. Окислительный стресс и адаптация: метаболические аспекты действия физических нагрузок // Наука в олимпийском спорте. Киев, №4, 2013. – с.19-25
13. Дычко, Е.А. Влияние физической нагрузки на содержание и функциональную активность лимфоцитов периферической крови дзюдоистов в течение тренировочного макроцикла / Е.А. Дычко, В.В. Флегантова, В.В. Дычко // Научно-практический журнал «Лечебная физкультура и спортивная медицина», 2012, № (106). – с.23 – 29
14. Мусин З.Х., Латуков С.В. Иммунная система человека и физические нагрузки // Медицинская иммунология. – 2007. – Т.9 – №1. – С.35-38.
15. Осадчая О.И. Иммунный статус спортсменов при физических нагрузках / О.И. Осадчая, М.М. Левон, П.С. Назар // Научный журнал олимпийских видов спорта. 2013. № 4. – С.74-88.
16. Гаврилин В.А. Метаболические и иммунные изменения у спортсменов, занимающихся греко-римской борьбой, и их коррекция с помощью антиоксидантов и энтеросорбентов (Монография). Луганск: СПД Резников В.С., 2009. – 110 с.
17. Хайнт, Х. Гриндхейт. Стресс / H/Heint // Биол. Мед. – 2007. – 510 с.
18. Sugiura, S., Ингибирующий фактор лейкоцитов необходим для нормальной воспалительной реакции на повреждение периферической и центральной нервной систем in vivo и является хемотаксическим для макрофагов in vitro / S.Sugiura, R.Lahav, J.Nan, S.Y.Коц, Л.Р.Баннер, Ф.де Пабло, П.Х.Паттерсон // Eur J Neurosci. – 2000. – Т.12.
19. Уолш Н.П., Глисон М., Шепард Р.Дж. и другие. Заявление о позиции, часть первая: Иммунная функция и упражнения. // Упр. Иммунол. 2011. – 17. – С.6-63.

20. Измайлова Т.Д. Показатели клеточного иммунитета и митохондриальной активности различных популяций лимфоцитов у юных спортсменов на базовом этапе тренировочного процесса. – 2012. – № 12 (108), – с.15-22.
21. Першин, Б.Б. Реакции иммунной системы на физические нагрузки / Б.Б. Першин, А.Б. Гелиев, Д.В. Толстов // Российский иммунологический журнал. – 2002. – Вып. 7. – с. 1-24
22. Таймазов В.А. Спорт и иммунитет / В.А. Таймазов, В.Н. Цыган, Э.Г. Мокеева. – СПб.: Олимп. СПб, 2003, – 200 с.
23. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Черешнев, В.А. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (метод многоцветного цитометрического анализа) // Медицинская иммунология. – 2009. – Т.11. – № 2-3. – с.227-238
24. Ясько Г.В. Влияние силовых тренировок на иммунный статус спортсменов-бодибилдеров / Г.В. Ясько, В.В. Флегонтова // Клиническая патология и патологическая физиология. – 2012. – Т.7. № 1. – с.328-350
25. Глисон, М. Физические нагрузки, стресс и иммунитет слизистой оболочки у элитных пловцов / М. Глисон, В. А. Макдональд, Ф. В. и соавт. // Успехи экспериментальной медицинской биологии. – 2002. – N37 (А). –с.571-574
26. Ниман, Д. С. Современный взгляд на иммунологию физической нагрузки / Д. С. Ниман // Текущие спортивные медицинские отчеты, 2010. N2. – с.239-249
27. Шепард Р.Дж. Развитие дисциплины физической иммунологии. // Упр. Иммунол. 2010. – 16. – С.194-222.

### References

1. Agayeva S.E., Alibekova S.S. On the relationship between physical loads, oxidative stress, and immune response. 5<sup>th</sup> International conference of students and young scientists “University sports: the health and prosperity of the nation”, Kazan, 2015, Vol.2, p.40-45
2. Alibekova S.S., Aliyev S.A. The effect of training loads on some immune parameters and blood lipid spectrum in wrestlers. // Proceedings of the XXIII Congress of Physiological Society named after I.P. Pavlov. (September 18-22, 2017. Voronezh city. 2017. pp. 240-242
3. Alibekova S.S. “The effect of physical loads on the lipid profile and immune system of blood in active wrestlers”. Sofiya, Bulgaria, March 11-13, 2020, p.54-64
4. Alibekova S.S. Influence of intense physical loads on the level of peroxidized lipids, lipid profile and functional state of the blood immune system in wrestlers. // Proceedings of the 10th International Scientific Conference of Students and Young Scientists. Omsk-2020.-pp.74-79.
5. Alibekova S.S. Effect of physical loads on the immune systems of wrestlers. // The 1<sup>st</sup> International scientific and practical conference “Eurasian scientific congress” (January 27-28, 2020) Barca Academy publishing Barcelona. Spain. 2020 pp. 39-42
6. Gavrilin V.A. Sports stress and its price // Pedagogy, psychology and biomedical problems of physical education and sports. Kharkov, 2007, Issue 2. – p.39-43
7. Gavrilin, V.A. Metabolic and immune changes in athletes involved in Greco-Roman wrestling, and their correction with the help of antioxidants and enterosorbents (Monograph). Lugansk: SPD Reznikov V.S., 2009. – 110 p.
8. Gavrilova, E.A. Stress immunodeficiency in athletes. M., 2009. – 192 p.
9. Gunina, L.M. Oxidative stress and adaptation: metabolic aspects of the effect of physical loads // Science in Olympic sports. Kyiv, No. 4, 2013. – p.19-25
10. Dychko, E.A. The influence of physical activity on the content and functional activity of peripheral blood lymphocytes of judo wrestlers during the training macrocycle / E.A. Dychko, V.V. Flegantova, V.V. Dychko // scientific and practical journal “Physiotherapy exercises and sports medicine”, 2012, No. (106). – p.23 – 29
11. Izmailova, T.D. Indicators of cellular immunity and mitochondrial activity of various populations of lymphocytes in young athletes at the basic stage of the training process. – 2012. – No. 12 (108), – p.15-22
12. Musin, Z.Kh., Latukov, S.V. Human immune system and physical loads // Medical Immunology. – 2007. – Vol.9 – No. 1. – p.35-38
13. Osadchaya, O.I. Immune status of athletes during physical loads / O.I. Osadchaya, M.M. Levon, P.S. Nazar // Journal of Science in Olympic Sports. No. 4, 2013. – p.74-88
14. Pershin, B.B. Reactions of the immune system to physical loads / B.B. Pershin, A.B. Geliev, D.V. Tolstov // Russian Journal of immunology. – 2002. – Vol. 7. – p. 1-24
15. Sterling, Yu.I., Knorring, G. Yu., Sizyakina, L.P. Features of the regulation of the immune system during high physical loads // Cytoelins and recovery. – 2013. – V.6. – No. 2. – p.29-41
16. Suzdalnitsky, R.S., Levando, V.A. New approaches to understanding sports stress immunodeficiencies // Theory and practice of physical culture. – 2003. – No.1, – p.18-22
17. Taymazov, V.A. Sport and immunity / V.A. Taymazov, V.N. Tsygan, E.G. Mokeeva. – St. Petersburg: Olympus. St. Petersburg, 2003, – 200 p.
18. Khaidukov, S.V., Zurochka, A.V. Chereshev, V.A. The main and small populations of human peripheral blood lymphocytes and their normative values (method of multicolor cytometric analysis) // Medical Immunology. – 2009. – Vol.11. – No. 2-3. – p.227-238
19. Yasko, G.V. Influence of strength training on the immune status of bodybuilding athletes / G.V. Yasko, V.V. Flegontova // Clinical pathology and pathological physiology. – 2012. – Vol.7. No. 1. – p.328-350



20. Gleeson, M. Exercise, stress and mucosal immunity in elite swimmers / M.Gleeson, W.A.McDonald, F.W. et al. // *Advances in Experimental Medical Biology*. – 2002. – N37 (A). –p.571-574
21. Courneya, K.S., Sellar, C.M., Stevinson, C., McNeely, M.L., Peddle, C.J., Friedenreich, C.M., Tankel, K., Basi, S., Chua, N., Mazurek, A., Reiman, T. Randomized Controlled Trial of the Effects of Aerobic Exercise on Physical Functioning and Quality of Life in Lymphoma Patients // *J Clin Oncol*. – 2009. – p.560
22. Heint, H. Greendheit. *Stress / H/Heint // Biol. Med.* – 2007. – 510 p.
23. Nieman, D.C. Current perspective on exercise immunology / D.C.Nieman // *Current sports Medical Reports*, 2010. N2. – p.239-249
24. Shephard R.J. Development of the discipline of exercise immunology. // *Exerc. Immunol. Rev.* 2010. – 16. – p.194-222
25. Sugiura, S., Leukaemia inhibitory factor is required for normal inflammatory responses to injury in the peripheral and central nervous systems in vivo and is chemotactic for macrophages in vitro / S.Sugiura, R.Lahav, J.Han, S.Y.Kou, L.R.Banner, F.de Pablo, P.H.Patterson // *Eur J Neurosci*. – 2000. – Vol.12.
26. Walsh, N.P., Gleeson, M., Shephard R.J. et al. Position statement part one: Immune function and exercise. // *Exerc. Immunol. Rev.* 2011. – 17. – p.6-63
27. West, N.P. The effect of exercise on innate mucosal immunity / N.P.West, D.B.Pyne, J.M.Kyd // *Br.J.Sports.Med.* – 2008. – N5. – p.22-28

<sup>1,2</sup>А.М. Жумакаева \*, <sup>1</sup>О.В. Маслова , <sup>1</sup>С.М. Адекенов 

<sup>1</sup>АО «Международный научно-производственный холдинг Фитохимия» Казахстан, г. Караганда

<sup>2</sup> НАО «Медицинский университет Караганды», Казахстан, г. Караганда

\*e-mail: aynura\_tuleuova@mail.ru

## ВЛИЯНИЕ 1(10)В-ЭПОКСИ-5,7А,6В(Н)-ГВАЙ-3(4),11(13)-ДИЕН-6,12-ОЛИДА НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ОНКОБОЛЬНЫХ

На сегодняшний день известно большое количество иммуномодулирующих средств микробного, эндогенного, синтетического и растительного происхождения. На фармацевтическом рынке присутствует достаточный ассортимент иммуотропных препаратов. Однако, наличие широкого выбора иммуномодуляторов их использование в клинике ограничено наличием побочных действий и ряда противопоказаний к применению.

В настоящее время не выявлено цитокинов со строго специфической активностью. Такие особенности функционирования иммунной системы делают практически невозможным существование иммуномодулятора с абсолютно селективным конечным влиянием на иммунитет.

В статье рассматривается влияние растительного иммуномодулятора 1(10)β-эпокси-5,7α,6β(Н)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олида (далее – эпоксигваянолид) на иммунную систему онкобольных. По результатам рандомизированных клинических исследований подтверждено иммуномодулирующее действие эпоксигваянолида и определено его положительное влияние на показатели системы ПОЛ-АОЗ и окислительные модификации белков.

В работе показана важность проведения иммунофенотипического анализа мононуклеарных клеток периферической крови онкопациентов.

Определено иммуномодулирующее действие эпоксигваянолида, проявляющееся преимущественным влиянием на Т-клеточное звено иммунитета. Эпоксигваянолид обладает свойством корректировать иммунодепрессивный эффект цитостатиков. Таким образом, результаты исследований эпоксигваянолида свидетельствуют о потенциальной возможности разработки на его основе нового препарата с выраженным цитостатическим действием, тем самым стимулирующей иммунную систему.

**Ключевые слова/словосочетания:** 1(10)β-эпокси-5,7α,6β(Н)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олида, иммунная система, иммуномодулятор, рак молочной железы, химиотерапия.

<sup>1,2</sup>А.М. Zhumakayeva\*, <sup>1</sup>О.В. Maslova, <sup>1</sup>С.М. Adekenov

<sup>1</sup>JSC "International Research and Production Holding Phytochemistry", Kazakhstan, Karaganda

<sup>2</sup>NAO "Medical University of Karaganda", Kazakhstan, Karaganda

\*e-mail: aynura\_tuleuova@mail.ru

### The effect of 1(10)β-epoxy-5,7α,6β(H)-guai-3(4),11(13)-diene-6,12-olide on the immune system of cancer patients

Today, a large number of immunomodulatory agents of microbial, endogenous, synthetic and plant origin are known. There is a sufficient range of immunotropic drugs on the pharmaceutical market. However, the availability of a wide range of immunomodulators and their use in the clinic is limited by the presence of side effects and a number of contraindications for use.

Currently, no cytokines with strictly specific activity have been identified. Such features of the functioning of the immune system make the existence of an immunomodulator with an absolutely selective final effect on immunity practically impossible.

The article discusses the effect of the plant immunomodulator 1(10)β-epoxy-5,7α,6β(H)-guai-3(4),11(13)-diene-6,12-olide (hereinafter referred to as epoxyguaianolide) on the immune system of the cancer patients. According to the results of randomized clinical trials, the immunomodulatory effect of epoxyguaianolide was confirmed and its positive effect on the indicators of the LPO-AOD system and oxidative modification of proteins was determined.

The paper shows the importance of immunophenotypic analysis of peripheral blood mononuclear cells of cancer patients.

The immunomodulatory effect of epoxyguaianolide was determined, which manifests itself as a predominant effect on the T-cell link of immunity. Epoxyguaianolide has the ability to correct the immu-

nosuppressive effect of cytostatics. Thus, the results of studies of epoxyguaianolide indicate the potential for the development of a new drug based on it with a pronounced cytostatic effect, thereby stimulating the immune system.

**Key words/phrases:** 1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олид, immune system, immunomodulator, breast cancer, chemotherapy.

<sup>1,2</sup>А.М. Жұмақаева\*, <sup>1</sup>О.В. Маслова, <sup>1</sup>С.М. Әдекенов

<sup>1</sup>«Фитохимия» халықаралық ғылыми-өндірістік холдингі» АҚ, Қазақстан, Қарағанды қ.

<sup>2</sup>«Қарағанды медицина университеті» КЕАҚ, Қазақстан, Қарағанды қ.

\*e-mail: aynura\_tuleuova@mail.ru

### **1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олидтің онкологиялық науқастардың иммундық жүйесіне әсері**

Бүгінгі таңда микробтық, эндогендік, синтетикалық және өсімдік тектес көптеген иммун-түрлендіруші құралдар белгілі. Фармацевтикалық нарықта иммунотропты препараттардың жеткілікті сұрыпталымы орын алуда. Алайда иммуномодуляторлардың кең таңдауы мен оларды клиникада қолдану жанама әсерлердің және қолдануға бірқатар қарсы көрсетілімдердің болуымен шектеледі.

Қазіргі уақытта қатаң спецификалық белсенділігі бар цитокиндер анықталған жоқ. Иммундық жүйе қызметінің мұндай ерекшеліктері иммунитетке абсолютті селективті соңғы әсері бар иммуномодулятордың болуын іс жүзінде мүмкін емес етеді.

Мақалада өсімдік иммуномодуляторы 1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олидтің (бұдан әрі – эпоксигваянолид) онкологиялық науқастанған адамдардың иммундық жүйесіне әсері қарастырылады. Рандомизацияланған клиникалық зерттеулердің нәтижелері бойынша эпоксигваянолидтің иммунтүрлендіруші әсері расталды, сондай-ақ оның ЛАТ-АОҚ жүйесінің көрсеткіштеріне және ақуыздардың тотығу модификациясына оң әсері анықталды.

Жұмыста онкологиялық емделушілердің перифериялық қанының мононуклеарлы жасушаларына иммунофенотиптік талдау жүргізудің маңыздылығы көрсетілді.

Эпоксигваянолидтің иммунитеттің Т-жасушалық буынына басым әсер ететін иммунтүрлендіруші әсері анықталды. Эпоксигваянолид цитостатиктердің иммунитетті тежейтін әсерін түзету қасиетіне ие. Осылайша, эпоксигваянолидті зерттеу нәтижелері оның негізінде цитостатикалық әсері бар, сол арқылы иммундық жүйені ынталандыратын жаңа препаратты жасаудың әлеуетті мүмкіндігін көрсетеді.

**Түйінді сөздер/сөз тіркестері:** 1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олид, иммундық жүйе, иммуномодулятор, сүт безі обыры, химиотерапия.

## **Введение**

На сегодняшний день известно большое количество иммуномодулирующих средств микробного, эндогенного, синтетического и растительного происхождения. При наличии широкого выбора иммуномодуляторов их использование в клинике ограничено в силу побочного действия и ряда противопоказаний к применению [1].

В настоящее время не выявлено цитокинов со строго специфической активностью. Такие особенности функционирования иммунной системы делают практически невозможным существование иммуномодулятора с абсолютно селективным конечным влиянием на иммунитет [2, 3].

По результатам клинических исследований определено, что 1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олид (далее – эпоксигвая-

нолид) (1) обладает низкой общей токсичностью вследствие быстрой инактивации в организме, что позволяет предположить отсутствие у него супрессорного эффекта на НК-клетки [4].

Однако, его влияние на систему противоопухолевого иммунитета до конца не известно. Между тем именно противоопухолевой активности НК-клеток при различных видах рака придают огромное значение ввиду хорошо установленных обратных корреляций между НК-активностью и прогрессией метастазов. Кроме того, показана прямая корреляция между продолжительностью жизни пациентов после удаления опухолей и НК-клеточной активностью у них.

Растительные препараты (препараты эхинацеи, элеутерококка, женьшеня, родиолы розовой, тонзилгон Н и другие) достаточно широко используют в клинической практике в качестве адаптогенов и мягких иммуностимуляторов. Од-

нако, механизмы их действия до конца не изучены [5].

Отечественные и зарубежные исследователи [6-14] уделяют значительное внимание определению молекулярно-клеточных механизмов трансформации клеток, развитию стадии промоции и опухолевой прогрессии. Однако, как известно, малигнизация клетки еще не означает развития опухолевого процесса и тем более онкологического заболевания. В условиях нормы опухолевые клетки подвергаются элиминации за счет неспецифических механизмов резистентности и специфических иммунологических механизмов защиты.

Результаты многолетних исследований сесквитерпеновых лактонов показали, что гваянолиды являются наиболее сильными ингибиторами NF- $\kappa$ B и их эффективность в основном обусловлена  $\alpha,\beta$ -ненасыщенной карбонильной группой [15-19].

Существуют обоснованные представления о том, что прогрессия первичной опухоли в молочной железе напрямую зависит от цитолитической активности лимфоцитов, таких как натуральные киллерные (NK) клетки и цитотоксические Т-лимфоциты (CTL) [20]. При этом особая роль отводится NK-клеткам, представляющим

популяцию больших гранулярных лимфоцитов, распознающих ряд поверхностных клеточных молекул, экспрессирующихся на раковых клетках, и уничтожающих клетки-мишени посредством «цитолитического удара» без предварительной сенсibilизации [21-23].

Эпоксигваянолид (1) действует как противоопухолевое средство, ингибируя фарнезилпротеинтрансферазу, которая является ферментом, участвующим в образовании злокачественных опухолей (рисунок 1). Кроме того, данное соединение оказывает ингибирующее действие на вирус гриппа А, оно может восстанавливать синтез цитокинов и других противовоспалительных медиаторов, действующих как противовоспалительные в моделях воспаления *in vivo* (модели каррагинана, гистама и формалина), и оно обладает иммуномодулирующей активностью [24-25]. Abderrazak A. с соавторами [26] определили, что эпоксигваянолид снижает воспаление в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы *in vivo* и в клеточной линии INS-1 *in vitro*. Таким образом, эпоксигваянолид (1) может представлять собой новое перспективное соединение для лечения онкопациентов и больных с воспалительными процессами и сахарным диабетом 2 типа.

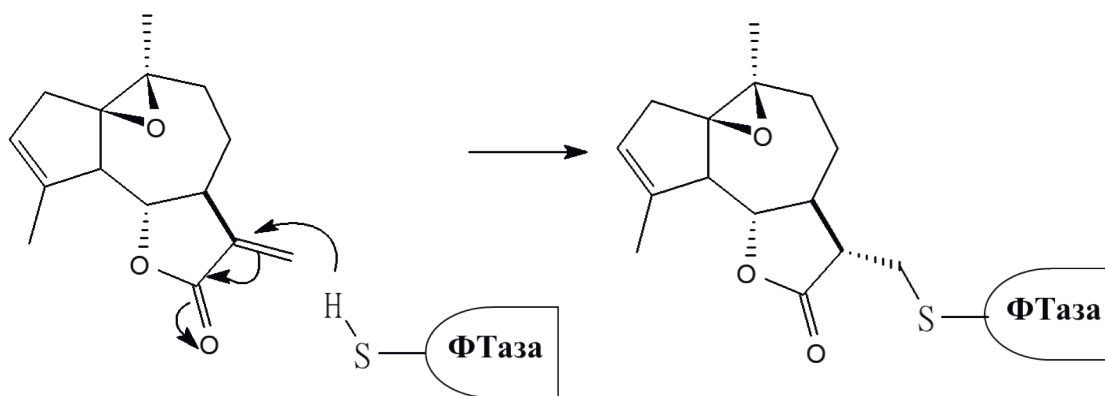


Рисунок 1 – Механизм взаимодействия эпоксигваянолида (1) с фарнезилпротеинтрансферазой

Рандомизированные клинические исследования позволили подтвердить иммуномодулирующее действие эпоксигваянолида (1) и при этом определено его положительное влияние на показатели системы ПОЛ-АОЗ и окислительные модификации белков [27].

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о важной роли иммуносупрессии в нарушениях элиминации опухолевых клеток, развитии стадии промоции и метастазирования при раке. И как следствие, высокоперспективной является разработка препаратов,

механизм действия которых, направлен на коррекцию иммунной системы.

Цель исследования – выявление влияния 1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олида на показатели иммунной системы у больных раком молочной железы.

## 2. Материалы и методы

### 2.1 Исследуемый материал

В работе использованы образцы периферической крови здоровых женщин и пациенток с диагнозом рак молочной железы. Периферическую кровь собирали натощак из локтевой вены в объеме 5 мл в стерильные пробирки с антикоагулянтом EDTA.

### 2.2 Реагенты

В ходе экспериментов использовали следующие реактивы: культуральная среда (culture medium) RPMI-1640 (Sigma-Aldrich), L-глутамин (L-glutamine) (Sigma-Aldrich), стрептомицин/пенициллин (Streptomycin/penicillin) (Sigma-Aldrich), фетальная бычья сыворотка (Fetal Bovine Serum, FBS) (Sigma-Aldrich), трипановый синий (Trypan Blue) (Sigma-Aldrich), перкол (Percoll) (Sigma-Aldrich), фосфатно-солевой буферный раствор (Phosphate Buffer Saline, PBS), лизирующий раствор (BD Biosciences), флуоресцентно-меченные моноклональные антитела к CD56-PE (Miltenyi Biotec), CD3-PerCP (BD Biosciences), CD8-PE (BD Biosciences), CD44-FITC, CD62L-FITC (BD Biosciences), этилендиаминотетраацетат (EDTA) (Serva, Германия), диметилсульфоксид (DMSO) (Sigma-Aldrich),

### 2.3 Приготовление культуральной среды

Жидкую культуральную среду RPMI-1640 готовили из сухого препарата, растворяя его в деионизированной воде и доводя pH до 7,4, согласно прописи фирмы-производителя (Sigma-Aldrich, Германия), стерилизуя конечный продукт путем ультрафильтрации через мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мкм.

### 2.4 Выделение мононуклеарной фракции

5 мл цельной крови наслаивали на 5 мл с плотностью 1,076, центрифугировали 20 мин при 1400g при 20°C. Мононуклеарные клетки интерфазного кольца отмывали 20-кратным объемом среды RPMI-1640 при 200g в течение 10 мин при 20°C. Подсчитывали живые клетки с использованием метода исключения трипанового синего [28].

### 2.5 Культивирование клеток

В качестве клеток-мишеней для НК использовали линию клеток эритролейкемии человека K-562, хранящуюся в криобанке лаборатории молекулярной иммунологии и иммунобиотехнологии Института молекулярной биологии и биохимии им. М.А.Айтхожина. Размораживание клеток осуществляли стандартным способом [28]. Криопробирку с клетками переносили из сосуда Дьюара в водяную баню с температурой 37°C, предварительно выдержав при комнатной температуре для испарения из пробирки остатков жидкого азота. После полного размораживания суспензию клеток подвергали отмывке от DMSO и FBS в 20-кратном избытке среды RPMI-1640 при центрифугировании при 160 g в течение 10 мин. Затем клетки ресуспендировали в полной культуральной среде RPMI-1640, содержащей 10% FBS, 2 mM L-глутамин, 100 ME/мл пенициллина и 0,1 мг/мл стрептомицина. После этого определяли жизнеспособность клеток методом исключения трипанового синего и подвергали культивированию в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>.

### 2.6 Оценка цитолитической активности НК-клеток

О цитолитической активности НК-клеток судили по изменению цитоплазматических дегидрогеназ, оцениваемых в МТТ-тесте. Мононуклеарные клетки (2,5x10<sup>5</sup> кл./лун.) кокультивировали с клетками мишенями (5x10<sup>4</sup> кл./лун.) в 96-луночных круглодонных планшетах в 200 мкл 10-процентной среды RPMI-1640 в течение 12 ч. За 4 ч до окончания культивирования в каждую ячейку вносили по 500 мкг/мл МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиум бромид). По окончании опыта из лунок удаляли супернатант, образовавшиеся кристаллы формазана после полного высушивания растворяли в DMSO и колориметрировали при 492/630 нм. Индекс цитотоксичности (ИЦ) клеток вычисляли по формуле: ИЦ=(К-О)/Кx100%, где К – среднее значение экстинкции в контроле, О – то же самое в опыте. К вычисляли, суммируя значения экстинкции в лунках с мононуклеарами и клетками-мишенями (K-562).

### 2.7 Проточная иммуноцитометрия

Фенотип клеток оценивали путем определения CD-маркеров с помощью проточной иммуноцитометрии. Для этого цельную кровь с гемостабилизатором (EDTA) обрабатывали лизирующим раствором для удаления эритро-

цитов согласно протоколу фирмы-производителя. Затем клетки метили моноклональными антителами к CD-маркерам, конъюгированными с фикоэритрином (PE), флуоресцеин-изоцианатом (FITC) или пиридин хлорофилл протеином (PerCP), согласно протоколу фирм-производителей (BD Biosciences или Milenyi Biotech). Неспецифическую флуоресценцию контролировали с помощью моноклональных мышинных флуоресцентно-меченных IgG соответствующих изотипов. Полученные суспензии клеток пропускали через проточный цитометр FACS Calibur и оценивали процент клеток, несущих соответствующие маркеры, а также среднюю интенсивность флуоресценции (MFI), как показатель уровня экспрессии маркера.

### 2.8 Статистическая обработка данных

Для статистической обработки использовали прикладную программу Microsoft Excel.

Вычисляли среднюю арифметическую, среднюю квадратическую ошибку средней арифметической, достоверность различия средних  $P_t$  по  $t$ -критерию Стьюдента (ТТЕСТ) и достоверность различия дисперсий  $P_f$  по  $f$ -критерию Фишера (ФТЕСТ).

### 3. Результаты и их обсуждение

#### Оценка содержания НК-клеток

Анализ содержания CD3-CD56+ НК-клеток в периферической крови здоровых доноров и больных до лечения и в ходе лечения показал, что уровень содержания этих клеток в среднем был одинаков во всех исследуемых группах (рисунок 2) и соответствовал норме. Очевидно, что этот показатель не может быть использован в качестве критерия состояния противоопухолевого иммунитета у онкологических больных до и после специфической терапии.

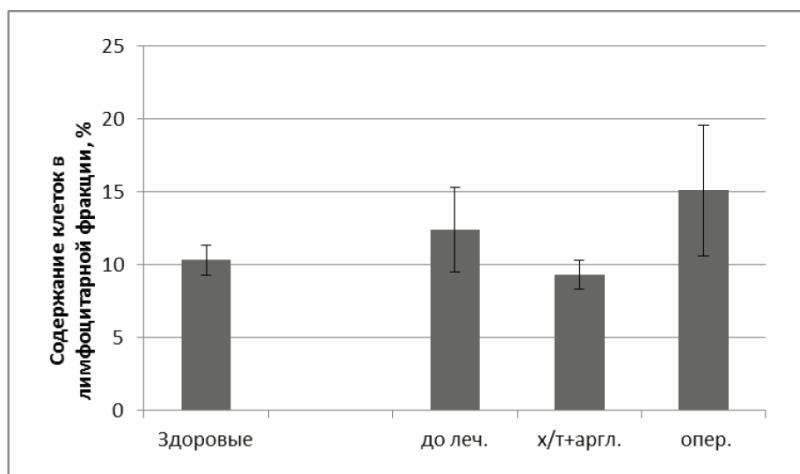
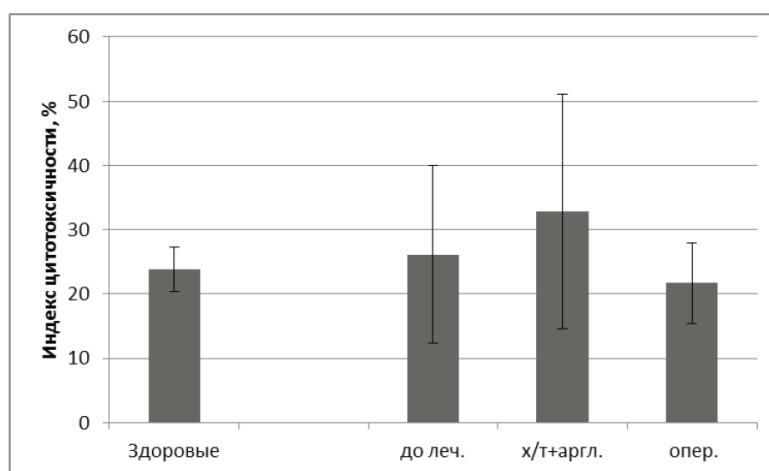


Рисунок 2 – Содержание CD3-CD56+ НК-клеток в периферической крови здоровых доноров и больных в динамике лечения

#### Оценка цитолитической активности НК-клеток

Золотым стандартом для оценки активности НК-клеток человека является тест на цитолитическое повреждение эритролейкемических клеток человека линии K-562 в усло-

виях совместного культивирования *ex vivo*. Проведенные исследования показали, что цитолитическая активность НК-клеток больных людей по отношению к клеткам K-562 не отличалась от таковой у здоровых доноров и не изменялась в динамике лечения (рисунок 3).

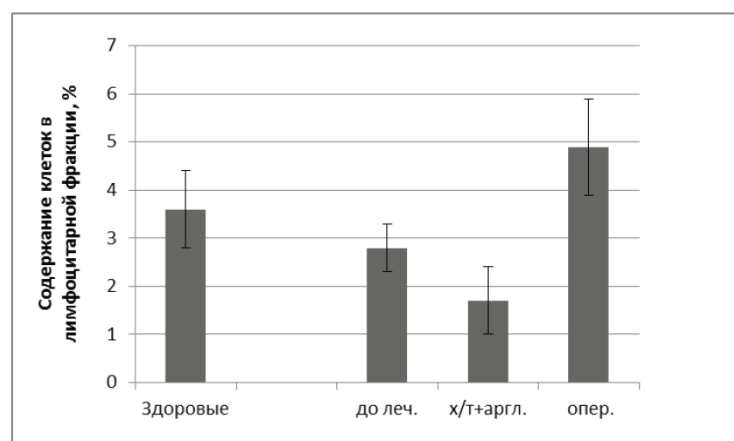


**Рисунок 3** – Цитолитическая активность NK-клеток в отношении эритролейкемической клеточной линии K-562 у больных в сравнении со здоровыми донорами.

*Оценка уровня NK-клеток, экспрессирующих молекулу адгезии CD62L*

Иммунофенотипический анализ мононуклеарных клеток периферической крови показал, что CD3-CD56+ CD62L+ популяция NK-клеток у здоровых женщин составляла

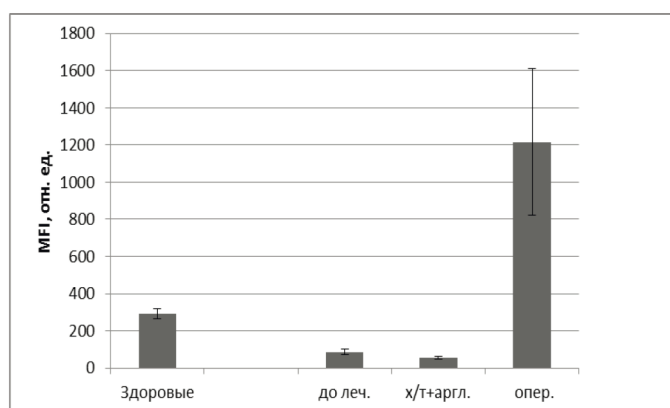
3,6±0,8% от общего количества лимфоцитов в циркуляции. У больных раком молочной железы до начала терапии этот показатель статистически значимо не отличался от показателя здоровых доноров ( $P_t=0,391$ ) и составлял 2,8±0,5% (рисунок 4).



**Рисунок 4** – Содержание CD3-CD56+CD62L+ NK-клеток в периферической крови здоровых доноров и больных в динамике лечения.

После химиотерапии с использованием эпоксигва-янолида (1) наблюдалось некоторое снижение (статистически незначимое) среднего значения содержания в крови этих клеток (1,7±0,7%,  $P_t=0,088$ ), однако после хирургической операции произошло повышение ( $P_t=0,040$ ) его уровня до нормы (4,9±1,0%,  $P_t=0,372$ ).

Аналогичная картина наблюдалась при анализе экспрессии молекулы CD62L на поверхности NK-клеток (рисунок 5), о которой судили по средней интенсивности флуоресценции клеток, меченных антителами к CD62L.

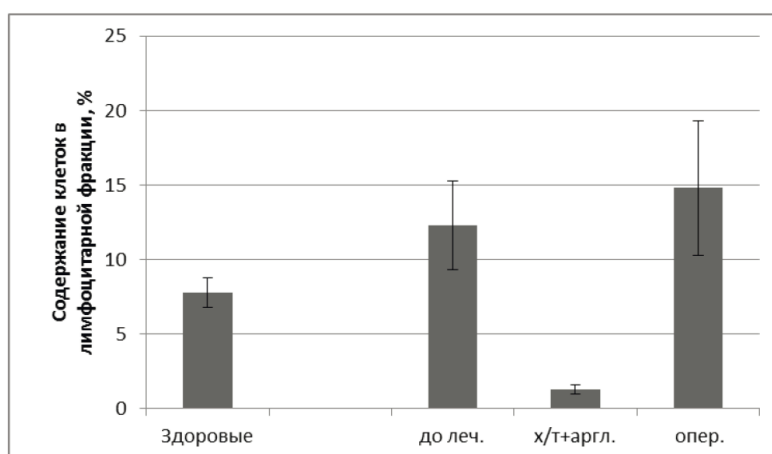


**Рисунок 5** – Средняя интенсивность флуоресценции (MFI) NK-клеток, несущих молекулу адгезии и хоуминга CD62L, в периферической крови здоровых доноров и больных в динамике лечения

Невысокий показатель MFI для CD62L+ NK-клеток здоровых доноров ( $294 \pm 27$  отн.ед.) свидетельствовал о низкой экспрессии этого маркера в норме. У больных до лечения наблюдалась тенденция к снижению его уровня ( $86 \pm 14$  отн. ед.,  $P_t = 0,074$ ), после четырех курсов химиотерапии с использованием эпоксигваянолида его уровень достоверно был ниже нормы ( $55 \pm 6$  отн. ед.,  $P_t = 0,021$ ). После хирургической операции это показатель значительно превышал уровень нормы ( $1216 \pm 396$  отн.ед.,  $P_t = 0,011$ ).

*Оценка уровня NK-клеток, экспрессирующих молекулу адгезии CD44*

При анализе содержания в крови здоровых доноров CD44+ NK-клеток (рисунок 6) выяснилось, что эта клеточная популяция обширнее, чем популяция CD62L+ NK-клеток ( $7,8 \pm 1,0\%$  из  $10,3 \pm 1,0\%$ ). У нелеченных больных практически все NK-клетки были CD44+ ( $12,3 \pm 3,0\%$  из  $12,4 \pm 2,9\%$ ), однако статистически значимого различия с нормой не было ( $P_t = 0,231$ ). Химиотерапия снижала уровень этих клеток ниже нормы ( $1,3 \pm 0,3\%$ ,  $P_t < 0,001$ ), а после хирургической операции наблюдалось опять повышение их содержания до нормальных показателей ( $14,8 \pm 4,5\%$ ,  $P_t = 0,222$ ).

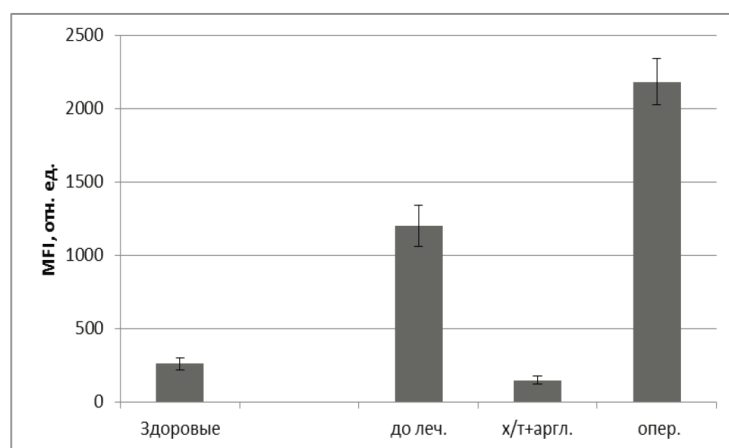


**Рисунок 6** – Содержание CD3-CD56+CD44+ NK-клеток в периферической крови здоровых доноров и больных раком молочной железы в динамике лечения



Общая картина изменений уровня экспрессии маркера CD44 на NK-клетках доноров и больных в ходе лечения похо-

дила на картину изменений содержания CD44+ клеток в популяции NK-клеток (рисунок 7).

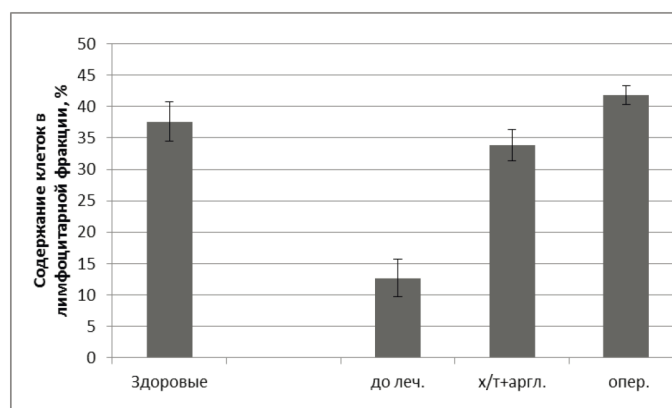


**Рисунок 7** – Средняя интенсивность флуоресценции (MFI) NK-клеток, несущих молекулу адгезии CD44, в периферической крови здоровых доноров и больных в динамике лечения

В целом следует отметить более высокую экспрессию CD44 по сравнению с CD62L, хотя динамика изменения экспрессии обоих маркеров была сходной. Так, у больных MFI был существенно выше ( $1199 \pm 139$  отн.ед.,  $P_f \ll 0,016$ ), чем у здоровых доноров ( $258 \pm 38$  отн.ед.). После химиотерапии MFI снижался ниже уровня нормы ( $148 \pm 28$  отн.ед.,  $P_t = 0,033$ ), а после хирургической операции значительно повышался ( $2183 \pm 158$  отн.ед.,  $P_t = 0,005$ ).

*Оценка уровня экспрессии молекул адгезии CD62L и CD44 цитотоксическими T-лимфоцитами (CTL) с фенотипом CD8+*

CTL определяли как клетки мононуклеарной фракции, выделяемые в лимфоцитарном гейте, несущие на своей поверхности молекулу CD8. Данные проточной цитофлуориметрии CD8+ клеток здоровых доноров и больных раком молочной железы в динамике лечения представлены на рисунке 8.

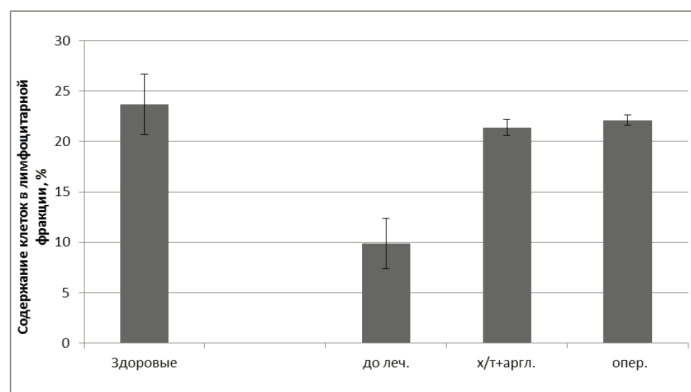


**Рисунок 8** – Содержание CD8+ T-клеток в периферической крови здоровых доноров и больных в динамике лечения

Как следует из рисунка 7, между здоровыми донорами (37,6 $\pm$ 3,1%) и больными перед началом лечения (12,7 $\pm$ 3,0%) по содержанию CD8+T-клеток наблюдалось существенное отличие в сторону снижения ( $P_t < 0,001$ ). Но показатель нормализовался после химиотерапии

(33,9 $\pm$ 2,5%,  $P_t = 0,211$ ) и сохранялся на этом уровне после хирургического лечения (41,8 $\pm$ 1,5%,  $P_t = 0,504$ ).

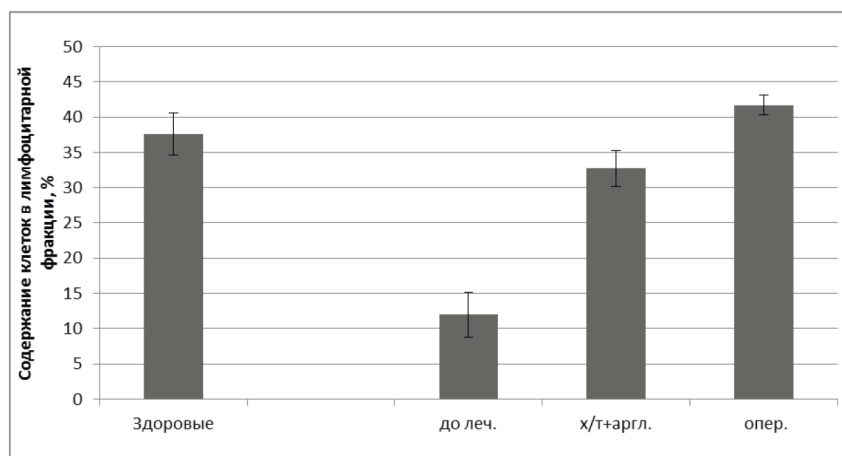
Аналогичная картина наблюдалась при анализе содержания CD8+ T-клеток, экспрессирующих адгезивные молекулы (рисунках 9, 10).



**Рисунок 9** – Содержание CD8+CD62L+ T-клеток в периферической крови здоровых доноров и больных в динамике лечения

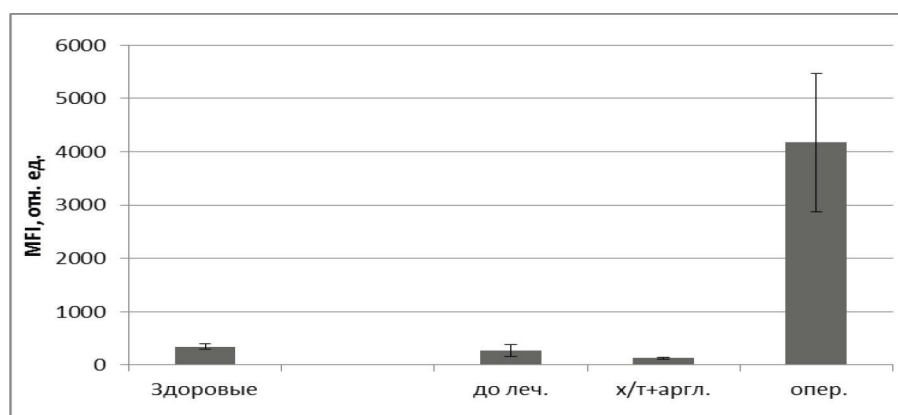
Уровень как CD62L+, так и CD44+ CD8+T-клеток был достоверно более низким у больных до начала лечения (CD62L – 9,9 $\pm$ 2,5%,  $P = 0,005$ , CD44 – 12,0 $\pm$ 3,2%,  $P < 0,001$ ) по сравнению со здоровыми донорами и возвращался к нормаль-

ным значениям после химиотерапии (CD62L – 21,4 $\pm$ 0,8%,  $P = 0,495$  и CD44 – 32,7 $\pm$ 2,5%,  $P = 0,241$ ) и хирургической операции (CD62L – 22,1 $\pm$ 0,5%,  $P = 0,627$  и CD44 – 41,7 $\pm$ 1,4%,  $P = 0,264$ ).

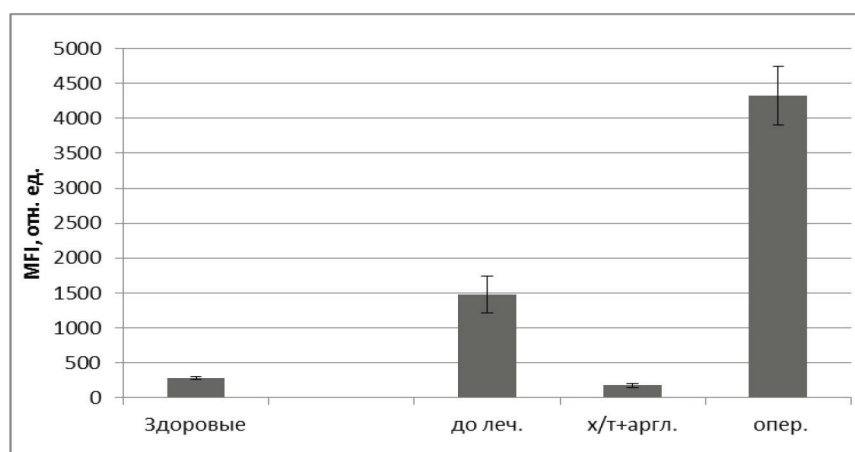


**Рисунок 10** – Содержание CD8+CD44+ T-клеток в периферической крови здоровых доноров и больных в динамике лечения

Оценка степени экспрессии молекул клеток показала следующую картину (рисунках 11, 12).



**Рисунок 11** – Средняя интенсивность флуоресценции (MFI) CD8+ Т-клеток, несущих молекулу адгезии CD62L, в периферической крови здоровых доноров и больных в динамике лечения



**Рисунок 12** – Средняя интенсивность флуоресценции (MFI) CD8+ Т-клеток, несущих молекулу адгезии CD44, в периферической крови здоровых доноров и больных в динамике лечения

Экспрессия CD62L на поверхности CD8+ Т-клеток у больных людей не отличалась от таковой у здоровых доноров. После курсов химиотерапии наблюдалось ее достоверное снижение ( $P=0,002$ ), а после операции – 12-кратное повышение ( $P=0,014$ ). Похожая ситуация наблюдалась при оценке экспрессии CD44-маркера, за исключением того, что у не леченных больных она превышала нормальные значения в 5 раз ( $P=0,033$ ). Химиотерапия, как и в случае с CD62L, приводила к достоверному небольшому снижению экспрессии CD44 по сравнению с нормой ( $P=0,017$ ), а хирургическая операция

опять повышала ее в 15 раз по отношению к норме ( $p=0,011$ ).

Таким образом, для нормального функционирования NK-клеток важен именно определенный уровень соотношения экспрессии двух адгезивных молекул CD44/CD62L. При раке молочной железы это соотношение существенным образом сдвигается в сторону увеличения за счет одновременного снижения экспрессии CD62L и увеличения экспрессии CD44 на поверхности циркулирующих NK-клеток. Нормализация этого соотношения, очевидно, наступает после полного удаления из ор-

ганизма опухолевых клеток, индуцирующих его повышение в ходе развития болезни.

Что касается цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов, составляющих важнейшую часть адаптивного противоопухолевого иммунитета, то мы обнаружили снижение в их общем содержании в крови у больных раком молочной железы. Одновременно падал % содержания CD44+ и CD62L+ фракций в общем пуле лимфоцитов. Эти показатели нормализовались уже после химиотерапии и не изменялись после проведения хирургической операции.

### Заключение

Проведенные нами исследования по растительному иммуномодулятору 1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олид (1) свидетельствуют о важной роли иммуносупрессии в нарушениях элиминации опухолевых клеток, развитии стадии промоции и метастазирования при раке. И как следствие высокоперспективной является, разработка препаратов, механизм действия которых, направлен на коррекцию иммунной системы.

Эпоксигваянолид (1), обладает низкой общей токсичностью вследствие быстрой инактивации в организме, что позволяет предположить отсутствие его супрессорного эффекта на НК-клетки.

Установлена динамика изменения соотношения клеток CD8+CD44+/CD8+CD62L+, содержащихся в периферической крови.

Уровень иммунофенотипических клеток отражает состояние иммунной системы в зависимости от проводимого лечения. Химиотерапия снижала количество CD3-CD56+ CD62L+ популяция НК-клеток ниже нормы ( $1,3 \pm 0,3\%$ ,  $P_t < 0,001$ ) и как следствие, нарушала противоопухолевый ответ организма.

Однако, соотношение экспрессий маркеров CD44/CD62L на цитотоксических Т-лимфоцитах

было полностью идентичным с соотношением указанных маркеров на НК-клетках.

Так, наблюдалось значительное повышение (в 6 раз) соотношение цитотоксических Т-лимфоцитах к НК-клеткам у больных до начала терапии и последующее снижение до уровня нормы (у здоровых доноров) при применении эпоксигваянолида (1).

Таким образом, 1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олид оказывает выраженное иммуномодулирующее действие, проявляющееся в повышении числа Т-лимфоцитов.

Анализ литературных данных и результаты проведенных нами экспериментов по изучению влияния 1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олида (1) на иммунную систему онкопациентов, позволяют сделать вывод о необходимости разработки препаратов, способных оказывать влияние на иммунную систему и усиливать противоопухолевый иммунитет. Результаты иммуноцитологических исследований 1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олида (1), свидетельствуют о потенциальной возможности разработки на его основе нового препарата с выраженным цитостатическим действием, корректирующий иммунную систему.

### Конфликт интересов

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

### Источник финансирования

Финансирование предоставлено Министерством образования и науки Республики Казахстан в рамках подпрограмме 102 «Грантовое финансирование научных исследований», по теме ИРН АР13067996 «Разработка растительного иммуномодулятора для профилактики вирусных инфекций», договор №125-КМУЗ от 20 мая 2022 года.

### Литература


1. Steurer-Stey C., Bachmann L. M., Steurer J. Oral purified bacterial extracts in chronic bronchitis and COPD: systematic review // *Chest*.- 2004.- V. 126.- P. 1645-55.
2. Lee H. W., Lee J. I., Um S. H., Ahn S. H., Chang H. Y., Park Y. K., Hong S. P., Moon Y. M., Han K. H. Combination therapy of thymosin alpha-1 and lamivudine for HBeAg positive chronic hepatitis B: A prospective randomized, comparative pilot study // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*.- 2008, V. 23.- P. 729-735.
3. Shi L. Isolation, purification, and immunomodulatory activity in vitro of three polysaccharides from roots of *Cudrania tricuspidata* // *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*.-2011.- Vol. 43, Is. 5. – P. 418-424.
4. Adekenov S.M. Chemical modification of arglabin and biological activity of its new derivatives // *Fitoterapia*. – 2016. – V.110. – P. 196-205.

5. Оковитый С.В. Клиническая фармакология иммуностимуляторов.-Санкт-Петербург: ФАРМиндекс, – 2002.- Вып.4. – С.104-150.
6. Барсуков В.Ю., Плохов В.Н., Чеснокова Н.П. Рак молочной железы: патофизиологические и клинические аспекты. – Саратов, 2007. – С. 268.
7. Канцерогенез: патофизиологические и клинические аспекты / под общ. ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, В.Ю. Барсукова. – Саратов: Изд-во: СГМУ, 2011. – 600 с.
8. Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю., Селезнева Т.Д., Злобнова О.А. Сравнительная оценка состояния иммунологических механизмов защиты при солитарном и синхронном билатеральном раке молочной железы // Успехи современного естествознания. – 2010. – №10. – С. 58-64.
9. Барсуков В.Ю., Плохов В.Н., Чеснокова Н.П. Закономерности паранеопластических расстройств при отечно-ин-фильтративной форме рака молочной железы // Современные проблемы науки и образования. – 2008. – №1. – С. 13-18.
10. Злобнова О.А. Характеристика показателей красной и белой крови у больных раком молочной железы под влиянием комплексной цитостатической терапии // Материалы 71-й межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием: тезисы. – Саратов, 2010. – С. 44.
11. Henderson I.C., Berry D.A., Demetri G.D., et al: Improved outcomes from add-ing sequential Paclitaxel but not from escalating Doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer// J. Clin. Oncol.-2003.-Vol. 21.-№6.- P. 967-83.
12. Moujir, L., Callies, O., Sousa, P. M. C., Sharopov, F., & Seca, A. M. L. Applications of Sesquiterpene Lactones: A Review of Some Potential Success Cases. Applied Sciences, 2020, 10(9), 3001. doi:10.3390/app10093001.
13. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения // Иммунология. – 2000. – № 5. – С. 4 – 7.
14. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии // Иммунология. – 1997. – № 5. – С. 7 – 14.
15. Ivanescu B., Miron A., and Corciova A. Sesquiterpene Lactones from *Artemisia* Genus: Biological Activities and Methods of Analysis // Journal of Analytical Methods in Chemistry 2015.- <https://doi.org/10.1155/2015/247685>.
16. Siedle B., Garcia-Pineres A. J., Murillo R. Quantitative structure-activity relationship of sesquiterpene lactones as inhibitors of the transcription factor NF- $\kappa$ B // Journal of Medicinal Chemistry.-2004.- Vol. 47, № 24, P.6042–6054.
17. Rimpelová S., Jurášek M., Peterková L., Bejček J., Spiwok V., Majdl M., Jirásko M., Buděšinský M., Harmatha J., Kmoníčková E., Drašar P. and Ruml T. Archangelolide: A sesquiterpene lactone with immunobiological potential from *Laserpitium archangelica* // *Beilstein J. Org. Chem.* 2019, 15, 1933–1944. doi:10.3762/bjoc.15.189.
18. Schepetkin I. A., Ōzek G., Ōzek T., Kirpotina L. N., Khlebnikov A.I. and Quinn M.T. Chemical Composition and Immunomodulatory Activity of *Hypericum perforatum* Essential Oils // Biomolecules 2020, 10, 916; doi:10.3390/biom10060916.
19. Schepetkin I. A., Ōzek G., Ōzek T., Kirpotina L.N., Khlebnikov A.I. and Quinn M.T. Chemical Composition and Immunomodulatory Activity of Essential Oils from *Rhododendron albiflorum*. Molecules 2021, 26, 3652. <https://doi.org/10.3390/molecules26123652>.
20. Mozaffari F. Lindemalm C., Choudhury A., Granstam-Bjorneklett H., Helander I. NK-cell and T-cell functions in patients with breast cancer: effects of surgery and adjuvant chemo- and radiotherapy// British Journal of Cancer.-2007.-Vol.97.-P. 105-111.
21. Orange S.J., Balias K.Z. Natural killer cells in human health and disease// Clinical Immunology.-2006.- Vol.118.-P. 1-10.
22. Jia Q.-Q., Wang J.-C., Long J. Sesquiterpene lactones and their derivatives inhibit high glucose-induced NF- $\kappa$ B activation and MCP-1 and TGF- $\beta$ 1 expression in rat mesangial cells //Molecules,-2013.- Vol. 18,№ 10, P. 13061–13077.
23. Mammesier E., Aude S., Olive D Human breast cancer cells enhance self tolerance by promoting evasion from NK cell antitumor immunity// The Journal of clinical investigation.-2011.-Vol.. 121, P.3609- 3622.
24. Sülsen V.P., Martino V.S. Sesquiterpene Lactones, Advances in their Chemistry and Biological Aspects – 2018. – 371 p.
25. Lone S.H., Bhat K.A., & Khuroo M.A. Arglabin: From isolation to antitumor evaluation // Chemico-Biological Interactions – 2015, 240, 180–198. doi:10.1016/j.cbi.2015.08.015.
26. Abderrazak A., El Hadri K., Bosc E., Blondeau B., Slimane M.-N., Buchele, B., Rouis M. Inhibition of the Inflammasome NLRP3 by Arglabin Attenuates Inflammation, Protects Pancreatic – Cells from Apoptosis, and Prevents Type 2 Diabetes Mellitus Development in ApoE2Ki Mice on a Chronic High-Fat Diet // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2016, 357(3), 487–494. doi:10.1124/jpet.116.232934.
27. Сирота В.Б. Окислительный метаболизм в крови при раке молочной железы. – Караганда, 2002. – 112 с.
28. Freshney R.I. Culture of animal cells. A manual of basic technique, Fifth Edition, Wiley-Liss, Hoboken, New Jersey. – 2005, 642 p.

## References

1. Steurer-Stey C., Bachmann L. M., Steurer J. Oral purified bacterial extracts in chronic bronchitis and COPD: systematic review // Chest.- 2004.- V. 126.- P. 1645-55.
2. Lee H. W., Lee J. I., Um S. H., Ahn S. H., Chang H. Y., Park Y. K., Hong S. P., Moon Y. M., Han K. H. Combination therapy of thymosin alpha-1 and lamivudine for HBeAg positive chronic hepatitis B: A prospective randomized, comparative pilot study // Journal of Gastroenterology and Hepatology.- 2008, V. 23.- P. 729-735.

3. Shi L. Isolation, purification, and immunomodulatory activity in vitro of three polysaccharides from roots of *Cudrania tricuspidata* // *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*.-2011.- Vol. 43, Is. 5. – P. 418-424.
4. Adekenov S.M. Chemical modification of arglabin and biological activity of its new derivatives // *Fitoterapia*. – 2016. – V.110. – 196-205 p.
5. Оковитый С.В. Клиническая фармакология иммуностимуляторов.-Санкт-Петербург: ФАРМиндекс, – 2002.- Вып.4. – С.104-150.
6. Barsukov V.Yu., Plokhov V.N., Chesnokova N.P. Breast cancer: pathophysiological and clinical aspects. – Saratov, 2007. – 268 p.
7. Carcinogenesis: pathophysiological and clinical aspects / ed. V.M. Popkova, N.P. Chesnokova, V.Yu. Barsukov. – Saratov: Publishing House: SGMU, 2011. – 600 p.
8. Chesnokova N.P., Barsukov V.Yu., Selezneva T.D., Zlobnova O.A. Comparative assessment of the state of immunological defense mechanisms in solitary and synchronous bilateral breast cancer // *Successes of modern natural science*. – 2010. – No. 10. – 58-64 p.
9. Barsukov V.Yu., Plokhov V.N., Chesnokova N.P. Patterns of paraneoplastic disorders in edematous-infiltrative form of breast cancer // *Modern problems of science and education*. – 2008. – No. 1. – 13-18 p.
10. Zlobnova O.A. Characteristics of indicators of red and white blood in patients with breast cancer under the influence of complex cytostatic therapy // *Proceedings of the 71st interregional scientific and practical conference of students and young scientists with international participation: theses*. – Saratov, 2010. – 44 p.
11. Henderson I.C., Berry D.A., Demetri G.D., et al: Improved outcomes from adding sequential Paclitaxel but not from escalating Doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer// *J. Clin. Oncol.*-2003.-Vol. 21.-№6.- 967-83 p.
12. Moujir, L., Callies, O., Sousa, P. M. C., Sharopov, F., & Seca, A. M. L. Applications of Sesquiterpene Lactones: A Review of Some Potential Success Cases. *Applied Sciences*, 2020, 10(9), 3001. doi:10.3390/app10093001.
13. Khaitov R.M., Pinegin B.V. Modern immunomodulators: basic principles of their application // *Immunology*. – 2000. – No. 5. – 4 – 7 p.
14. Yarilin A.A. The system of cytokines and the principles of its functioning in normal and pathological conditions // *Immunology*. – 1997. – No. 5. – 7 – 14 p.
15. Ivanescu B., Miron A., and Corciova A. Sesquiterpene Lactones from *Artemisia* Genus: Biological Activities and Methods of Analysis // *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 2015.- <https://doi.org/10.1155/2015/247685>.
16. Siedle B., Garcia-Pineros A. J., Murillo R. Quantitative structure-activity relationship of sesquiterpene lactones as inhibitors of the transcription factor NF- $\kappa$ B // *Journal of Medicinal Chemistry*.-2004.- Vol. 47, № 24, P.6042–6054.
17. Rimpelová S., Jurášek M., Peterková L., Bejček J., Spiwok V., Majdl M., Jirásko M., Buděšínský M., Harmatha J., Kmoníčková E., Drašar P. and Ruml T. Archangelolide: A sesquiterpene lactone with immunobiological potential from *Laserpitium archangelica* // *Beilstein J. Org. Chem.* 2019, 15, 1933–1944. doi:10.3762/bjoc.15.189.
18. Schepetkin I. A., Özek G., Özek T., Kirpotina L. N., Khlebnikov A.I. and Quinn M.T. Chemical Composition and Immunomodulatory Activity of *Hypericum perforatum* Essential Oils // *Biomolecules* 2020, 10, 916; doi:10.3390/biom10060916.
19. Schepetkin I. A., Özek G., Özek T., Kirpotina L.N., Khlebnikov A.I. and Quinn M.T. Chemical Composition and Immunomodulatory Activity of Essential Oils from *Rhododendron albiflorum*. *Molecules* 2021, 26, 3652. <https://doi.org/10.3390/molecules26123652>.
20. Mozaffari F. Lindemalm C., Choudhury A., Granstam-Bjorneklett H., Helander I. NK-cell and T-cell functions in patients with breast cancer: effects of surgery and adjuvant chemo- and radiotherapy// *British Journal of Cancer*.-2007.-Vol.97.-P. 105-111.
21. Orange S.J., Balias K.Z. Natural killer cells in human health and disease// *Clinical Immunology*.-2006.- Vol.118.-P. 1-10.
22. Jia Q.-Q., Wang J.-C, Long J. Sesquiterpene lactones and their derivatives inhibit high glucose-induced NF- $\kappa$ B activation and MCP-1 and TGF- $\beta$ 1 expression in rat mesangial cells // *Molecules*.-2013.- Vol. 18,№ 10, P. 13061–13077.
23. Mammesier E., Aude S., Olive D Human breast cancer cells enhance self tolerance by promoting evasion from NK cell antitumor immunity// *The Journal of clinical investigation*.-2011.-Vol.. 121, P.3609- 3622.
24. Sülsen V.P., Martino V.S. Sesquiterpene Lactones, Advances in their Chemistry and Biological Aspectsч – 2018. – 371 p.
25. Lone S.H., Bhat K.A., & Khuroo M.A. Argabin: From isolation to antitumor evaluation // *Chemico-Biological Interactions* – 2015, 240, 180–198. doi:10.1016/j.cbi.2015.08.015.
26. Abderrazak A., El Hadri K., Bosc E., Blondeau B., Slimane M.-N., Buchele, B., Rouis M. Inhibition of the Inflammasome NLRP3 by Argabin Attenuates Inflammation, Protects Pancreatic – Cells from Apoptosis, and Prevents Type 2 Diabetes Mellitus Development in ApoE2Ki Mice on a Chronic High-Fat Diet // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2016, 357(3), 487–494. doi:10.1124/jpet.116.232934.
27. Sirota V.B. Oxidative metabolism in the blood in breast cancer. – Karaganda, 2002. – 112 p.
28. Freshney R.I. Culture of animal cells. A manual of basic technique, Fifth Edition, Wiley-Liss, Hoboken, New Jersey. – 2005, 642 p.

А.Е.Есенбекова\* , Н.Т. Аблайханова , А.Дүйсенбек , А.А. Беисова ,  
З.Б. Есимсиитова , А.М.Мухитдинов , А.Қ.Төлеубекова ,  
З.М.Кенжегараева , Ж.С.Тилеубаева 

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

\*e-mail: arailymyessenbekova@gmail.com

## ЕКІНШІ ТИПТІ ҚАНТ ДИАБЕТІ КЕЗІНДЕГІ ГЕМАТОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ БИОХИМИЯЛЫҚ ҚАН КӨРСЕТКІШТЕРІНЕ МЕЛАТОНИННІҢ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ

### Қысқартулар

ДДСҮ- Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы, 2ТҚД, МТ- Мелатонин;

Бұл мақалада мелатониннің эксперименталды екінші типті қант диабетіне шалдыққан жануарлардың гематологиялық және биохимиялық көрсеткіштеріндегі өзгерістеріне әсері қарастырылған. Мелатонин циркадтық ырғақтардың тұрақтылығын қамтамасыз етуімен қоса глюкоза алмасуының маңызды реттеушісі ретінде де анықталды. Бұл жұмыста тәуліктік ырғақтар, метаболизмді бақылау және оның бұзылуының гомеостазға әсері туралы білімді жетілдіріп, сонымен қатар эпифиздің түнгі гормоны мелатониннің қант диабетінің алдын алу және емдеу үшін әлеуетті емдік препарат ретінде маңыздылығы атап өтілді. Осылайша, бұл зерттеудің мақсаты стрептозоцин арқылы екінші типті қант диабетіне шалдыққан жануарлардың гематологиялық және биохимиялық көрсеткіштеріндегі өзгерістерді анықтап, жалпы нәруыз мөлшерінің және электролиттердің сандық анализі және сарысу құрамындағы нәруыздың мөлшері, өзгерісіне мелатонин гормонының әсері анықталды. Екінші типті қант диабетінен туындаған өзгерістерге қарсы мелатониннің ықтимал қорғаныс әсерін жалпы қан профилінде зерттелді. Индукция қандағы глюкоза мен сарысудағы қант деңгейін бағалау арқылы расталды. I – негізгі топ: 1. Бақылау жануарлары (БЖ), 2-бақылау тобында 5 мг/кг мелатонин қабылдаған жануарлар (БЖ+МТ (5 мг/кг)), 3- бақылау тобында 10 мг/кг мелатонин қабылдаған жануарлар (БЖ+МТ (10 мг/кг)). Тәжірбиелік топтағы егеуқұйрықтарға 0,1 М цитратты буферде (рН-7,4). 1 мг-нан стрептозоцин екпесін 7 күн бойы құрсақішілік енгізу арқылы қант диабетіне шалдықтыру шарасы жүргізілді. Стрептозоцинмен 2 типі қант диабеті индукцияланған 24 егеуқұйрықтан тұратын II-ші негізгі топты келесі кіші топтарға бөлініп, әртүрлі терапевтік процедуралар жасалды, яғни 4 топ – 2 типті қант диабеті тудырылған жануарлар (2ТҚД) диабеттік бақылау қызметін атқарды, 5 топ – 2 типті қант диабеті тудырылған және мелатонин қабылдаған топ (2ТҚД + МТ (5 мг/кг)), мелатониннің аз концентрациясымен, 6 топ – 2-типті қант диабеті тудырылған және мелатонин қабылдаған топ (2ТҚД+ МТ (10 мг/кг)), мелатониннің жоғары концентрациясымен емделген топтар қолданылды. Қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтардың гематологиялық және биохимиялық көрсеткіштерде ауытқуды көрсетті. Дегенмен, мелатонинді енгізу гематологиялық және биохимиялық көрсеткіштерде оң өзгерістерге әкелгендіктері анықталды.

**Түйін сөздер:** Мелатонин, гематология, екінші типті қант диабеті, циркадтық ырғақтар глюкоза, гемоглобин, эритроциттер, лейкоциттер.

А.Е. Есенбекова\*, Н.Т. Аблайханова, А. Дүйсенбек, А.А. Беисова, З.Б. Есимсиитова,  
А.М. Мухитдинов, А.Қ. Төлеубекова, З.М. Кенжегараева, Ж.С. Тилеубаева

Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

\*e-mail: arailymyessenbekova@gmail.com

### Исследование влияния мелатонина на гематологические и биохимические показатели крови животных с сд 2 типа

В данной статье описано влияние мелатонина на изменения гематологических и биохимических показателей в экспериментальной группе животных с сахарным диабетом 2 типа. Это исследование расширило наши знания о влиянии метаболических нарушений на циркадные

ритмы, о метаболическом контроле и гомеостазе, а также предположило, важность использования ночного пинеального гормона мелатонина в качестве потенциального терапевтического средства для профилактики и лечения диабета. Поэтому целью настоящего исследования было изучение изменений гематологических и биохимических показателей у животных с сахарным диабетом 2 типа с использованием стрептозоцина, а также изучение влияния гормона мелатонина на количественный анализ общего белка и электролитов, в том числе на изменение белка в сыворотке крови. Возможное защитное действие мелатонина на изменения, вызванные сахарным диабетом 2 типа, было изучено в общем профиле крови. Индукция была подтверждена оценкой уровня глюкозы в крови и уровня сахара в сыворотке. I-основная группа: 1 – контрольные животные (КЖ), 2 – контрольная группа животные, получавшие 5 мг/кг мелатонина (КЖ+МТ (5 мг/кг)), 3 – контрольная группа животные, получавшие 10 мг/кг мелатонина (КЖ+МТ (10 мг/кг)). Крысам экспериментальной группы в 0,1 М цитратном буфере (рН-7,4) в течение 7 дней проводилась внутривенная инъекция стрептокозина по 1 мг. Основную группу II из 24 крыс с индуцированным стрептоцином диабетом 2 типа разделили на следующие под группы и подвергли различным лечебным процедурам. Таким образом, группа 4 – животные с индуцированным сахарным диабетом 2-го типа (СД2Т) служили диабетическим контролем, а группа 5 – животные с индуцированным сахарным диабетом 2-го типа, получавшие мелатонин низкой концентрации (СД2Т+МТ (5 мг/кг)), группа 6 – диабет индуцированные животные, получавшие мелатонин высокой концентрации (DM2Т+МТ(10 мг/кг)). У крыс с сахарным диабетом выявлены аномальные гематологические и биохимические показатели. Однако было обнаружено, что введение мелатонина приводит к положительным изменениям гематологических и биохимических показателей.

**Ключевые слова:** Мелатонин, гематология, диабет второго типа, циркадные ритмы, глюкоза, гемоглобин, эритроциты, лейкоциты.

A.Y. Yessenbekova\*, N.T. Ablakhanova, A.A. Duisenbek, A.Beissova, Z.B. Yessimsitova,  
A.M.Mukhitdinov, A.K.Toleubekova, Z.M.Kenzhegaraeva, Zh.S.Tileubayeva

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: arailmyessenbekova@gmail.com

### Investigation of the effect of melatonin on hematological and biochemical blood parameters of animals with type 2 diabetes

This article describes the effect of melatonin on changes in hematological and biochemical parameters in an experimental group of animals with type 2 diabetes. This study expands our knowledge of the impact of metabolic disorders on circadian rhythms, metabolic control, and homeostasis, and uses the nocturnal pineal hormone melatonin as a potential therapeutic agent for the prevention and treatment of diabetes. Therefore, the purpose of this study was to study changes in hematological and biochemical parameters in animals with type 2 diabetes mellitus using streptozocin, as well as to study the effect of the hormone melatonin on the quantitative analysis of total protein and electrolytes, including changes in protein in blood serum. The possible protective effect of melatonin on changes caused by type 2 diabetes mellitus has been studied in the general blood profile. An assessment of blood glucose and serum sugar levels confirmed the induction. I-main group: 1 – control animals (CA), 2 – control group animals are receiving 5 mg/kg of melatonin (CA + MT (5 mg/ kg)), 3 – control group animals are receiving 10 mg/kg of melatonin (CA + MT (10 mg/kg)). The experimental group of rats received an intravenous injection of streptozocin 1 mg in 0.1 M citrate buffer (pH-7.4) for 7 days. The leading group II of 24 rats with streptozocin-induced type 2 diabetes was divided into subgroups and subjected to various therapeutic procedures. Thus, group 4 – animals with induced type 2 diabetes mellitus (DM2T) served as diabetic control, and group 5 – animals with induced type 2 diabetes mellitus receiving low-concentration melatonin (DM2T+MT (5 mg/kg)), group 6 – diabetes-induced animals receiving high-concentration melatonin (DM2T+MT (10 mg/kg)). Abnormal hematological and biochemical parameters were detected in rats with diabetes mellitus. However, it was found that the introduction of melatonin leads to positive changes in hematological and biochemical parameters.

**Key words:** Melatonin, hematology, type II diabetes, circadian rhythms, glucose, hemoglobin, erythrocytes, leukocytes.

### Кіріспе

Қант диабетінің таралуы бүкіл әлемде жоғары қарқынмен өсуде. ДДСҰ мәліметі бойынша, қант диабеті 2030 жылға қарай

өлім-жітім себептерінің арасында жетінші орын алады. Қант диабеті түрлерінің ішінде 2 типті қант диабеті (2ТҚД) қант диабеті жағдайларының 90%-дан астамын құрайды және гипергликемиямен, нысана тіндердегі



инсулинге төзімділікпен, семіздік, жүрек-қан тамырлары қаупі, бүйрек жеткіліксіздігі және ретинопатияны қоса алғанда, бірқатар жүретін аурулармен сипатталады [1].

2 типті қант диабеті-қандағы глюкозаның қалыптан тыс жоғарылауымен немесе инсулин секрециясының төмендеуімен, сондай-ақ екеуімен де сипатталатын метаболикалық бұзылыс [2]. Қандағы глюкозаның ұзақ уақыт бойы жоғарылауы С протеинкиназасының белсендірілуіне әкеледі, ақуыздар мен липидтердің гликациясын арттырады және сорбитолдың түзілу жылдамдығын арттырады. Ақуыздардың гликациясы ферменттердің әсерін өзгертеді, дегенмен, сорбитол зиянды гиперосмолярлықты тудырады [3]. Созылмалы гипергликемия нейропатияны, ретинопатияны, нефропатияны, бауыр ауруларын және жүрек-қан тамырлары мен әртүрлі органдардың құрылымы мен қызметінің бұзылыстарын тудырып, өлімге әкелетін теріс әсерлер көрсетеді [4].

Глюкозаны алу мен қолдануда тіндердің қабілетін төмендету, гипергликемия дамиды – жоғары плазмалық қант, бос май қышқылдары мен аминокышқылдардан энергия алудың балама әдістері белсендіріледі. Гипергликемияны өтеу үшін ағза бүйрек арқылы артық глюкозаны жояды. Зәрдегі мөлшері артады, гликозурия дамиды. Биологиялық сұйықтардағы қанттың жоғары концентрациясы осмотық қысымның жоғарылауына әкеледі, бұл полиурияны тудырады – сұйықтықтың және тұздың жоғалуы кезінде артық зәр шығару, сусыздандыруға және су электролитінің тепе-теңсіздігіне алып келеді. Бұл механизмдер қант диабетінің белгілерінің басым бөлігін құрайды – күшті шөлділік, құрғақ тері, әлсіздік, аритмия. Диагностика зертханалық нәтижелер негізінде белгіленеді.

2 типті қант диабетінде жасушалар инсулинге дұрыс жауап бермейді, бұл инсулинге төзімділікті тудырады. Ұйқы безі инсулинді әлі де шығарады, алайда ол инсулинді жеткіліксіз етеді немесе дене оны тиімді қолданбайды. Сондықтан қандағы глюкозаның деңгейі жоғарылайды. Инсулинге төзімділіктің алғашқы кезеңдері предиабет деп аталады және ақыр соңында 2 типті қант диабетіне айналуы мүмкін.

Мелатонин-бұл негізінен эпифиз безі шығаратын айналмалы гормон. Ол маусымдық және циркадиялық ырғақтарды реттеуші ретінде танымал, оның деңгейі түнде жоғары және күндіз төмен. Инсулин деңгейі мелатонинге тәуелді синхрондау арқылы күн мен түннің

өзгеруіне бейімделеді. Бұл реттеуді мелатониннің инсулиннің шығарылуына ингибиторлық әсерімен түсіндіруге болады. Мелатонин қант диабетіне және онымен байланысты метаболикалық бұзылуларға инсулин секрециясын реттеу арқылы ғана емес, сонымен қатар оттегінің белсенді түрлерінен қорғауды қамтамасыз ету арқылы әсер етуі мүмкін, өйткені ұйқы безінің  $\beta$ -жасушалары тотығу стрессіне өте сезімтал, антиоксиданттық қабілеті төмен. Бұл жағдайда ағза мелатониннің әсеріне сезімтал болуы мүмкін, бұл инсулин секрециясының бұзылуына әкеледі. Мелатонинді индолеаминмен (N-ацетил-5-метокситриптами́н) өндіру, негізінен сүтқоректілердің эпифиз пинеалоциттерінен ритмикалық түрде синтезделетін және бөлінетін жергілікті нейрогормон болып табылады деп болжанады [5]. Мелатонин қараңғы уақытта көп мөлшерде синтезделеді, ал оның синтезі мен секрециясы күндізгі уақытта төмендейді. Мелатонин негізінен эпифиз арқылы синтезделеді, дегенмен, өндірістің 25% – ы эпифизден тыс жерлерде болады [6]. Мелатонин бірнеше физиологиялық процестерде, соның ішінде көбеюді реттеуде [7], циркадиялық ритмдерде [8] маңызды рөл атқаратыны дәлелденген.

Мелатонин мен инсулин секрециясының тәуліктік ырғағындағы айқын айырмашылық осы гормондардың биологиялық функцияларындағы айырмашылықтарға байланысты. Мелатониннен айырмашылығы, адамда инсулиннің минималды деңгейі түнде байқалады, өйткені инсулиннің тамақтан кейінгі метаболизмді бақылаудағы негізгі қызметі түнде жүзеге асырылмауы керек. Тамақ пен тәулік уақытының қалыпты арақатынасының бұзылуы, әдеттегі тамақтанудың 12 сағатқа ауысуы еріктілерде инсулин өндірісінің жоғарылауымен бірге жүретіні көрсетілген. Мелатонин метаболикалық процестердің түнгі кезеңмен, адамда аштыққа бағдарланған уақытпен әрекет етеді және инсулин секрециясын баяулатуы мүмкін [9]. Егеуқұйрықтар мен тышқандардағы ұйқы безі аралдарында MT-1 және MT-2-мелатонин рецепторларының экспрессиясы анықталды [10]. MT2-рецепторлар ұйқы безі аралдарында экспрессияланады, бірақ MT1-рецептор аз дәрежеде экспрессияланады. MT1-рецепторлардың экспрессиясы негізінен  $\alpha$ -жасушаларға тән, MT2-рецепторлар  $\beta$ -жасушаларда кездеседі. In vitro эксперименттер мелатониннің  $\beta$ -жасушаларында, тышқан инсулинома жасушаларында (MIN-6) және егеуқұйрықтарда (INS-

1) инсулин секрециясына тежегіш әсерін көрсетеді.

Алайда, тұтас ағзада мелатониннің әсері айқын болмауы мүмкін. Мелатонин перфузияланған аралшықтарда глюкагонның да, инсулиннің де секрециясын ынталандыратыны көрсетілген [11-12]. ob/ob тышқандарының ұйқыбезі аралшықтарында инсулин секрециясына мелатониннің әсері жоқ екендігі хабарланды (семіздік және 2 типті қант диабеті (2ТҚД) моделі) [13]. Мелатонин әсерінің көптүрлілігі сигнал беру жолдарының әртүрлілігімен түсіндіріледі, сигнал беру жоларының әсерлері арқылы жүзеге асырылады. Мелатониннің инсулин өндірісіне тежегіш әсері цАМФ және цГМФ-тәуелді жолдардың тежелуімен байланысты, ал ынталандырушы әсер G(q) ақуыздары, фосфолипаза C және инозитол фосфат арқылы жүзеге асырылады.

Эпифизі жойылған жануарларда инсулин секрециясы мен глюкоза гомеостазындағы өзгерістер анықталды. Егеуқұйрықтардағы пинеалэктомия бауырдың инсулинге төзімділігіне, глюконеогенездің белсендірілуіне және түнде гликемия деңгейінің жоғарылауына әкелетіні көрсетілген [14]. Глюкозамен ынталандырылған инсулин секрециясының жоғарылауы және оның аймақтарының амплитудасының бұзылуы пинеалэктомиядан өткен егеуқұйрықтардың  $\beta$ -жасушаларында анықталды [15]. 2ТҚД моделі бар егеуқұйрықтардағы эпифизді жою гиперинсулинемияға және бауырда триглицеридтердің жиналуына әкеледі [16]. Аналық мелатонин жатыршілік кезеңде энергия алмасуының циркадиялық ритмдерінің бағдарламалай алады деген болжам бар. Пинеалэктомиядан өткен егеуқұйрықтардың ұрпақтарында глюкозамен ынталандырылған инсулин секрециясының, бауырдың инсулинге төзімділігінің төмендеуі және соның салдарынан күндізгі жарық кезеңінің соңында глюкозаға төзімділіктің бұзылуы анықталды [17].

Артериялық гипертензиямен ауыратын науқастарда түнгі мелатонин секрециясының төмендеуі аш қарынға инсулин деңгейінің жоғарылауымен және Нопа инсулинге төзімділік индексімен байланысты. Осылайша, мелатонин төмен секреция мен жоғары жағдайда энергия алмасуының оңтайлы режимін құруға ықпал етуі мүмкін.

In vivo және in vitro тәжірибелері мелатониннің дене салмағы мен адипоциттерден бөлінетін лептиннің мөлшерін реттеу ар-

қылы энергетикалық гомеостазда да маңызды рөл атқаратынын көрсетті [18]. Эпифизі эктомизирленген егеуқұйрықтардың мелатонин гормоны жеткіліксіздігінен олардың ағзасының глюкозаға төзімділігі төмендейді, глюконеогенездің циркадтық деңгейі тұрақтылығы бұзылады сондықтан түнгі уақытта глюкоза деңгейінің жоғарылауы байқалады [19]. Сонымен қатар, мелатонинді тұрақты беру эпифиз безі бар егеуқұйрықтарда глюкоза гомеостазын реттеп қана қоймай сонымен қатар диеталық тағамдар берген инсулинге сезімталдығы бұзылған егеуқұйрықтарға да оңтайлы әсер етеді [20].

Соңғы жылдары тәуліктік ырғақтардың бұзылуы (ұйқы, ояу режимінің, тамақ қабылдау, аштық циклдерінің өзгеруіне байланысты) қант диабетінің дамуымен тығыз байланысты болды. Бұл жұмыста тәуліктік ырғақтар, метаболизмді бақылау және оның бұзылуының гомеостазға әсері туралы білімді жетілдіріп, сонымен қатар эпифиздің түнгі гормоны мелатониннің қант диабетінің алдын алу және емдеу үшін әлеуетті емдік препарат ретінде маңыздылығы атап өтілді. Бұл мақалада зерттеу жұмысының мақсаты стрептозоцин арқылы екінші типті қант диабетіне шалдыққан жануарлардың гематологиялық және биохимиялық көрсеткіштеріндегі өзгерістерді анықтап, жалпы нәруыз мөлшерінің және электролиттердің сандық анализі және сарысу құрамындағы нәруыздың мөлшері, өзгерісіне мелатонин гормонының әсері анықтау.

## Зерттеу материалдары мен әдістері

### 2.1 Зерттеу материалдары

Тәжірбиеге ҚазҰУ-нің биология және биотехнология факультетінің виварийінде көбейтілген, салмақтары 220-350 г. 48 лабораториялық ақ аталық егеуқұйрықтар (n = 48) пайдаланылып, оларды негізгі екі топқа бөліп қарастырылды. I – негізгі топ: 1. Бақылау жануарлары (БЖ), 2-бақылау тобында 5 мг/кг мелатонин қабылдаған жануарлар (БЖ+МТ (5 мг/кг)), 3-бақылау тобында 10 мг/кг мелатонин қабылдаған жануарлар (БЖ+МТ (10 мг/кг)). Тәжірбиелік топтағы егеуқұйрықтарға 0,1 М цитратты буферде (рН-7,4). 1 мг-нан стрептозоцин екпесін 7 күн бойы құрсақішілік енгізу арқылы арқылы қант диабетіне шалдықтыру шарасы жүргізілді. Стрептозоцинмен индукцияланған қант диабетімен ауыратын 24 егеуқұйрықтан тұратын II-ші негізгі топты келесі кіші топтарға бөлініп, әртүрлі терапевтік процедуралар жасалды,

яғни 4 – топ 2-типті қант диабеті тудырылған жануарлар (2ТҚД) диабеттік бақылау қызметін атқарды, 5 – топ 2-типті қант диабеті тудырылған және мелатониннің аз концентрациясымен (2ТҚД + МТ (5 мг/кг)), 6- топ 2-типті қант диабеті тудырылған және мелатониннің жоғары концентрациясымен емделген топтарға (2ТҚД+МТ (10 мг/кг)) жүргізілді. Әр тәжірибелік топта кемінде сегіз егеуқұйрық, барлық жануарлар 21-23°C температурада, стандартты полипропилен торларында ұсталды және оларға стандартты зертханалық тамақ пен таза су берілді. Мелатонин 100% этил спиртіне ерітіліп, 100 мг суға 10 мг мелатонин қатынасында берілді. Егеуқұйрықтарды эфир ерітіндісімен жансыздандырып, қан үлгілері EDTA түтіктерде мойын және құйрық венасынан алынды. Сарысулар 15 минут бойы 3000 айн/мин центрифугалаудан кейін бөлініп, биохимиялық анықтау үшін 20°C температурада сақталды.

Қант диабеті анықталғаннан кейін қандағы глюкоза деңгейі өлшенді. Егер қан құрамындағы глюкозаның деңгейі 250 мг/дл-ке жетсе қант диабеті болып есептеледі (1 сурет). Барлық эксперименттік топтар эксперименттік жоспарға сәйкес аталды және нөмірленді.

2.1. Қанның гематологиялық көрсеткіштерін зерттеу әдістері

Қанның гематологиялық көрсеткіштерін бағалау үшін автоматты ветеринариялық гематологиялық анализаторы Abacus Junior Vet (Австрия) және глюкозаны өлшеу үшін глюкометр Element (Корея) қолданылып, қанның қызыл клеткаларынан лейкоциттердің жалпы саны, эритроциттердің жалпы саны, гемоглобин концентрациясы, гематокрит көрсеткіші (%), тромбоциттердің жалпы саны, гранулоциттер, лимфоциттер, моноцит көрсеткіштері алынды.

2.2. Қанның биохимиялық көрсеткіштерін зерттеу әдістері

Биохимиялық көрсеткіштерді талдау Dimension Xpand Siemens (Германия) автоматты ветеринариялық биохимиялық анализаторында жүргізілді, қан сарысуынан жалпы нәруыз, альбумин, несепнәр, креатинин, АлАТ, АсАТ, холестерин, жалпы билирубин, триглицерид, натрий, глобулин мөлшері және микро- және макроэлемент деңгейі анықталды.

Жануарларға жасалған барлық іс-шаралар «Эксперименттік жануарларға жұмыс жүргізу

биоэтика ережесі» бойынша қатаң түрде сақталып іске асырылды.

Тәжірибеден кейін өмір сүруге қабілетсіз жануар «Жануарлардың эвтаназиясының этикалық ережесінің» нысанына сәйкес дер кезінде эвтаназиялауға ұшыратылды.

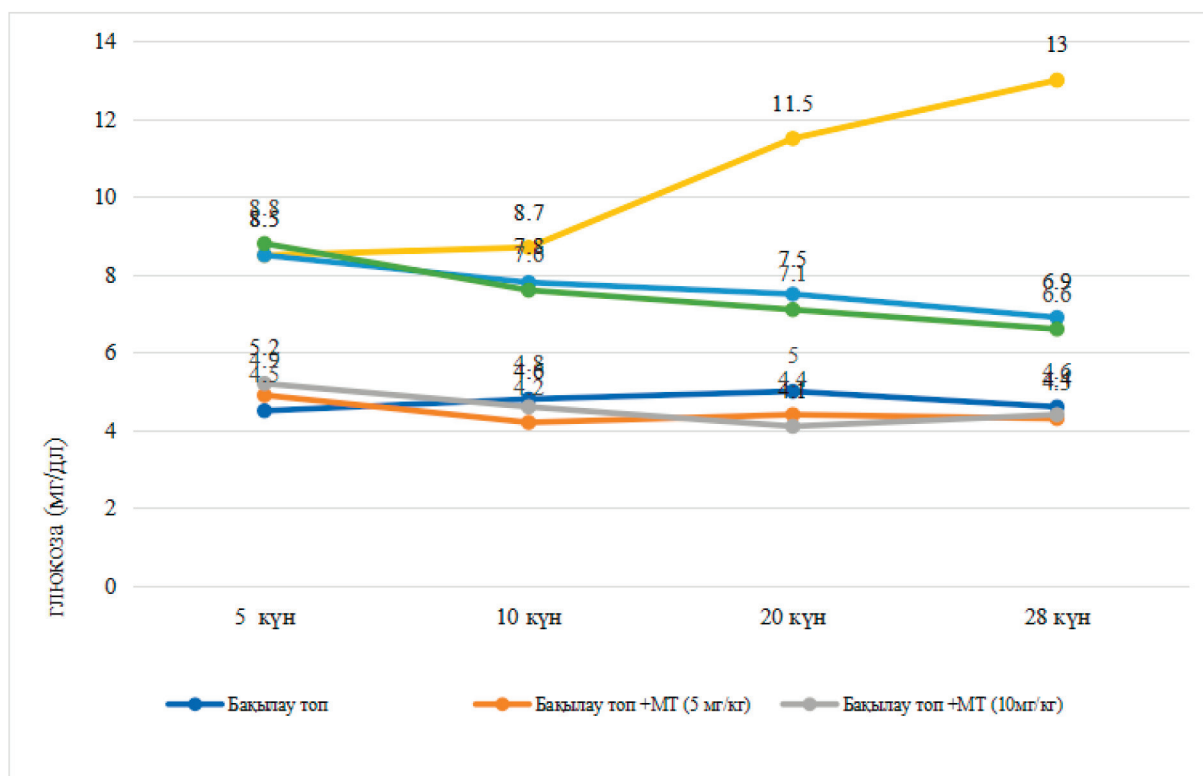
Биологиялық қалдықтарды жою, тірі организмдермен және биологиялық тіндермен (материалдармен) жасалған эксперименттер нәтижесінде жанбайтын бейорганикалық қалдық пайда болғанға дейін өзге де қолжетімді техникалық әдістермен көзделген арнайы қондырғы инсинераторда жағу әдісімен жүзеге асырылды.

Қайта өңдеу – бұл Қазақстан Республикасының ветеринариялық санитариялық сақтаушылығы үшін, дұрыс орындалуы қажет шарт болып табылатын бірқатар іс-шаралар сериясы.

Нәтижелерді статистикалық өңдеу MS offis Excel 2007 бағдарламасының көмегімен жүргізілді. Орташа, квадраттық және стандартты ауытқулар, орташа және пайыздық айырмашылықтар анықталды. Фишер-Стьюдент критерийін қолдана отырып, салыстырылған топтардың көрсеткіштері арасындағы айырмашылықтың дұрыстығын анықтаған кезде және өзгерістер  $p \leq 0,05$  кезінде дұрыс деп саналды

### Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Екінші типті қант диабеті бар егеуқұйрықтарда қант диабеті индукциясынан кейін 15-20 күннен кейін глюкоза деңгейінің айтарлықтай жоғарылауын көрсетті, бұл бақылау егеуқұйрықтарымен салыстырғанда гипергликемияның дамуын көрсетеді. Глюкоза жоғарылағаннан кейін мелатонин қабылдаған топта мелатониннің апта сайынғы қандағы глюкоза көрсеткіштері бойынша өзгерістер байқалды. МТ- мен емделген диабеттік егеуқұйрықтарды емделмеген диабеттік егеуқұйрықтармен салыстырғанда қандағы глюкоза деңгейлерінің жоғарылауына айтарлықтай кедергі келтірді, бірақ деңгейлер әлі де бақылау тобына қарағанда жоғары болды. Ал қалыпты жағдайда (5 мг/кг, 10 мг/кг) МТ қабылдаған егеуқұйрық топтарын бақылау тобымен салыстырғанда глюкоза деңгейлері өзгерген жоқ.



**1-сурет** – Диабеттік егеуқұйрық үлгісіндегі экзогендік мелатониннің апта сайынғы қандағы глюкоза деңгейіне әсері

Қант диабетіне шалдыққан жануарларда тек глюкоза көрсеткіші ғана емес, мінез-құлықтарында да өзгерістер анықталды. Жануарларда агрессия байқалды, ал ішкі

құрылысында бүйрек, бауырда май жиналғанын анықтадық. Бұл өзгерістер орын алған глюкоза мөлшерлерін төмендегі суреттен көре аламыз (1 сурет).

**1-кесте** – Тәжірбиелік топтардағы гематологиялық көрсеткіштер

Көрсеткіштер	Бакылау топ (n = 8)	Бакылау топ+ МТ(5 мг/кг) (n = 8)	Бакылау топ+ МТ(10 мг/кг) (n = 8)	2 тип қант диабеті (n = 8)	ҚД2Т+МТ (5 мг/кг) (n = 8)	ҚД2Т+МТ (10 мг/кг) (n = 8)
Лейкоцит x 10 <sup>9</sup> /л	3,7 ± 0,4	4,1 ± 0,8	3,5 ± 0,15	13,1 ± 0,1***	9,2 ± 0,19	8,5 ± 0,3**
Лимфоцит (%)	70,2 ± 0,22	69,1 ± 0,2	69,8 ± 0,38	48,9 ± 0,24	51,3 ± 0,72	60,2 ± 0,20*
Гранулоцит (%)	7,9 ± 0,8	8,2 ± 0,38	8,5 ± 0,7	39,5 ± 0,4	35,6 ± 0,37	30,3 ± 0,26
Моноцит (%)	2,5 ± 0,28	2,9 ± 0,5	3,1 ± 0,13	11 ± 0,71*	9,7 ± 0,23	10,3 ± 0,08
Эритроцит x 10 <sup>9</sup> /л	5,65 ± 0,3	6,42 ± 0,27	7,3 ± 0,41	8,3 ± 0,43**	7,8 ± 0,40*	7,4 ± 0,4
Гемоглобин (г/л)	130,1 ± 0,20	131 ± 0,12	130 ± 0,27	136 ± 0,27	132 ± 0,3	127 ± 0,21
Гематокрит (%)	38 ± 0,3	36 ± 0,3	35 ± 0,21	43 ± 0,49	40,2 ± 0,7	39,9 ± 0,3
Тромбоцит x 10 <sup>9</sup> /л	462 ± 1,27	460 ± 1,36	458 ± 1,26	520 ± 1,07*	473 ± 1,32	460 ± 1,72*

Ескерту: \* - P≤0,05; \*\* – P≤0,01; \*\*\* – P≤0,001

Қан параметрлерін зерттеу денсаулық жағдайын бағалаудың кең таралған, сонымен қатар негізгі дәл медициналық құралы болып табылады [25]. Олқанның әртүрлі компоненттерінің функцияларын егжей-тегжейлі сипаттайды [26]. Эритроциттер (RBCs), гемоглобин (Hb), гематокрит (HCT), қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда айтарлықтай жоғарылағанын көрсетті. Алайда, 5 мг/кг, 10 мг/кг мелатонинмен емдеу барлық төмендеген көрсеткіштердің айтарлықтай қалпына келуін көрсетті. Сонымен қатар тромбоциттер, лейкоциттер және гранулоцит қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда айтарлықтай жоғарылағанын көрсетті. Мелатонинді экзогендік енгізу лимфоциттердің, тромбоциттердің, лейкоциттердің және гранулоциттердің бақылау деңгейіне қатысты одан әрі ұлғаюына жол бермеді (2 кесте).

Гематологиялық көрсеткіштерді зерттеу жануарлардың қан көрсеткіштерінде тек қант диабетін анықтау үшін ғана жүргізілмейді. Қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда гемоглобин деңгейі бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай жоғарылады. Дегенмен, мелатонинді қабылдау гемоглобин деңгейін айтарлықтай қалпына келтірді. Бұл гемоглобин гликозилденуіне байланысты гемоглобин деңгейінің төмендеуін түсіндіреді және ол қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда HbA1c-ге айналады. Артық глюкоза белоктың аномальді гликозилдену себептерімен әрекеттеседі [21]. Ұзақ мерзімді диабеттік жағдай гликозилденген гемоглобин деңгейін жоғарылатады. Дегенмен, экзогендік мелатонин жасушаларының инсулин секрециясын қалпына келтіру және күшейту арқылы глюкоза деңгейін төмендетуі мүмкін. Қант диабетінде қалыпты гемоглобин деңгейі жоғарылайды, бұл эритроциттердің қызметін тежеуі мүмкін, сонымен қатар бұл жасушалардың өмір сүру ұзақтығын өзгертуі мүмкін, бұл эритроциттердің түзілуінің жоғарылауына әкеледі. Эритроциттер деңгейінің төмендеуі жасушаларда оттегі мен көмірқышқыл газын тасымалдау сияқты кейбір тыныс алу проблемаларын тудыруы мүмкін. Қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда бақылау тобымен салыстырғанда эритроциттер санының айтарлықтай төмендеуі байқалды.

Қант диабеті кезінде эритроциттердің түзілуі мен жойылуы арасындағы тепе-теңдік бұзылатыны байқалады. Бірақ, диабеттік топқа енгізілген экзогендік мелатонин бақылау тобымен салыстырғанда қызыл қан жасушаларының санын біршама арттырды. Бұл

Глюкоза гомеостазындағы мелатониннің рөлі гемоглобиннің гликозилдену жылдамдығын болдырмауға және бақылауға көмектеседі.

Қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда лейкоциттердің жалпы санының және онымен байланысты айнымалылардың жоғарылауы байқалды. Бірақ басқа зерттеулерде қант диабеті кезінде лейкоциттер мен лимфоциттердің саны азайғанын хабарлаған бұрынғы зерттеулермен сәйкес келеді [22]. Лейкоциттер мен лимфоциттер санының төмендеуі сүйек кемігіндегі лейкоцитоздың төмендеуімен байланысты болуы мүмкін. Бұл тежелген лейкоцитоз процесі инфекциядан қорғаныстың төмендеуінен туындауы мүмкін. Қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтар төрт апта бойы үздіксіз қабылдаған мелатонинді экзогендік енгізу, лейкоциттер мен лимфоциттер санының қалыпты диапазонға дейін айтарлықтай қалыпқа келгенін көрсетті. Созылмалы нашар гликемиялық бақылау инсулиннің жетіспеушілігінен туындайды [23].

Эритроциттердің, гематокриттің, гемоглобин және эритроциттердің тұну жылдамдығы төмендеуі анемиялық жағдайды және темірдің төмендеуін көрсетеді. Мелатонинмен емдеу анемияға қарсы қасиеттер көрсетуі мүмкін, бұл оның электронға бай индол сақинасына және металл иондарымен конъюгациясына байланысты болуы мүмкін. Қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарды бақылау тобымен салыстырғанда лейкоциттер саны айтарлықтай өсті. Бұл олардың қалыпты физиологиялық процестеріндегі кейбір өзгерістерді көрсетеді. Ағымдағы зерттеудің нәтижелері қант диабеті уытты көріністер мен иммунитеттің бұзылуын тудыратынын көрсетті. Лейкоцитоз аурудың ауырлығымен тікелей байланысты және лейкоциттердің бағытты жоғарылауымен байланысты болуы мүмкін. Қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда лимфоциттер саны егеуқұйрықтарды бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай өсті [24].

**2-Кесте** – Тәжірибе топтарындағы биохимиялық көрсеткіштердің деңгейлері

Көрсеткіштер	Бақылау топ (n = 8)	Бақылау топ+ МТ(5 мг/кг) (n = 8)	Бақылау топ+ МТ(10 мг/кг) (n = 8)	2ТҚД (n = 8)	2ТҚД+МТ (5 мг/кг) (n = 8)	2ТҚД+МТ (10 мг/кг) (n = 8)
Жалпы нәруыз (г/л)	61,3 ± 1,0	62,2 ± 0,8	66,1 ± 0,9	43,3 ± 0,9**	47,1 ± 0,7	49,8 ± 0,25*
Альбумин (г/л)	39,2 ± 0,43	43,1 ± 0,2	45,8 ± 0,38	19,5 ± 0,31**	20,1 ± 0,2	23,1 ± 0,74*
Несепнәр (ммоль/л)	3,5 ± 0,9	3,2 ± 0,41	2,9 ± 0,11	14,8 ± 0,6	9,8 ± 1,0	6,5 ± 1,1
Креатинин (мкмоль/л)	61,0 ± 0,71	53,3 ± 0,5	52,6 ± 0,9	96 ± 0,32	78,2 ± 0,71	72,3 ± 0,56
АлАТ (МЕ/л)	56,2 ± 0,5	57,3 ± 0,27	59,4 ± 0,41	102,2 ± 0,8	98,8 ± 0,63	98,1 ± 0,75
АсАТ (МЕ/л)	201,8 ± 1,1	203,1 ± 0,12	207 ± 0,3	346,1 ± 0,23	327,1 ± 0,5	314,8 ± 0,6
Холестерин (ммоль/л)	2,7 ± 0,9	2,3 ± 0,3	2,4 ± 0,8	14,6 ± 0,5*	8,7 ± 0,1	4,8 ± 0,9**
Жалпы билирубин (ммоль/л)	0,9 ± 1,1	1,1 ± 1,3	0,8 ± 1,3	49,9 ± 1,1*	56,7 ± 0,9	31,8 ± 1,3
Триглицерид (ммоль/л)	2,8 ± 1,2	2,1 ± 1,2	2,0 ± 0,7	5,8 ± 0,8*	4,3 ± 0,7	2,8 ± 0,3**
Натрий (ммоль/л)	147 ± 1,1	150,1 ± 0,9	153,5 ± 1,0	98 ± 1,2	101,3 ± 0,7	120 ± 0,9
Глобулин г/л	44,8 ± 0,6	45,3 ± 0,9	47,3 ± 0,3	23,2 ± 0,6***	25,1 ± 0,5	29,4 ± 1,0**

Ескерту: \* - P≤0,05; \*\* – P≤0,01; \*\*\* – P≤0,001

Қант диабетінен туындаған глюкозаның уыттылығы жалпы билирубин, жалпы ақуыз мөлшері егеуқұйрықтардың бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай төмен болды (кесте 2). Сонымен қатар мелатонин препаратымен коррекциялағаннан жоғарыдағы көрсеткіштер мәні бақылау тобының көрсеткішімен теңескен жоқ.

Қант диабетімен ауыратын науқастарда қан сарысуындағы билирубин деңгейінің айтарлықтай жоғарылауы байқалды, ал диабетикке енгізілген экзогендік мелатонин қоспасы билирубин құрамының айтарлықтай қалпына келуін көрсеткен жоқ. Билирубин катаболизм және эритроциттердің ыдырауы процесінде түзіледі және бауыр арқылы шығарылады [25]. Демек, билирубиннің бауырдың қалыпты физиологиялық функцияларына араласуы қосылысқа да, шығарылу жылдамдығына да әсер етеді. Сонымен қатар, билирубин деңгейінің жоғарылауы бауырдың функционалды жағдайын, сондай-ақ ағздан ақуыздарды жоюдың жалпы биомаркері болып табылады.

Креатинин концентрациясының көрсеткіші бақылау тобымен салыстырғанда қалыпты жағдайда мелатониннің әртүрлі концентрациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының тобында төмендегені, ал диабеттік топпен салыстырғанда айтарлықтай жоғарлағаны байқалды. бақылаушы топқа қарағанда қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда айтарлықтай жоғарылады. Со-

нымен қатар мелатонинді бергеннен кейін креатинин концентрациясының мөлшері диабеттік егеуқұйрықтармен салыстырғанда екеуі де  $p < 0,05$  төмендеді.

Несепнәрдің мөлшері бақылаушы топқа қарағанда қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда айтарлықтай жоғарылады. Алайда тек мелатониннің (10 мг/кг) жоғары концентрациясын бергеннен кейін несепнәрдің мөлшері ( $p < 0,01$ ) диабеттік топпен салыстырғанда айтарлықтай төмендеп, бақылау тобындағы мәнге сәйкес келді. Ал тек қалыпты жағдайда мелатониннің әртүрлі концентрациясын қабылдаған топ егеуқұйрықтарының несепнәр концентрациясы бақылау тобымен салыстырғанда төмендегені байқалды, бірақ қалыпты көрсеткіш мәніне жақын.

АлАТ және АсАТ мөлшері бақылаушы топқа қарағанда қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда айтарлықтай жоғарылады. Алайда мелатонинді бергеннен кейін АлАТ пен АсАТ деңгейі диабеттік егеуқұйрықтармен салыстырғанда екеуі де  $p < 0,05$  төмендеді.

Қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтар тобында триглицерид (TG) және холестерин, көрсеткіштерінің айтарлықтай жоғарылауына байланысты қалыпты емес липид профилін көрсетті, ал мелатонинмен (емделгеннен) коррекциялағаннан кейін олардың 2 типті қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтар тобымен салыстырғанда бұл көрсеткіштердің мөлшері

айтарлықтай төмендеді, яғни бақылау тобымен салыстырғанда 2 типті қант диабетіне шалдығып, мелатонинмен емделген егеуқұйрықтар тобында липидтер мен липопротеидтер алмасуының бұзылуы жақсарды. Қан сарысуындағы липидтердің профилі тек МТ қабылдаған егеуқұйрықтарда айтарлықтай өзгерген жоқ (3-кесте). 2ТҚД туғызылып, артынан МТ (10 мг/кг) жоғары концентрациясын қабылдаған топты МТ (5 мг/кг) концентрациясын қабылдаған топпен салыстырғанда айтарлықтай жақсы әсер көрсеткенін байқаймыз.

Электролиттердің сандық көрсеткішін зерттеу кезінде натрий анализінің мөлшері бақылау тобына қарағанда қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтарда айтарлықтай төмендеді. Алайда мелатонинді бергеннен кейін натрий деңгейі диабеттік егеуқұйрықтармен салыстырғанда жоғарылады. Осы топтар арасында микрожәне макроэлемент деңгейін зерттеу барысында стрептозоциннің зерттелетін элементтердің құрамындағы өзгерісін тудыратынын анықтады.

Осылайша, стрептозоцинді енгізгеннен кейін 15-ші күні жануарларда натрий деңгейінің 9,4%-

ға және калийдің 35%-ға азайғаны анықталды. Ал қант диабетіне шалдыққан егеуқұйрықтарға енгізілген экзогендік мелатонин қоспасы натрий деңгейінің қалпына келуіне әсер еткен жоқ, керісінше калийдің деңгейінің айтарлықтай қалпына келуін көрсетті. Қант диабетімен ауыратын егеуқұйрықтардың қанындағы кальций концентрациясы  $5,30 \pm 0,07$  моль/л дейін бақылау тобына қарағанда жоғарылады (бақылау жануарларында  $1,95 \pm 0,06$ ). Алайда мелатонинді бергеннен кейін қанындағы кальций концентрациясы диабеттік егеуқұйрықтармен салыстырғанда екеуі де  $p < 0,05$  жоғарылады. Бұл ретте калий-кальций коэффициентінің мәні 0,37-ге дейін төмендеді, ал бақылау жануарларында бұл коэффициент 1,6 болды (3-кесте).

Қант диабеті туғызылған егеуқұйрықтардың қанындағы мыс, темір және мырыштың құрамын зерттеу кезінде мыс деңгейінің  $8,44 \pm 0,32$  мкмоль/л -ге дейін, (бақылау топта  $9,08 \pm 0,14$  мкмоль/л  $p < 0,01$ ), темірдің  $31,86 \pm 2,65$  мкмоль/л дейін (бақылау тобындағы  $41,39 \pm 0,43$  мкмоль/л-ге,  $p < 0,01$ ) және мырыш  $22,56 \pm 0,36$  мкмоль/л дейін төмендеуі тіркелді.

**3-Кесте** – Стрептозоцинмен индукцияланған қант диабеті бар егеуқұйрықтардың қан сарысуындағы микро- және макроэлементтердің мөлшері

Көрсеткіштер	Бақылау топ (n = 8)	Бақылау топ+ МТ(10 мг/кг) (n = 8)	2ТҚД (n = 8)	2ТҚД+МТ (10 мг/кг) (n = 8)
Натрий, ммоль/л	$187,50 \pm 1,27$	$180,44 \pm 1,27$	$169,90 \pm 7,03^{**}$	$154,40 \pm 5,58^{**}$
Калий, ммоль/л	$3,049 \pm 0,16$	$2,85 \pm 0,25$	$1,98 \pm 0,12^{**}$	$2,30 \pm 0,13^{**}$
Кальций, моль/л	$1,95 \pm 0,06$	$1,74 \pm 0,064^*$	$5,30 \pm 0,07^{**}$	$5,95 \pm 0,25$
Мырыш, мкмоль/л	$26,50 \pm 1,60$	$25,59 \pm 1,59$	$17,09 \pm 0,87^{**}$	$22,56 \pm 0,35^*$
Темір, мкмоль/л	$42,74 \pm 0,45$	$41,39 \pm 0,43$	$31,86 \pm 2,60^{**}$	$53,58 \pm 1,91^*$
Мыс, мкмоль/л	$9,25 \pm 0,11$	$9,08 \pm 0,14$	$8,44 \pm 0,32^{**}$	$8,75 \pm 0,60^*$

Ескерту: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* -  $P \leq 0,001$

Стрептозоцинмен индукцияланған қант диабеті бар жануарлардың микроэлементтік құрамын зерттеу барысында макро және микроэлементтердің құрамындағы бұзылулар байқалды. Мырыш, мыс және темірдің төмендеуі бірқатар функционалды және морфологиялық бұзылулармен түсіндірілуі мүмкін. Мысалы, мырыш ұйқы безі жасушаларында инсулинді синтездеуде, жинақтауда және оны бөліп шығаруда маңызды рөл атқарады [26]. Инсулин ұйқы безінде «мырыш-инсулин» кешені түрінде жиналады, оның құрамында шамамен 0,5% құрайды. In vitro зерттеулерде мырыш инсулиннің жасу-

ша мембранасымен байланысуын арттырады, липолизді тежейді және липогенезді арттырады, әрі қарай глюкозаның тасымалдануы, сондай-ақ адипоциттердегі тотығу жоғарылайды. Мырыш тапшылығы бар егеуқұйрықтарда проинсулинді инсулинге айналдыратын карбоксипептидаза ферментінің белсенділігі трипсин белсенділігінің 100% компенсаторлық жоғарылауымен екі есе төмендейді. Себебі мырыш иондары бір жағынан проинсулиннің ерігіштігін арттырады, екінші жағынан инсулиннің ерігіштігін төмендетеді, яғни инсулиннің тұндырылуы мен кристалдануы мырышқа тәуелді [27].

## Қорытынды

Ұсынылған деректеринсулинсекрециясының тәуліктік ырғақтарын және глюкоза гомеостазын реттеудегі мелатониннің негізгі рөлін көрсетеді. Осы зерттеудің нәтижелеріне сүйене отырып, қант диабеті жалпы жасушалық ақуыздың, гликогеннің құрамындағы бұзылуларды тудырады деген қорытындыға келді. Сонымен қатар, бұл қант диабеті қан сарысуындағы электролиттердің (N+) және макро-микро элементтердің, жалпы қан профилінің өзгеруіне әкеледі. Биохимиялық көрсеткіштер мен гематологиялық көрсеткіштерінің бұл өзгерістері физиологиялық процестерді тежейді (анемия, оттегі сыйымдылығы, иммунитет тапшылығы кезіндегі әлсіздік

және жараның жазылуының кешігуі). Мелатонинмен емдеу жалпы қан профилінің бақылау деңгейіне жақын өзгерістерін қалпына келтірді. 2 типті қант диабеті эпифиздегі тәуліктік мелатонин өндірісінің және қандағы мелатонин концентрациясының бұзылуымен сипатталады. Эксперименттік дәлелдер мелатониннің  $\beta$ -жасуша дисфункциясын азайтып, 2 типті қант диабетінің дамуын және оның асқынуларын кешіктіруі мүмкін екенін көрсетеді. Қант диабетіндегі мелатонин секрециясының бұзылуының патофизиологиялық рөлі және осы гормонды терапевтік қолдану мүмкіндігі қосымша зерттеуді қажет етеді.

Мүдделер қақтығысы – авторларда мүдделер қақтығысы жоқ

## Әдебиеттер

1. Ablaihanova N.T., Yessenbekova A.Y., Tazhiyeva Aigul, Yessimsitova Z.B., Saidakhmetova A.K., Malibayeva A.E., Sanbaeva B.J. and Molsadykkyzy M. Issues of Type 2 Diabetes Disease Effective Treatment in Kazakhstan // *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences.* – 2020. vol. 10. pp. 116.
2. Simonneaux V., Ribelayga C. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters // *Pharmacol Rev.* – 2003. vol. 55(2). pp. 325-395.
3. Дүйсенбек А.А., Аблайханова Н.Т., Қалдықараева А.Т., Есенбекова А.Е., Мухитдин Б., Есимситова З.Б., Қожамжарова Л. 2 типті қант диабеті бар науқастарда эндотелиальды дисфункциямен байланысты тамырлы асқынулар // *Вестник Карагандинского университета. Медицина сериясы.* – 2022. №3(107) – Б.177.
4. R. Neurobiology, pathophysiology, and treatment of melatonin deficiency and dysfunction // *Scientific World Journal.* – 2012. vol. 5, pp. 3-5.
5. Slominski R.M., Reiter R.J., Schlabritz-Loutsevitch N., Ostrom R.S., Slominski A.T. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions // *Mol Cell Endocrinol.* -2012. vol. 351(2), pp.152-66.
6. Fareha Wajid, Raju Poolacherla, Fatiha Kabir Mim, Amna Bangash, Ian H. Rutkofsky. Therapeutic potential of melatonin as a chronobiotic and cytoprotective agent in diabetes mellitus // *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders.* – 2020. vol.19(2). pp. 1797-1825.
7. Jia Xin Mok, Jack Hau Ooi, Khuen Yen Ng, Rhun Yian Koh, Soi Moi Chye. A new prospective on the role of melatonin in diabetes and its complications // *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation.* DOI: 10.1515/hmbci-2019-0036. – 2019. vol. 2. pp. 179-182.
8. Yapıslar, H., Hacıosmanoglu, E., Sarioglu, T., Degirmencioglu S., Sogut I., Poteser M., Ekmekcioglu C. AntiInflammatory Effects of Melatonin in Rats with Induced Type 2 Diabetes Mellitus // *Life.* – 2022. vol. 12. pp. 574.
9. Scheer F.A., Hilton M.F., Mantzoros C.S., Shea S.A. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2009. vol. 106(11). pp.3-8.
10. Bailey C.J., Atkins T.W., Matty A.J. Melatonin inhibition of insulin secretion in the rat and mouse // *Horm Res.* – 2000. vol. 5(1). pp.21-8.
11. Mühlbauer E., Peschke E. Evidence for the expression of both the MT1- and in addition, the MT2-melatonin receptor, in the rat pancreas, islet and beta-cell // *J Pineal Res.* – 2007. vol. 42(1), pp. 105.
12. Nagorny C.L., Sathanoori R., Voss U., Mulder H., Wierup N. Distribution of melatonin receptors in murine pancreatic islets // *J Pineal Res.* – 2011. vol.50(4). pp. 412-7.
13. Ramracheya R.D., Muller D.S., Squires P.E., Brereton H., Sugden D., Huang G.C., Amiel SA, Jones PM, Persaud SJ. Function and expression of melatonin receptors on human pancreatic islets // *J Pineal Res.* -2008. vol. 44(3). pp. 273.
14. Lyssenko V., Nagorny C.L., Erdos M.R., Wierup N., Jonsson A., Spégel P., Bugliani M., Saxena R., Fex M., Pulizzi N., Isomaa B., Tuomi T., Nilsson P., Kuusisto J., Tuomilehto J., Boehnke M., Altshuler D., Sundler F., Eriksson J.G., Jackson A.U, Laakso M., Marchetti., Watanabe R.M., Mulder H., Groop L. Common variant in MTNR1B associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired early insulin secretion // *Nat Genet.* -2009. vol.41(1). pp. 2-8.
15. Doaa A., Abdulwahab, Mohamed A., El-Missiry, Sameh Shabana, Azza I. Othman, Maggie E. Amer. Melatonin protects the heart and pancreas by improving glucose homeostasis, oxidative stress, inflammation and apoptosis in T2DM-induced rat // *Heliyon* 7. -2021. vol. 5. pp.36.



16. Stebelová, Katarína, Herichová, Iveta, Zeman, Michal. Diabetes induces changes in melatonin concentrations in peripheral tissues of rat // *Neuroendocrinology Letters*. – 2002. vol. 28. no 2. pp.159 – 165
17. Andersson A.K., Sandler S. Melatonin protects against streptozotocin, but not interleukin-1 $\beta$ -induced damage of rodent pancreatic  $\beta$ -cells // *Journal of Pineal Research*. -2001. vol. 30. no 3. pp. 157 – 165.
18. Peschke E., Hofmann K., Bähr I., Streck S., Albrecht E., Wedekind D., Mühlbauer E. The insulin-melatonin antagonism: studies in the LEW.1AR1-iddm rat (an animal model of human type 1 diabetes mellitus) // *Diabetologia*. – 2011. vol.54. no. 7 pp. 1831.
19. Peschke E., Wolgast S., Bazwinsky I., Płnicke K., Mühlbauer E. Increased melatonin synthesis in pineal glands of rats in streptozotocin induced type 1 diabetes // *J Pineal Res*. – 2008. vol. 45(4). pp. 439–48.
20. Nogueira T.C., Lellis-Santos C., Jesus D.S., Taneda M., Rodrigues S.C., Amaral F.G., Lopes A.M., Cipolla-Neto J., Bordin S., Anhê G.F. Absence of melatonin induces night-time hepatic insulin resistance and increased gluconeogenesis due to stimulation of nocturnal unfolded protein response // *Endocrinology*. – 2011. vol. 152(4) pp.1253–63.
21. Picinato M.C., Haber E.P., Carpinelli A.R., Cipolla-Neto J. Daily rhythm of glucose-induced insulin secretion by isolated islets from intact and pinealectomized rat // *J Pineal Res*. – 2002. vol. 33(3) pp. 172–177.
22. Nishida S., Sato R., Murai I., Nakagawa S. Effect of pinealectomy on plasma levels of insulin and leptin and on hepatic lipids in type 2 diabetic rats // *J Pineal Res*. – 2003. vol.35(4). pp. 251–252.
23. Ferreira D.S., Amaral F.G., Mesquita C.C., Barbosa A.P., Lellis-Santos C., Turati A.O., Santos L.R., Sollon C.S., Gomes P.R., Faria J.A., Cipolla-Neto J., Bordin S., Anhê G.F. Maternal melatonin programs the daily pattern of energy metabolism in adult offspring // *PLoS One*. – 2012. vol.7(6). pp. 215-216.
24. Bouatia-Naji N., Bonnefond A., Cavalcanti-Proença C., Sparso T., Holmkvist J., Marchand M., Delplanque J., Lobbens S., Rocheleau G., Durand E., De Graeve F., Chèvre JC., Borch-Johnsen K., Hartikainen AL, Ruokonen A, Tichet J, Marre M, Weill J., Heude B, Tauber M, Lemaire K, Schuit F., Elliott P., Jørgensen T., Charpentier G., Hadjadj S., Cauchi S., Vaxillaire M., Sladek R., Visvikis-Siest S., Balkau B., Lévy-Marchal C., Pattou F., Meyre D., Blakemore AL, Jarvelin MR., Walley AJ., Hansen T., Dina C., Pedersen O., Froguel P. A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk // *Nat Genet*. – 2009. vol. 41. pp. 89–94.
25. Prokopenko I., Langenberg C., Florez J.C., Saxena R., Soranzo N., Thorleifsson G., Loos R.J., Manning A.K., Jackson A.U., Aulchenko Y., Potter S.C., Erdos M.R. Variants in MTNR1B influence fasting glucose levels // *Nat Genet*. – 2009. vol. 41. pp. 77–81.
26. Reiling E., Riet E., Groenewoud M.J., Welschen L.M., van Hove E.C., Nijpels G., Maassen J.A., Dekker J.M., Hart L.M. Combined effects of single-nucleotide polymorphisms in GCK, GCKR, G6PC2 and MTNR1B on fasting plasma glucose and type 2 diabetes risk // *Diabetologia*. – 2009. vol.52(9). pp. 66–70.

## References

1. Ablaihanova N.T., Yessenbekova A.Y., Tazhiyeva Aigul, Yessimsitova Z.B., Saidakhmetova A.K., Malibayeva A.E., Sanbaeva B.J. and Molsadykkyzy M. (2020) Issues of Type 2 Diabetes Disease Effective Treatment in Kazakhstan. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*, vol.10, pp.116.
2. Andersson A.K., Sandler S. (2001) Melatonin protects against streptozotocin, but not interleukin-1 $\beta$ -induced damage of rodent pancreatic  $\beta$ -cells. *Journal of Pineal Research*. vol. 30, no 3, pp. 157 – 165.
3. Bailey C.J., Atkins T.W., Matty A.J. (2000) Melatonin inhibition of insulin secretion in the rat and mouse. *Horm Res*. vol. 5(1), pp.21-8.
4. Bouatia-Naji N., Bonnefond A., Cavalcanti-Proença C., Sparso T., Holmkvist J., Marchand M., Delplanque J., Lobbens S., Rocheleau G., Durand E., De Graeve F., Chèvre JC., Borch-Johnsen K., Hartikainen AL, Ruokonen A, Tichet J, Marre M, Weill J., Heude B, Tauber M, Lemaire K, Schuit F., Elliott P., Jørgensen T., Charpentier G., Hadjadj S., Cauchi S., Vaxillaire M., Sladek R., Visvikis-Siest S., Balkau B., Lévy-Marchal C., Pattou F., Meyre D., Blakemore AL, Jarvelin MR., Walley AJ., Hansen T., Dina C., Pedersen O., Froguel P. (2009) A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk. *Nat Genet*, vol. 41, pp. 89–94.
5. Doaa A., Abdulwahab, Mohamed A., El-Missiry, Sameh Shabana, Azza I. Othman, Maggie E. Amer. (2021) Melatonin protects the heart and pancreas by improving glucose homeostasis, oxidative stress, inflammation and apoptosis in T2DM-induced rat. *Heliyon* 7. vol.5, pp.36.
6. Duisenbek A.A., Ablaihanova N.T., Kaldykarayeva A.T., Yessenbekova A.E., Mukhitdin B., Yessimsitova Z.B., Kozhamzharova L. (2022) 2 tipti qant diabeti bar nawqastarda éndotelialdı disfnwnciyamen baylanıstı tamırılı asqınwlar [Vascular complications in combination with endothelial dysfunction in people with type two diabetes]. *Vestnik of the Karaganda University, Medicine Series*. vol. 3(107), pp. 177.
7. Fareha Wajid, Raju Poolacherla, Fatiha Kabir Mim, Amna Bangash, Ian H. Rutkofsky. (2020) Therapeutic potential of melatonin as a chronobiotic and cytoprotective agent in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. vol. 19(2), pp. 1797-1825.
8. Ferreira D.S., Amaral F.G., Mesquita C.C., Barbosa A.P., Lellis-Santos C., Turati A.O., Santos L.R., Sollon C.S., Gomes P.R., Faria J.A., Cipolla-Neto J., Bordin S., Anhê G.F. (2012) Maternal melatonin programs the daily pattern of energy metabolism in adult offspring. *PLoS One*, vol.7(6), pp. 215-216.
9. Hardeland R. (2012) Neurobiology, pathophysiology, and treatment of melatonin deficiency and dysfunction. *Scientific World Journal*. vol. 5, pp. 3-5.

10. Jia Xin Mok, Jack Hau Ooi, Khuen Yen Ng, Rhun Yian Koh, Soi Moi Chye. (2019) A new prospective on the role of melatonin in diabetes and its complications. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*. DOI: 10.1515/hmbci-2019-0036. vol. 2, pp. 179-182.
11. Lyssenko V., Nagorny C.L., Erdos M.R., Wierup N., Jonsson A., Spégel P., Bugliani M., Saxena R., Fex M., Pulizzi N., Isomaa B., Tuomi T., Nilsson P., Kuusisto J., Tuomilehto J., Boehnke M., Altshuler D., Sundler F., Eriksson J.G., Jackson A.U., Laakso M., Marchetti., Watanabe R.M., Mulder H., Groop L. (2009) Common variant in MTNR1B associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired early insulin secretion. *Nat Genet.* vol.41(1), pp. 2-8.
12. Mühlbauer E., Peschke E. (2007) Evidence for the expression of both the MT1- and in addition, the MT2-melatonin receptor, in the rat pancreas, islet and beta-cell. *J Pineal Res.* vol. 42(1), pp. 105.
13. Nagorny C.L., Sathanoori R., Voss U., Mulder H., Wierup N. (2011) Distribution of melatonin receptors in murine pancreatic islets. *J Pineal Res.* vol.50(4), pp. 412-7.
14. Nishida S., Sato R., Murai I., Nakagawa S. (2003) Effect of pinealectomy on plasma levels of insulin and leptin and on hepatic lipids in type 2 diabetic rats. *J Pineal Res.* vol. 35(4), pp. 251–252.
15. Nogueira T.C., Lellis-Santos C., Jesus D.S., Taneda M., Rodrigues S.C., Amaral F.G., Lopes A.M., Cipolla-Neto J., Bordin S., Anhô G.F. (2011) Absence of melatonin induces night-time hepatic insulin resistance and increased gluconeogenesis due to stimulation of nocturnal unfolded protein response. *Endocrinology.* vol. 152(4) pp.1253–63.
16. Peschke E., Hofmann K., Bähr I., Streck S., Albrecht E., Wedekind D., Mühlbauer E. (2011) The insulin-melatonin antagonism: studies in the LEW.1AR1-iddm rat (an animal model of human type 1 diabetes mellitus). *Diabetologia.* vol.54, no 7 pp. 1831.
17. Peschke E., Wolgast S., Bazwinsky I., Pfnicke K., Mühlbauer E. (2008) Increased melatonin synthesis in pineal glands of rats in streptozotocin induced type 1 diabetes. *J Pineal Res.* vol. 45(4): pp. 439–48.
18. Picinato M.C., Haber E.P., Carpinelli A.R., Cipolla-Neto J. (2002) Daily rhythm of glucose-induced insulin secretion by isolated islets from intact and pinealectomized rat. *J Pineal Res.* vol. 33(3), pp. 172–177.
19. Prokopenko I., Langenberg C., Florez J.C., Saxena R., Soranzo N., Thorleifsson G., Loos R.J., Manning A.K., Jackson A.U., Aulchenko Y., Potter S.C., Erdos M.R. (2009) Variants in MTNR1B influence fasting glucose levels. *Nat Genet.* vol. 41, pp. 77–81.
20. Ramracheya R.D., Muller D.S., Squires P.E., Brereton H., Sugden D., Huang G.C., Amiel SA, Jones PM, Persaud SJ. (2008) Function and expression of melatonin receptors on human pancreatic islets. *J Pineal Res.* vol. 44(3). pp. 273.
21. Reiling E., Riet E., Groenewoud M.J., Welschen L.M., van Hove E.C., Nijpels G., Maassen J.A., Dekker J.M., Hart L.M. (2009) Combined effects of single-nucleotide polymorphisms in GCK, GCKR, G6PC2 and MTNR1B on fasting plasma glucose and type 2 diabetes risk. *Diabetologia.* vol. 52(9), pp. 66–70.
22. Scheer F.A., Hilton M.F., Mantzoros C.S., Shea S.A. (2009) Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proc Natl Acad Sci USA.* vol. 106(11), pp.3-8.
23. Simonneaux V, Ribelayga C. (2003) Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacol Rev.* vol. 55, no 2, pp. 325-95.
24. Slominski RM, Reiter RJ, Schlabritz-Loutsevitch N, Ostrom RS, Slominski AT. (2012) Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. *Mol Cell Endocrinol.* vol. 351(2), pp.152-66.
25. Stebelová, Katarína, Herichová, Iveta, Zeman, Michal. (2002) Diabetes induces changes in melatonin concentrations in peripheral tissues of rat. *Neuroendocrinology Letters* vol. 28, no 2, pp.159 – 165
26. Yapıslar, H., Hacıosmanoglu, E., Sarioglu, T., Degirmencioglu S., Sogut I., Poteser M., Ekmekcioglu C. (2022) AntiInflammatory Effects of Melatonin in Rats with Induced Type 2 Diabetes Mellitus. *Life.* vol. 12, pp.574.

## МАЗМҰНЫ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

<b>1-бөлім</b> <b>Ботаника</b>	<b>Section 1</b> <b>Botany</b>	<b>Раздел 1</b> <b>Ботаника</b>
<i>R. Iskenderova, R. Yelnazarkyzy, D. Kazkeyev, B. Raymbekova, A. Ryskaliyeva</i>		
Phytosanitary monitoring of cotton pests ..... 4		
<i>R.E. Kaparbay, A.D. Tolenova, D.M. Almabek, A.A. Ivashchenko, K.T. Abidkulova, B.B. Arynov</i>		
Monitoring of rare floristic elements of the Northern Tien-Shan mountain forest..... 11		
<i>B.K. Mursaliyeva, A.T. Alгазы, Д.Н. Сатыбалдиева, Т.М. Муханов</i>		
Культура in vitro адвентивных корней Туркестанского мыльного корня <i>Allochrusa gypsophioides</i> (regel) schischk ..... 25		
<i>B. Tleuberlina, A.T. Maturova, B.B. Osmonali, G. K. Omarova</i>		
Distribution and geobotanical studies of the medicinal plant <i>Capparis herbacea</i> willd. In the southern regions of Kazakhstan..... 40		
<b>2-бөлім</b> <b>Биотехнология</b>	<b>Section 2</b> <b>Biotechnology</b>	<b>Раздел 2</b> <b>Биотехнология</b>
<i>M.H. Kozhakhmetova, N.Sh. Akimbekov, K.T. Tastambek</i>		
Characterization of functional and microbial profile of whey recovered from cottage cheese and cheese manufacturing..... 57		
<i>B.T. Байқара, М.А. Садуакасова, Ж.С. Жусупбеков, К.С. Бегасыл, А.А. Султанов</i>		
Құс тұмауы, қтв-ның таралуы және тараған ошақтан жинақталған үлгілерді тест-жүйе құрастыруда пайдалану ..... 69		
<b>3-бөлім</b> <b>Молекулалық биология және генетика</b>	<b>Section 3</b> <b>Molecular biology and genetics</b>	<b>Раздел 3</b> <b>Молекулярная биология и генетика</b>
<i>К.Ж. Досыбаев, Д.А. Сыдыков, Т. Қапас, З.С. Оразымбетова, Ж.Е. Кожанов, Ш.Н. Ахметсадықова, Г.Т. Бактыбаев, У.А. Ахметов, А.Н. Байсапаров, Д.М. Нурмаханбетов, Ж.С. Турмухаметов</i>		
Қызылорда және Қарағанды аймақтарында өсірілетін жылқы популяцияларының генетикалық полиморфизмін бағалау ..... 80		
<i>A.B. Жигайлов, Е.О. Остапчук, Ю.В. Перфильева, Э.Р. Мальцева, Ж.А. Бердыгулова, Д.А. Найзабаева, А.С. Низкородова, А.О. Бисенбай, А.С. Черушева, Г.А. Исмагулова, А.М. Дмитровский, Ю.А. Скиба</i>		
Клонирование открытых рамок считывания SARS-CoV-2, их экспрессия в клетках <i>Escherichia coli</i> и выделение рекомбинантных белков SARS-S-6His, SARS-S1-6His, SARS-N-6His, SARS-M-6His и SARS-E-6His..... 90		
<i>C.A. Nadirova, Yu.A. Sinyavskiy, R.S. Utegalieva, E.Zh. Gabdullina, S.N. Abdreshov</i>		
Molecular genetic identification of bacteria isolated from goat milk..... 101		
<b>4-бөлім</b> <b>Зоология</b>	<b>Section 4</b> <b>Zoology</b>	<b>Раздел 4</b> <b>Зоология</b>
<i>P.T. Бараков</i>		
Морфологические характеристики сазана ( <i>Surginus carpio</i> ) из западной части озера Балкаш в условиях современной антропогенной нагрузки..... 112		
<i>Кегенова Г.Б.</i>		
Сообщества рыб в малых водоемах бассейна р.Иле ..... 121		
<i>A.M. Kenzhegaliev, P.A. Esenbekova, A.C. Myrkasymova, M.B. Zhaksybaev</i>		
Arboreal hemiptera (heteroptera) of mountain ecosystems of South-Eastern Kazakhstan ..... 134		

---

**5-бөлім**  
**Адам және жануарлар**  
**физиологиясы**

**Section 5**  
**Human and animals**  
**physiology**

**Раздел 5**  
**Физиология человека**  
**и животных**

*Alibekova S.S., Aliev I.S., Aliyev Saadat Abdulla oghu*

Sportive stress and its impact on the immune state of athletes dealing with freestyle wrestling ..... 144

*A.M. Жумакаева, O.B. Маслова, С.М. Адекенов*

Влияние 1(10) $\beta$ -эпокси-5,7 $\alpha$ ,6 $\beta$ (H)-гвай-3(4),11(13)-диен-6,12-олида на иммунную систему онкобольных..... 154

*A.E. Есенбекова, Н.Т. Аблайханова, А. Дүйсенбек, А.А. Беисова, З.Б. Есимшитова,*

*А.М. Мухитдинов, А.Қ. Төлеубекова, З.М. Кенжегараева, Ж.С. Тилеубаева*

Екінші типті қант диабеті кезіндегі гематологиялық және биохимиялық

қан көрсеткіштеріне мелатониннің әсерін зерттеу ..... 167