

ISSN 1563-0218  
Индекс 75866; 25866

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТИ

# ХАБАРШЫ

Биология сериясы

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

# ВЕСТНИК

Серия биологическая

AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

# EXPERIMENTAL BIOLOGY

№4 (73)

Алматы  
«Қазақ университеті»  
2017



KazNU Science · КазУУ Фылмы · Наука КазНУ

ISSN 1563-0218  
Индекс 75866; 25866

# ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ №4 (73)



25.11.1999 ж. Қазақстан Республикасының Мәдениет, ақпарат және қоғамдық келісім министрлігінде тіркелген

Күнделік №956-Ж.

Журнал жылына 4 рет жарыққа шығады

## ЖАУАПТЫ ХАТШЫ

Оразова С.Б. – б. г. к. (Қазақстан)

## РЕДАКЦИЯ АЛҚАСЫ:

Бисенбаев А.К., б.ғ.д., ҚР ҮҒА корреспондент мүшесі –  
ғылыми редактор (Қазақстан)

Бекманов Б.О., б.ғ.к., доцент – ғылыми редактордың  
орынбасары (Қазақстан)

Тулеуханов С.Т., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Айташева З.Г., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Кистаубаева А.С., б.ғ.к. (Қазақстан)

Иващенко А.Т., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Мухитдинов Н.М., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Нуртазин С.Т., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Шулембаева К.К., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Туруспеков Е.К., б.ғ.к., ассоциацияланған профессор  
(Қазақстан)

Омаров Р.Т., б.ғ.к., доцент (Қазақстан)

Искаков Б.К., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Галиакпаров Н.Н., PhD докторы (Қазақстан)

Сарбасов Д., PhD докторы, профессор (АҚШ)

Абжанов А., PhD докторы, профессор (АҚШ)

Ращакуэ М., PhD докторы, профессор (АҚШ)

Орынбаева З.С., PhD докторы (АҚШ)

Поляк Б., PhD докторы (АҚШ)

Фридман Г., PhD докторы (АҚШ)

Курмашева Р.Т., PhD докторы (АҚШ)

Сапарбаев М., PhD докторы, профессор (Франция)

Ищенко А., PhD докторы (Франция)

Партон С., PhD докторы, профессор (Ұлыбритания)

Даниленко М.П., PhD докторы (Израиль)

Текинай Т., PhD докторы (Түркия)

Лось Д., б.ғ.д., профессор (Ресей)



## Ғылыми басылымдар болімінің басшысы

Гульмира Шаккозова

Телефон: +77017242911

E-mail: Gulmira.Shakkozova@kaznu.kz

## Редакторлары:

Гульмира Бекбердиева, Агила Хасанқызы

## Компьютерде беттеген

Айгүл Алдашева

## Жазылу мен таратуды үйлестіруші

Керімкүл Айдана

Телефон: +7(727)377-34-11

E-mail: Aidana.Kerimkul@kaznu.kz

## ИБ № 11781

Басыға 20.12.2017 жылы көл қойылды.

Пішімі 60x84 1/8. Колемі 12,8 б.т. Офсетті қағаз. Сандық басылыс.

Тапсырыс № 1065. Тарапымы 500 дана. Бағасы келісімді.

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің

«Қазақ университеті» баста үйі.

050040, Алматы қаласы, әл-Фараби даңғылы, 71.

«Қазақ университеті» баста үйінді баспаханасында басылды.

© Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, 2017

1-бөлім  
**БОТАНИКА**

---

Раздел 1  
**БОТАНИКА**

---

Section 1  
**BOTANY**

**Ишаева А.<sup>1</sup>, Чекалин С.<sup>2</sup>, Назарбекова С.<sup>3</sup>, Данилов М.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>студент магистратуры, Казахский национальный университет имени аль-Фараби,  
Казахстан, г. Алматы, e-mail: Ainagul\_379@mail.ru

<sup>2</sup>кандидат биологических наук, Институт ботаники и фитоинтродукции, Казахстан, г. Алматы  
<sup>3</sup>кандидат биологических наук, доцент, Казахский национальный университет имени аль-Фараби,  
Казахстан, г. Алматы, e-mail: Saltanat.Nazarbekova@kaznu.kz

<sup>4</sup>кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории флоры высших растений ,  
Институт ботаники и фитоинтродукции, Казахстан, г. Алматы

## **ВИДЫ РОДА *BERBERIS* L. КАЗАХСТАНА И ИХ ПРИРОДНЫЕ АРЕАЛЫ**

Видовая определенность объектов исследований лежит в основе всех ботанических и экологических исследований, а также природоохранных и природопользовательских мероприятий. Целями исследований были разбор и анализ ареалов произрастания видов барбариса в Казахстане в настоящее время, а также установление современных ареалогических характеристик видов и формулирование задач по развитию исследований рода *Berberis* L. на территории республики. Уточнение видовой специфики барбарисов является обязательным и непременным условием как дальнейшего развития исследований растений этого рода в Казахстане, так и для разработки по ним эффективных природоохранных и природопользовательских мероприятий. Объектами исследований являлись восемь видов барбариса (*Berberis sibirica* Pall., *B. iliensis* M. Pop., *B. sphaero-carpa* Kar. et Kir., *B. oblonga* C. K. Schneid., *B. integrifolia* Bunge, *B. kaschgarica* Rupr., *B. karkaralensis* Kornilova et Potapov, *B. nummularia* Bunge). В работе использовались материалы электронной базы данных гербария РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК (г. Алматы) по роду *Berberis* L., в которых отмечены места и датировки сборов образцов. Данные были дополнены собственными сборами и описаниями видов барбариса сотрудниками лаборатории дендрологии данного института за 2013–2016 годы. Приведены описания природных ареалов видов барбарисов по фундаментальным флористическим и дендрологическим сводкам с учетом современных таксономических представлений. Итогами исследования стали уточнения всех природных ареалов видов барбарисов Казахстана. На сегодняшний день можно с полным основанием говорить о произрастании в Казахстане 6 видов рода *Berberis* L.

**Ключевые слова:** *Berberis* L., природный ареал, флористический район, гербарный фонд, виды барбарисов.

Ishayeva A.<sup>1</sup>, Chekalin S.<sup>2</sup>, Nazarbekova S.<sup>3</sup>, Danilov M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>master-student, Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: Ainagul\_379@mail.ru

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

<sup>3</sup>candidate of biological sciences, associate professor, Al-Farabi Kazakh National University,  
Kazakhstan, Almaty, e-mail: Saltanat.Nazarbekova@kaznu.kz

<sup>4</sup>candidate of biological sciences, leading researcher, Institute of Botany and Phytointroduction, Kazakhstan, Almaty

## **Kazakhstan species of *Berberis* L. and their natural habitats**

The aim of the study is to analyze the habitats of barberry species in Kazakhstan at the present time, as well as to establish modern areological characteristics of species and formulation of tasks for the development of research on the genus *Berberis* L. in the territory of the republic. There are different versions in understanding of species variability *Berberis* L. in Kazakhstan. Up to 60-th of XX century there were 8 species. To the end of 60-th of XX century the number of species reduced to 6 species. Such opinion is the same with modern. But in different books we see different understanding of species. The objects of our investigations were habitats of *Berberis* species in Kazakhstan in fundamental taxonomic books. The

Electronic Data base of Herbarium of Institute of Botany and Phytointroduction was the object of the investigation as well. Our investigation had shown next. There are 6 species of *Berberis* L. on Kazakhstan's territory now. These plants are growing in Kazakhstan in mountains only. Go after specific of species of *Berberis* in Kazakhstan's habitat is divided into three parts – north-east, south-east and south.

**Key words:** *Berberis* L., natural habitat, floristic region, herbarium, species of *Berberis*

Ишаева А.<sup>1</sup>, Чекалин С.<sup>2</sup>, Назарбекова С.<sup>3</sup>, Данилов М.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>магистратура студенті, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті,  
Қазақстан, Алматы к., e-mail: Ainagul\_379@mail.ru

<sup>2</sup>биология ғылымдарының кандидаты, Ботаника және фитоинтродукция институты, Қазақстан, Алматы к.,  
Қазақстан, Алматы к., e-mail: Saltanat.Nazarbekova@kaznu.kz

<sup>3</sup>биология ғылымдарының кандидаты, доцент, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті,  
Қазақстан, Алматы к., e-mail: Saltanat.Nazarbekova@kaznu.kz

<sup>4</sup>биология ғылымдарының кандидаты, жоғары есімдіктер фlorасы лабораториясының жетекші ғылыми  
қызыметкері, Ботаника және фитоинтродукция институты, Қазақстан, Алматы к.

### Қазақстанның *Berberis* L. түрлері мен олардың табиғи ареалдары

Зерттеу объектілерінің түрлілік ерекшелігі барлық ботаникалық және экологиялық зерттеулердің, сондай-ақ табиғаттың қорғау және табиғатты пайдалану шараларының негізі болып табылады. Зерттеудің мақсаты қазіргі уақытта қазақстандық бөріқарақат түрлерінің мекендейтін жерлерін талдап және сипаттама беріп, *Berberis* L. тегінің зерттеу міндеттерін қалыптастыру болды. Сондықтан, бөріқарақаттың түрлілік ерекшелігін нактылау Қазақстандағы осы тектің түрлерін зерттеу шараларын өрі қарай дамыту үшін және табиғатты тиімді қолдану, тиімді қорғау шараларын өзірлеу үшін аса қажетті шарт болып табылады. Зерттеу объектілері ретінде бөріқарақаттың 8 түрі алынды (*Berberis sibirica* Pall., *B. iliensis* M. Pop., *B. sphærocarpa* Kar. et Kir., *B. oblonga* C. K. Schneid., *B. integrerrima* Bunge, *B. kaschgarica* Rupr., *B. karkaralensis* Kornilova et Potapov, *B. nummularia* Bunge). Жұмысымызда ҚР БФМ «Ботаника және фитоинтродукция институтының» *Berberis* L түрлерінің жинаған орны мен күні белгіленген гербарийдің электрондық мәліметтер базасы пайдаланылды. Бұл мәліметтер 2013-2016 жылдары осы институттың дендрология зертханасының қызыметкерлерінің жинақтарымен және бөріқарақаттың түрлерінің сипаттамасымен толықтырылды. Мақалада қазіргі заманғы таксономиялық өкілдіктерді ескере отырып, іргелі флористикалық және дендрологиялық есептерге сәйкес бөріқарақаттың табиғи түрлерінің сипаттамалары берілген. Зерттеудің нәтижесі Қазақстандағы бөріқарақат түрлерінің барлық табиғи ареалдарын нақтылау болды. Бүгінгі таңда Қазақстанда *Berberis* L. тегінің 6 түрінің өсуі туралы толық, негізде айтуда болады.

**Түйін сөздер:** *Berberis* L., табиғи ареал, флористикалық аудан, гербарлық фонд, барбарис түрлері.

## Введение

По современным таксономическим представлениям на территории Казахстана предполагается произрастание 8 видов рода *Berberis* L (Черепанов, 1981: 510; Черепанов, 1995: 992; Абдулина, 1999: 187). Однако по различным флористическим и дендрологическим литературным источникам не однозначны не только характеристики природных ареалов, но и видовой состав барбарисов Казахстана (Флора СССР 1937: 792; Флора Казахстана: 548; Определитель растений Средней Азии. Критический конспект флоры 1972: 268; Соколов 1980: 144). Речь идет не о том, что источники, опубликованные до описания вида, не содержат его характеристик, а о том, что в различных источниках вновь описанные виды предполагают различный характер близкородственных связей.

Сходная ситуация с таксономией видов *Berberis* L. имеет место в Патагонии. Здесь изначаль-

но выделяли 16 видов (Orsi 1984: 325; Bottini 2002: 133) а затем 13 (Landrum 1999: 793). Однако предложенная новая классификация барбарисов Чили не согласуется с результатами биохимических и молекулярно-генетических исследований (Bottini 1999: 514; Bottini 2000: 565; Bottini 2007: 321). За основу разрешения противоречий принята разработка по индийским барбарисам (Roy 2010: 3674) в соответствии с которой проводятся дальнейшие исследования (Arena 2011: 117; Arena 2013: 1323; Arena 2014: 5; Rodoni 2014: 233; Suarez 2015: 35; Giordani 2016: 14).

Природный ареал вида динамичен (Alberch 1982: 313; Грант 1984: 528). Вид «зарождается» на локальном территориальном участке. В ходе дальнейшего своего развития он расселяется по новым территориям, расширяя свой природный ареал. Когда вид подходит к «эволюционному угасанию», его природный ареал сокращается. Тем самым вид динамичен как в пространствах природного ареала, так и во времени. Это осо-

бенно важно учитывать для видов, пришедших к «эволюционному угасанию» естественным или стимулированным деятельностью человека путем. Два вида барбариса (*Berberis karkaralensis* Kornilova et Potapov, *Berberis iliensis* M.Pop.) включены в Красную книгу Казахстана, а потому понимание их «динамичности» имеет перво-приоритетное значение, как для осуществления природоохранных действий, так и для понимания эволюционной «перспективности» вида (Красная книга Казахской ССР 1981: 263) (Красная книга Казахстана 2014: 452). Динамичность природных ареалов видов растений обуславливается не только их эволюционным состоянием, но и глобальными изменениями температурного режима поверхности Земли (Чекалин 2012: 188). Сейчас, в период глобального потепления, происходят коренные изменения экологических условий в бывших ранее «традиционными» местах обитания видов. Если такие изменения превышают грань экологической пластичности вида, то вид «уходит» из данной части своего природного ареала. Вместе с тем на территориях, ранее не освоенных видом, могут сложиться благоприятные экологические условия для заселения вида.

Целью наших исследований был анализ ареалов произрастания того или иного вида барбариса в Казахстане в настоящее время, уточнение современных ареалогических характеристик видов и формулирование задач по развитию исследований рода *Berberis* L. на территории республики.

## Материалы и методы исследований

Объектами исследований являлись описания природных ареалов видов барбарисов по фундаментальным флористическим и дендрологическим сводкам с учетом современных таксономических представлений (Черепанов 1981: 510; Черепанов 1995: 992; Абдулина 1999: 187; Флора СССР 1937: 792; Флора Казахстана 548; Определитель растений Средней Азии 1972: 268; Соколов 1980: 144). В работе использовались материалы электронной базы данных гербария РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК по роду *Berberis* L., в которых отмечены места и датировки сборов образцов, которые были дополнены собственными сборами и описаниями видов барбариса сотрудниками лаборатории дендрологии этого Института 2013-2016 годов.

В исследованиях был впервые использован географически-временной подход систематизации данных. Для монографических описаний такой подход сводился к единству устанавливаемого природного ареала и времени публикации описания. По гербарным материалам географически-временной подход включал систему географической идентификации мест сборов образцов (горные системы – горные хребты) и времени их сборов. Географическая идентификация мест произрастания барбарисов в Казахстане по горным системам обусловлена тем, что в нашей Республике видам этого рода свойственны только горные места обитания.



Рисунок 1 – Ущелье Каракыстак, Сарыайгыр, Сайрамсу (слева на право). Северный макросклон Киргизского Алатау

Даже Балхаш-Алакульский флористический район, в котором произрастает барбарис илийский, представляет собой плоскогорье с минимальными высотными отметками 250-500 м над уровнем моря. При географо-временном обобщении данных регионы произрастания вида в Казахстане «ранжировались» от наиболее северных («холодных») к южным («теплым»).

Тем самым по каждому виду формировался экологический ряд мест произрастания с заданно изменяющимися температурными характеристиками. Фиксация времени сборов материалов позволяет анализировать как годы нахождения вида в данном месте обитания, так и полноту или недостаточность мониторинга за природным ареалом вида в Казахстане.



Куст барбариса на берегу р. Или

Побег с соцветиями

Плодоношение

Рисунок 2 – Барбарис илийский, Балхаш-Алакульский флористический район

### Результаты исследования и их обсуждение

Данные о природных ареалах *Berberis kaschgarica* Rupr., *B. karkaralensis* Kornilova et Potapov, *B. sibirica* Pall. *B. sphaerocarpa* Kar. et Kir., *B. oblonga* (Regel) C.K. Schneid., *B. integrifolia* Bunge, *B. nummularia* Bunge, *B. iliensis* M. Pop. по флористическим и дендрологическим сводкам сведены в таблицу 1. В таблице 2 приведены материалы электронной базы данных гербария РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК по роду *Berberis* L., дополненные сборами 2013–2016 годов лаборатории дендрологии Института. Видовой состав тот же, что и в таблице 1 за исключением *Berberis kaschgarica* Rupr. данные таблицы 2 имеют датировки от 1840 (A.G. Shrenk) до 2016 года.

*Berberis kaschgarica* Rupr. вид описан из Китайского Тянь-Шаня (Флора СССР 1937: 792). В 1961 году включён во «Флору Казахстана» как возможно произрастающий в Республике на Кетмене и в Терской Алатау (из-за соседства с Западным Китаем) (Флора Казахстана, 1961: 548). Данные накопленные к 70-м годам прошлого столетия расширили природный ареал вида Памиром (Определитель растений Средней Азии. Критический конспект флоры, 1972: 268). Полное детальное описание природного ареала вида приведено С.Я. Соколовым, О.А. Связовой и В.А. Кубли (Соколов 1980: 144). Этот природный ареал не охватывает территории Казахстана. Вид расселен в более теплых территориях Тянь-Шаня и Памира. Отсутствие находок вида в Казахстане обусловило постановку знака вопроса перед ним в списке сосудистых растений Казахстана С.А. Абдулиной (Абдулина 1999: 187). Развивающееся в настоящее время глобальное потепление климата Земли может обусловить изменения экологических условий в Кетмене и Терской Алатау, после которых прогноз «Флоры Казахстана» реализуется (Чекалин 2012: 188). На

сегодняшний день: барбарис кашгарский отсутствует в Казахстане, но потенциально может заселиться на территории Республики с развитием глобального потепления. Требуется мониторинг заселения этого вида на территории Казахстана

*Berberis karkaralensis* Kornilova et Potapov. Узкий эндемик гор Кент Каркаралинского флористического района Казахстана (Казахский мелкосопочник). Первый гербарный сбор вида осуществлен в 1952 году (коллектор неизвестен). В 1953 году сбор вида повторен инициалы Потаповым, который и осуществил описание. Наличие вида в природном месте обитания подтверждено сборами гербария А.Н. Куприянова (1977 год) и М.С. Байтепова (1985 год). В 90-х годах прошлого века Институт фитохимии МОН РК неоднократно предпринимал попытки обнаружения вида в его природном месте обитания (личное сообщение Ж.Б. Нащенова). Экспедиционными обследованиями вид не был обнаружен. В соответствии с выше изложенным, вид должен быть охарактеризован как произраставший в Казахстане.

Наличие или отсутствие барбариса каркаралинского может быть установлено специальными экспедиционными исследованиями.

*Berberis sibirica* Pall. Произрастание вида в Казахстане подтверждается данными с 1841 года (A.J.Schrenk) по настоящее время. В соответствии с С.Я. Соколовым, О.А. Связовой и В.А. Кубли природный ареал вида охватывает Алтай, Восточный Казахский мелкосопочник, Зайсанскую котловину, Саур, Тарбагатай, Джунгарский Алатау, Монголию (Соколов 1980: 144). Материалы электронной базы данных гербария РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» подтверждают наличие вида в Казахском Алтае, в Казахском мелкосопочнике, на хребтах Монрак, Саур и Тарбагатай (Таблица 2).. В этой базе данных отсутствуют материалы по Зайсанской котловине. Есть предположение о наличии та-

ких сведений в гербарии РГП «Алтайский ботанический сад» КН МОН РК. Мы надеемся на совместное исследование этих двух Казахстанских научных учреждений, целью которого является проведение исследований по природному ареалу барбариса сибирского а так же осуществление мониторинга природного ареала вида в Казахстанском Алтае, в Казахском мелкосопочнике, на хребтах Монрак и Саур. Проблемным вопросом является охват природным ареалом вида Джунгарского Алатау. В 1937 году отмечалось, что по Джунгарскому Алатау имеется только одно место нахождения вида (Флора СССР 1937: 792). По материалам электронной базы данных гербария это сборы С.Ю. Липшиц 1928 года на горе Урта-Тау на северной оконечности Джунгарского Алатау. Возможно, что в связи с глобальным потеплением самая южная точка произрастания барбариса сибирского сместилась с Джунгарского Алатау на Тарбагатай. Это предположение подлежит научной верификации.

*Berberis sphaerocarpa* Kar. et Kir. Произрастание вида в Казахстане подтверждается данными с 1841 (A.J.Schrenk) по 2016 год. С.Я.Соколов, О.А. Связова и В.А. Кубли дают следующие описание природного ареала вида в Казахстане: Юго-Западный Алтай (Нарынский хребет – единичные местонахождения), Зайсанская котловина, Саур, Тарбагатай, Джунгарский Алатау (Соколов 1980: 144). В средней Азии: Тянь-Шань, Западный Китай. Гербарием «Института ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК подтверждается наличие вида на хребтах Саур, Тарбагатай, в Джунгарском Алатау. Кроме того по этим материалам вид расселен на хребтах Монрак, Кетмень, в Терской, Кунгей, Заилийском и Киргизском Алатау, в Чу-Илийских горах и в горах Каржантау Западного Тянь-Шаня. Северо-Восточная часть природного ареала вида (Алтай, Зайсанская котловина, Монрак, Саур, Тарбагатай) должна быть дополнительно исследована для подтверждения современных данных.

*Berberis oblonga* (Regel) C.K. Schneid. Наличие вида на территории Казахстана подтверждается материалами с 1933 по 2016 год. Если зарубежный природный ареал вида изначально трактовался широко (Западный Тянь-Шань, Памиро-Алай, Центральная Азия), то по более поздним представлениям он ограничивается лишь Западным Тянь-Шанем (Флора Казахстана 548) (Соколов 1980: 144). В Казахстане вид локализован как в Западном Тянь-Шане (Таласский Алатау, Карагантау, Карагантау, хребет Огам), так и в Северном Тянь-Шане (Киргизский Алатау)

(Таблица 2). Все гербарные сборы по Киргизскому Алатау относятся к 60-м годам прошлого столетия. Такая временная однозначность материалов может определяться спецификой таксономических взглядов, согласно которой барбарис круглоплодный определялся как барбарис продолговатый. Ботаники Узбекистана согласны с наличием барбариса продолговатого в Киргизском Алатау (Определитель растений средней Азии 1972: 268).

*Berberis integerrima* Bunge С.Я.Соколов, О.А. Связова и В.А. Кубли описывают природный ареал этого вида следующим образом: Средняя Азия-Западный Тянь-Шань, Памиро-Алай, Копетдаг, Балханы, Бадхыз, Иран, Афганистан, Пакистан, Индия (Кашмир), Западный Китай (Соколов 1980: 144). Из этого перечня территорий к Казахстану относится лишь Западный Тянь-Шань. Наличие вида в Казахстанском Западном Тянь-Шане подтверждается гербарными материалами Института ботаники (Таблица 2). Вместе с тем согласно этим материалам 1969-1981 годов барбарис цельнокрайний произрастает и в Северном Тянь-Шане (Киргизское Алатау). Дают ли эти материалы повод для расширения природного ареала вида, или являются специфической таксономической интерпретацией, должны показать специальные исследования. Узбекские ботаники согласны с наличием барбариса цельнокрайнего в Киргизском Алатау (Определитель растений средней Азии 1972: 268).

*Berberis nummularia* Bunge. Природный ареал вида включает следующие территории: Западный Тянь-Шань, Памиро-Алай, Афганистан (Соколов 1980: 144). В Казахстане произрастает только в Западном Тянь-Шане (Таласский Алатау, хребет Огам). Обращают на себя внимание как малочисленность (всего два сбора), так их датировка (только 60-ми годами XX века.) Распространение вида в Казахстане требует более детального исследования.

*Berberis iliensis* M. Pop. Вид описан М.Г. Поповым в 1936 году по гербарному материалу Дингильштата 1935 года у станции Или Турсыбской железной дороги. Этот гербарный сбор был далеко не первым для этого вида. В 1843 году в песках Сары-Ишик-Атрау А.Г. Шренком был собран гербарный образец, который теперь относится к барбарису илийскому. Первоначально этот образец был отнесен к *Berberis nummularia* var. *Schrenkiana* C.K. Schneid (1905), позже к *Berberis integerrima* Bunge (Флора СССР 1937:792). В.С. Корнилова рассматривала *Berberis nummularia* Bunge как наиболее близкий к *Berberis iliensis*.

*iensis* M. Pop. вид (Флора Казахстана 1961:548). Узбекская школа ботаников до настоящего времени рассматривает барбарис илийский как барбарис монетный (Определитель растений Средней Азии 1972: 268) (Бердиев 2012: 61). Барбарис илийский включён в оба издания Красной книги Казахстана как вид с сокращающимся ареалом (Красная книга Казахской ССР 1981: 263) (Красная книга Казахстана 2014: 452). *Berberis iliensis* M. Pop. является самым исследуемым видом рода в Казахстане в начале XXI века (Чекалин С.В 2011: 235) (Джолдыбаева 2012: 59) (Смекенов 2012: 49) (Мухитдинов 2013: 322) (Чекалин 2013:140) (Чекалин 2014а: 131) (Чекалин 2014б 283) (Pozharskiy 2015: 15) (Sitpayeva 2016а: 67) (Sitpayeva 2016б: 120) (Chekalin 2016: 76). Показано, что резкое сокращение природ-

ного ареала барбариса илийского к началу 80-х годов XX века было вызвано строительством водохранилищ на реках Или, Чилик, Чу (Чекалин 2014: 131). Эти водохранилища затопили значительное число природных популяций вида, обусловил тем самым их гибель. И сегодня крайне высока угроза дальнейшего сокращения природного ареала барбариса илийского. Резкое увеличение забора воды из реки Или в Китае уже привело к значительному понижению уровня воды в реке Или и в Капчагайском водохранилище. В этой ситуации самыми уязвимыми являются популяции в нижнем течении реки Или, водоснабжение которых осуществляется только за счет этой реки. Акжарская, Ақдалинская, и Баканаская популяции барбариса илийского находятся под острой угрозой исчезновения.

Таблица 1 – Виды барбариса Казахстана и их природные ареалы по различным литературным источникам

| Виды<br>(Черепанов 1981а:<br>510) (Черепанов<br>1995б: 992) | Литературные источники  |  |   |   |
|---|---|--|---|---|
|   | (Флора СССР<br>1937:792)  | (Флора Казахстана<br>1961:548)   | (Определитель<br>растений средней<br>Азии 1972: 268)  | (Соколов 1980: 144)   |
| 1   | 2   | 3  | 4   | 5   |
| <i>Berberis kaschgarica</i><br>Rupr.                        | Тянь-Шань.<br>Джунгария и<br>Кашгария. Описан<br>из долины Суукты в<br>Китайском Тянь-Шане<br>с 50-60 км к северу от<br>Кашгара.                            | Может найтись во<br>флористическом районе<br>Кетмень-Терской Алатау.<br>Общее распространение:<br>Китайский Тянь-Шань,<br>Джунгария, Кашгария. | Тянь-Шань<br>(центральный)<br>Памиро-Алай (Памир)   | Центральный Тянь-<br>Шань (басс. р.<br>Сарыджаз ущелье<br>р. Бедель), Вост.<br>Памиро-Алай (Ошская<br>область, Иркештам),<br>Восточный Памир<br>(уроц. Джамантал<br>и массив Акташ),<br>Западный Китай. |
| <i>Berberis karkaralensis</i><br>Kornilova et Potapov       | -   | Каркаралинский<br>флористический район,<br>горы Кентай описан с<br>горы Кент.  | -   | Казахстан-<br>Каркаралинский<br>район (горы Кент-<br>единственное место<br>нахождения)  |
| <i>Berberis sibirica</i> Pall.                              | Зап. Сибирь-Алтай,<br>Вост. Сибирь-Саяны,<br>Даурия, Тарбагатай,<br>Джунгарский<br>Алатау (только одно<br>местонахождение),<br>Монголия. Описан с<br>Алтая. | Алтай, Восточный<br>Казахстанский<br>мелкосопочник, Саур,<br>Тарбагатай, Джунгарский<br>Алатау Карагинск.                                      | Зайсанская котловина,<br>Восточный<br>Казахстанский<br>мелкосопочник,<br>Саур, Тарбагатай,<br>Джунгарский Алатау. | Западная Сибирь-<br>Алтай, юг Восточной<br>Сибири, Казахский<br>мелкосопочник<br>(Восточный),<br>Зайсанская котловина,<br>Саур, Тарбагатай,<br>Джунгарский Алатау,<br>Монголия.                         |

Продолжение таблицы 1

| Виды<br>(Черепанов 1981а:<br>510) (Черепанов<br>1995б: 992) | Литературные источники   |   |   |   |
|---|--|---|---|---|
|   | (Флора СССР<br>1937:792)   | (Флора Казахстана<br>1961:548)  | (Определитель<br>растений средней<br>Азии 1972: 268)  | (Соколов 1980: 144)   |
| 1   | 2  | 3   | 4   | 5   |
| <i>Berberis sphaerocarpa</i> Kar.<br>et Kir.                | ( <i>B. heteropoda</i> Schrenk)<br>Тарбагатай, Тянь-<br>Шань, Монголия<br>(южный Алтай),<br>Западный Китай.<br>описан из гор<br>Джунгарского Алатау. | ( <i>B. heteropoda</i> Schrenk,<br><i>B. bykovianus</i> N. Pavl.)<br>Алтай, Зайсанская<br>котловина, Тарбагатай,<br>Джунгарский Алатау,<br>Заилийский и Кунгей<br>Алатау, Кетмень и<br>Терской Алатау, Чу-<br>Или, Киргизский<br>Алатау, Фергана, Алай,<br>Монгольский Алтай,<br>Западный Китай.  | ( <i>B. heteropoda</i> Schrenk)<br>Зайсанская котловина,<br>Саур, Тарбагатай,<br>Джунгарский Алатау,<br>Тянь-Шань.                    | В Казахстане:<br>Юго-Западный<br>Алтай (Нарынский<br>хребет единичные<br>местонахождения),<br>Зайсанская котловина,<br>Саур, Тарбагатай,<br>Джунгарский Алатау;<br>В Средней Азии:<br>Тянь-Шань; Западный<br>Китай. |
| <i>Berberis oblonga</i><br>(Regel) C.K.<br>Schneid.         | Тянь-Шань, Памиро-<br>Алай Иран, Кашгария.<br>Описан с Чаткала   | Киргизский Алатау,<br>Каратай, Западный Тянь-<br>Шань, Памиро-Алай,<br>Центральная Азия.  | Тянь-Шань (исключая<br>Заилийский Алатау и<br>Чу-Илийские горы),<br>Памиро-Алай.  | Средняя Азия:<br>Западный Тянь-Шань.  |
| <i>Berberis integrifolia</i><br>Bunge                       | Джунгарский Алатау<br>[?], Тянь-Шань,<br>Памиро-Алай. Описан<br>с Зеравшана.   | Западный Тянь-Шань,<br>Памиро-Алай, Иран,<br>Афганистан, Западный<br>Китай.   | Тянь-Шань (исключая<br>Заилийский Алатау и<br>Чу-Илийские горы),<br>Памиро-Алай.  | Средняя Азия:<br>западный Тянь-<br>Шань, Памиро-<br>Алай, Копетдаг,<br>Балханы, Бадхыз.<br>Иран, Афганистан,<br>Пакистан, Индия,<br>(Кашмир), Западный<br>Китай.  |
| <i>Berberis nummularia</i><br>Bunge                         | Тянь-Шань, Памиро-<br>Алай, Иран. Описан с<br>реки Ягноба  | Западный Тянь-Шань,<br>Памиро-Алай, Иран  | Тянь-Шань, Памиро-<br>Алай (исключая<br>Восточный Памир),<br>Прибалхашские<br>пустыни (долины реки<br>Или), Джунгарский<br>Алатау [?] | Западный Тянь-<br>Шань Памиро-Алай,<br>Афганистан.  |
| <i>Berberis iliensis</i> M.<br>Pop.                         | -  | <i>Berberis iliensis</i> M. Pop.<br>Ind. Sem. Hort. Bot.<br>Almatensis Acad. Sa. №<br>3 (1936) = <i>B. nummularia</i><br>var <i>Schrenkiana</i> C.K.<br>Schn. (1905) Вид<br>близкий к <i>nummularia</i> ,<br>отличающийся более<br>узкими листьями,<br>широкими соцветиями,<br>длинными цветоножками,<br>короткими<br>прицветниками и формой<br>ягод).<br>Бассейн реки Или,<br>Джунгарский Алатау,<br>Кетмень-Терской Алатау.<br>Описан с реки Или. | -   | Долины рек Или,<br>Чу, Хоргос, Усек,<br>Борохудзир,<br>Заилийский Алатау,<br>Кетмень, Западный<br>Китай.  |

**Таблица 2** – Материалы электронной базы данных гербария РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК по роду *Berberis* L., дополненные сборами 2013-2016 годов лаборатории дендрологии Института

| Виды  | Горные системы и (или) флористические районы | Горные хребты или макропривязки сборов | Места сборов                        | Годы осуществления сборов |  |
|---|--|--|-------------------------------------|---------------------------|--|
| 1   | 2  | 3                                      | 4                                   | 5                         |  |
| <i>Berberis sibirica</i> Pall.                        | Казахстанский Алтай                          | Ивановский хр.                         | Окрестности Ридера                  | 1950                      |  |
|   |  |  | Г. Три брата                        | 1937                      |  |
|   |  |  | Г. Толуха                           | 1947                      |  |
|   |  | Ущ. Сакмариха                          |                                     | 1947                      |  |
|   |  | Колбинский хр.                         | Шибандыколь                         | 1956                      |  |
|   |  | Нарымский хр.                          | Перевал Барлыбай<br>Аргаты-Урылы    | 1986<br>1968              |  |
| <i>Berberis sibirica</i> Pall.                        | Казахстанский Алтай                          | Курчумский хр.                         | Маркаколь                           | 1968                      |  |
|   |  |  | Ущ. Ак-Чоки                         | 1948                      |  |
|   |  |  | Азутау                              | 1980                      |  |
|   |  |  | С. Сервенок                         | 1987                      |  |
|   |  |  | Сайрымсакты                         | 1988                      |  |
|   | Казахский мелкосопочник                      | Восточная часть                        | Чингиз-Тау                          |                           |  |
|   |  |  | Ульген-Карасук                      | 1950                      |  |
|   |  |  | Горы Кули                           | 1958                      |  |
|   | Саяп-Тарбагатай                              |  | Северное                            | 1984                      |  |
|   |  |  | Прибалхашье, Кзыл-Рай               | 1934                      |  |
|   | Каркаралы                                    | Сандуктае                              | 1841 (Schrenk)                      |                           |  |
|   |  | Бахты                                  | 1843 (Schrenk)                      |                           |  |
|   | Западная часть                               | Южнее поселка                          |                                     |                           |  |
|   |  | Жанааул                                | 1954                                |                           |  |
|   |  | Талдинский р-он,<br>Ущ. Сарметкы       | 1934                                |                           |  |
| <i>Berberis sibirica</i> Pall.                        | Саяп-Тарбагатай                              | Монрак                                 | Чорбак                              | 1966                      |  |
|   |  |  | Чилисты                             | 1972                      |  |
|   |  |  | Саганды-Булак                       | 1972                      |  |
|   |  |  | Катон-Чилик                         | 1981                      |  |
|   |  |  | Ущ. Кусты                           | 1984                      |  |
|   | Саяп-Тарбагатай                              | Саяп                                   | Южнее перевала<br>«Алтай»           | 1948, 1967                |  |
|   |  |  | Ущ. Обалы                           | 1956, 1972                |  |
| <i>Berberis karkaralensis</i><br>Kornilova et Potapov | Саяп-Тарбагатай                              | Тарбагатай                             | Северный макросклон,<br>Кызыл-Тас   | 1950                      |  |
|   |  |  | Северный макросклон,<br>ущ. Читасты | 1955                      |  |
|   | Джунгарский Алатау                           | Северная оконечность                   | Северный макросклон<br>ущ. Акжал    | 2015                      |  |
| <i>Berberis karkaralensis</i><br>Kornilova et Potapov | Казахстанский мелкосопочник                  | Каркаралы                              | Урочище, на подъеме                 | 1928                      |  |
|   |  |  | горы Урта-Tay                       |                           |  |
|   |  |  | Горы Кент                           | 1952, 1953, 1977, 1983    |  |

Продолжение таблицы 1

| Виды                                       | Горные системы и (или) флористические районы | Горные хребты или макропривязки сборов | Места сборов  | Годы осуществления сборов  |
|--|--|--|---|--|
| 1  | 2  | 3                                      | 4   | 5  |
| <i>Berberis shaerocarpa</i><br>Kar.et Kir. | Саяп-Тарбагатай                              | Монрак<br><br>Саяп                     | Западная оконечность  | 1966   |
|  |  |  | Сарыбулак   | 1950   |
|  |  |  | Майгат  | 1967   |
|  |  |  | Акбулак   | 1969   |
|  |  |  | Теректы   | 1969   |
|  |  |  | Кандырык  | 1972   |
|  |  | Тарбагатай                             | -<br>Южный макросклон,<br>с. Подгорное<br>Кусак<br>Читпасты   | 1841 (A.J. Schrenk)<br>1953<br>1955<br>1955  |
| <i>Berberis shaerocarpa</i><br>Kar.et Kir. | Джунгарский Алатау                           | Северная часть                         | Биже  | 1840 (A.J. Schrenk)  |
|  |  |  | P. Токты<br>Малая Теректы<br>Лепсинск, Бельтерек<br>Междур Саркандом и<br>Лепсинском<br>Бельганин<br>Р. Теректы   | 1928<br>1928<br>1928<br>1934<br>1954<br>1960   |
|  |  |  | Центральная часть   | P. Коксу<br>1948,1960  |
|  |  |  | Кола-Узек<br>Баскан<br>Карагайлы<br>Кендырсахан<br>Перевал Алтын-Емель<br>Кутурхан<br>Горы Улкентая:<br>Тулкили<br>Талсай<br>Коянды<br>Сред. течение реки<br>Усек | 1930<br>1959<br>1960<br>1960<br>1967, 2014<br>1969<br>1971,2014<br>2014<br>2014<br>2014                              |
|  |  |  | Хребет Кетмень  | Карасаз<br>Кумирчи<br>Пияздык<br>Темирлик<br>Большой Киргизсай<br>Кызылбулак<br>Кулуктау<br>Большой Мураб<br>Кольжат |
|  |  | Северный макросклон                    | Северный макросклон   | Большой Киргизсай<br>Кызылбулак<br>Кулуктау<br>Большой Мураб<br>Кольжат  |
|  |  |  | Северный макросклон   | Большой Киргизсай<br>Кызылбулак<br>Кулуктау<br>Большой Мураб<br>Кольжат  |
|  |  |  | Северный макросклон   | Большой Киргизсай<br>Кызылбулак<br>Кулуктау<br>Большой Мураб<br>Кольжат  |
|  |  |  | Северный макросклон   | Большой Киргизсай<br>Кызылбулак<br>Кулуктау<br>Большой Мураб<br>Кольжат  |
|  |  |  | Северный макросклон   | Большой Киргизсай<br>Кызылбулак<br>Кулуктау<br>Большой Мураб<br>Кольжат  |

## Продолжение таблицы I

| Виды                                       | Горные системы и (или) флористические районы | Горные хребты или макропривязки сборов | Места сборов               | Годы осуществления сборов |
|--|--|--|----------------------------|---------------------------|
| 1  | 2  | 3                                      | 4                          | 5                         |
| <i>Berberis shaerocarpa</i><br>Kar.et Kir. | Центральный Тянь-Шань                        | Терской Алатау                         | Баянкол                    | 1962                      |
|  |  |  | Нарынкол                   | 1969                      |
|  |  |  | Карасай                    | 1982                      |
|  | Северный Тянь-Шань                           | Кунгей Алатау                          | Карабула                   | 1937, 1952, 1955          |
|  |  |  | Кайынды                    | 1953                      |
|  |  |  | Карабулак                  | 1955, 1964                |
|  |  |  | Tay-Чилик                  | 1967                      |
|  |  |  | Курмекты                   | 1964                      |
|  | Залийский Алатау                             |  | Малое Алматинское ущелье   | 1934, 1936, 1937, 1945    |
|  |  |  | Большое Алматинское ущелье | 1935                      |
|  |  |  | Турайгыр                   | 1966                      |
|  |  |  | Ремизовка                  | 1957                      |
|  |  |  | Тургенское ущелье          | 1986, 1987, 2013          |
|  |  |  | Сасусак                    | 1968                      |
|  |  |  | Кастек                     | 1936                      |
|  |  |  | Чип-Тургень                | 1966                      |
|  |  |  | Ботан                      | 1937                      |
|  |  |  | Сюгаты                     | 1953                      |
| <i>Berberis iliensis</i> M. Pop.           | Чу-Илийские горы                             |  | Талгар                     | 1976, 1984, 2013          |
|  |  |  | Котур-Булак                | 1982, 2013                |
|  |  |  | Чокпар                     | 1948                      |
|  |  |  | Мерке                      | 1964, 1983                |
|  |  |  | Карабалта                  | 1974                      |
|  |  |  | Каракыстак                 | 1983, 2016                |
|  |  |  | Чегенды                    | 1984                      |
|  |  |  | Мулалы                     | 1986, 1990                |
|  | Киргизский Алатау                            |  | Чепсу                      | 1983                      |
|  |  |  | Джарлы-Каинды              | 1986                      |
|  | Западный Тянь-Шань                           | Каржантау                              | Каратал                    | 2016                      |
|  |  |  | Каскасү                    | 1964                      |
|  | Балхаш-Алакульский флористический район      | Нижнее течение реки Или                | Пески Сары-Ишик            | 1843 (A.J. Schrenk)       |
|  |  |  | Атрау                      | 1931                      |
|  |  |  | Карой                      | 1930                      |
|  |  |  | Дельта Или                 | 2013                      |
|  |  |  | Пос. Барибаев (Акжар)      | 2013                      |
|  |  |  | Пос. Ақдала                | 1949, 2013                |
|  |  |  | Пос. Баканас               |                           |

Продолжение таблицы 1

| Виды                                | Горные системы и (или) флористические районы | Горные хребты или макропривязки сборов | Места сборов   | Годы осуществления сборов  |  |            |
|-------------------------------------|--|--|--|--|--|------------|
| 1                                   | 2  | 3                                      | 4  | 5  |  |            |
| <i>Berberis iliensis</i> M.<br>Pop. | Джунгарский Алатау                           | Среднее течение реки Или               | Урочище Капчагай<br>Станция Или<br>20 км выше (по течению р.Или)<br>поселка Илийски  | 1946, 1956, 1962<br>1930, 1935<br>1955   |  |            |
|                                     |  |  | Арал-Тобе<br>Междур Большими и Малым Калканами<br>Аяк-Калкан<br>Минбулак<br>Кол-Бастау<br>Нурум-Даникер<br>Даникер<br>Кок-Тума<br>Капсалан<br>Шыган<br>Басши | 1956<br>1971<br>1971<br>1977<br>2014<br>2014<br>2014<br>2014<br>2014<br>2014   |  |            |
|                                     |  |  | Южные склоны Джунгарского Алатау   | Долан-Тау, Кзыл-Жар<br>Долан-Тау,<br>правобережье р.<br>Барахудзар<br>Р. Усек Дарбазакум   | 1956<br>1956<br>1930, 2014, 2014   |            |
|                                     |  |  | Кетмень  | Северный макросклон  | Темирлик   | 1937, 2014 |
|                                     |  |  | Заилийский Алатау  | Пойма реки Чарын<br>Р. Чарын<br>Р. Чарын Актогай<br>Горы Сюгаты<br>Горы Турайгыр<br>Р. Чилик уроц.<br>Бартогай<br>Р. Чилик, пос. Гайрак<br>Р. Чилик, пос. Чилик<br>Р. Чилик, Кызыл-Жар | 1948, 1970<br>1948, 1958<br>1948, 1982<br>1953<br>1966<br>1956<br>2014<br>2014<br>2014 |            |
|                                     |  |  |  |  |  |            |
|                                     |  |  |  |  |  |            |
|                                     |  |  |  |  |  |            |
|                                     |  |  |  |  |  |            |
|                                     |  |  |  |  |  |            |

В более благоприятных условиях оказались популяции вида, расположенные в верхнем течении реки Или, водообеспечение которых осуществляется притоками реки Или (р. Чарын, Шелек, Усек, Темирлик). Также не вызывает серьезных опасений состояние популяций барбариса илийского, расположенных в ГНПП «Алтын-Емель» и на примыкающих к нему территориях (Дарбазакумская). Здесь водообеспечение популяций определяется стоком грунтовых вод с прилегающих нагорий

(Sitpaeva 2016a: 120). Начато сохранение ex-situ генофонда популяций нижнего течения реки Или (Sitpayeva 2016b: 67). Следует подчеркнуть, что если в верхнем течении реки Или популяции барбариса илийского находятся под защитой трех особо охраняемых природных территориях, то в нижнем течении Или ни одна популяция вида не охраняется in-situ (Sitpayeva 2016a: 120). А именно такое сохранение общепризнано обязательной и непреложной мерой (Чекалин 2010: 70).

В заключение обобщения природных ареалов рода *Berberis* L. в Казахстане необходимо отметить, что в Республике барбарисы характеризуются только горными местами обитания. Природный ареал рода можно рассматривать как последовательность горных систем, выстроившихся с северо-востока (Алтай) на юго-запад (Западный Тянь-Шань). Проведенный анализ распространения видов рода позволяет подразделить ареал *Berberis* L. в Казахстане на три составляющие: северо-восточную, юго-восточную и южную.

Северо-восточная часть ареала рода включает Казахстанский Алтай, Казахский мелкосопочник, Зайсанскую котловину, хребты Монрак, Саур и Тарбагатай. Это место «уверенного расселения» барбариса сибирского и отчасти – барбариса круглоплодного.

Юго-восточная часть ареала рода включает Джунгарский Алатау и примыкающие к нему с северо-запада плоскогорья, хребет Кетмень, Терской, Кунгей и Зайсанский Алатау, а также Чу-Илийские горы. Здесь расселились барбарис круглоплодный и барбарис илийский.

Южная часть ареала рода в Казахстане включает Киргизский Алатау Казахстанские территории Западного Тянь-Шаня. На этих территориях расселились барбарис круглоплодный, барбарис цельнокрайний и барбарис монетный.

## Выводы

1. На сегодняшний день можно с полным основанием говорить о произрастании в Казахстане 6 видов рода *Berberis* L.: *Berberis sibirica* Pall., *B. sphaerocarpa* Kar. et Kir., *B. iliensis* M. Pop., *B. oblonga* (Regel) C.K. Schneid., *B. integerrima* Bunge, *B. nummularia* Bung.

2. *Berberis karkaralensis* Kornilova et Potapov безусловно произрастал на территории Казахстана как минимум до 1985 года. Утверждения о исчезновении или о сохранности этого вида сегодня требуют обоснования специальными исследованиями.

3. *Berberis kaschgarica* Rupr. ни сейчас, ни ранее не произрастал в Казахстане. Возможно его заселение на территории Республики из Западного Китая при дальнейшем развитии процессов глобального потепления.

4. Показано, что в Казахстане виды рода *Berberis* L. характеризуются только горными местами обитания. Ареал рода в республике представляет собой цепь горных систем, простирающуюся с северо-востока (Казахстанский Алтай) на юго-запад (Западный Тянь-Шань). По специфики видового состава барбарисов предложено подразделить его ареал в республике на северо-восточную, юго-восточную и южную составляющие.

## Литература

- 1 Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР: монография. – Ленинград. 1981. - 510 с.
- 2 Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств: монография – СПБ: Мир и семья, 1995. - 992 с.
- 3 Абдулина С.А. Список сосудистых растений Казахстана. – Алматы: Стека, 1999. –187 с.
- 4 Флора СССР: в 30 т. / Борбов Е. Г., [и др.]; под ред. В. Л. Комаров.– М. – Л.: АН ССР, 1937. – Т.7. – 792 с.
- 5 Флора Казахстана: в 9 т. / Байтепов М. Б., [и др.]; под ред. Н.В. Павлов. – Алма-Ата: АН Каз ССР, 1961. – Т.4. – 48 с.
- 6 Определитель растений Средней Азии. Критический конспект флоры. Под ред. С. С. Ковалевской.– Ташкент: Фан, 1972. – Т.3. – 268 с.
- 7 Соколов С.Я. Ареалы деревьев и кустарников СССР / Соколов С.Я., Связева О.А., Кубли В.А.– Л.: Наука, 1980. – Т.2. – 144 с.
- 8 Orsi M.C. Berberidaceae // Flora Patagonica. – 1984. - Vol. 8. - P. 325-348.
- 9 Bottini M.C.J., A.De Bustos, N. Jouve, Poggio L. AELP characterization of natural populations of *Berberis* (Berberidaceae) in Patagonia, Argentina // Plant syst. Evol. – 2002. – № 8. - P. 133-142.
- 10 Landrum L.R. Revision of *Berberis* (Berberidaceae) in Chili and adjacent Southern Argentina // Ann Missouri Botanical garden. – 1999. - No 86. - P. 793-834.
- 11 Bottini M.C.J., Greizerstein E.J., Poggio L. Polyploidy levels and their relationship with the rainfall in several populations of Patagonian species of *Berberis* L. // Caryologia. – 1999. – № 52. - P. 514-520.
- 12 Bottini M.C.J., Greizerstein E.J., Aulicino M.B., Poggio L. Relationships among genome size, environmental conditions and geographical distribution in natural populations of NW Patagonian species of *Berberis* L. (Berberidaceae) // Ann Bot.– 2000. – № 86. - P. 565-573.
- 13 Bottini M.C.J., De Bustos A., Sanso A.M., Jouve N., Poggio L. Relationships in Patagonian species of *Berberis* L. (Berberidaceae) based on the characterization of rDNA internal transcribed spaces sequences // Bot. J. Lin Soc. – 2007. - № 153. - P. 321-328.
- 14 Roy S., Tyagi A., Shukla V., Kumar A., Singh U.M., Chaudhary L.B. Universal plant DNA barcode loci may not work in complex groups. A case study with Indian *Berberis* species // PLOS ONE S. - 2010. – № 10 - P.36-74.

- 15 Arena M.E., Miriam E., Edgardo Giordania, Silvia Radice. Flowering, fruiting and leaf seed variability in *Berberis buxifolia*, a native Patagonian fruit species // Nova Sciences Publishers. –2011. – № 3. - P. 117-136.
- 16 Arena M.E., Giordani E., Redice S. Phenological growth and development stages of the native Patagonian fruit species *Berberis buxifolia* Lam. // Journal of Food Agriculture & Environment. – 2013. – № 11. - P. 1323-1327.
- 17 Arena M.E., Reduse S. Shoot growth and development of *Berberis buxifolia* Lam. in Tierra del Fuego (Patagonia) // Sci. Hortic. – 2014. – Vol. 165. - P. 5-12.
- 18 Rodoni L.M., Feuring V., Zaro M.J., Vicente A.R. Arena M.E. Ethylene responses and quality of antioxidant-rich stored barberry fruit (*Berberis microphylla*) // Sci Hortic. – 2014. - Vol. 179. - P. 233-238.
- 19 Suarez F.J. Pollination in *Berberis microphylla* G. Forst. study in the insect participation in this development phase // Grade thesis of the Facultad de Agronomia y Ciencias Agroalimentarias de la Uneversidad de Moron, - 2015.- P 35
- 20 Giordani E., Muller M., Gambineri F., Pafetti D., Arena M., Radice S. Genetic and morphological analysis of *Berberis microphylla* G. Forst. accessions in southern Tierra del Fuego // (<http://dx.doi.org/10.1080/11263504.2016.1211194>). - Plant Biosystems. - 2016. - № 20. (<http://www.tandfonline.com/loi/tplb20>).
- 21 Alberch P. Developmental constraints in evolutionary process // Evolution and development. – 1982. – № 22 – P. 313-332.
- 22 Грант В. Видеообразование у растений – М.: Мир, 1984. – 528 с.
- 23 Красная книга Казахской ССР. Ч. 2. Растения. – Алма-Ата: Наука, 1981. – 260 с.
- 24 Красная книга Казахстана. – под ред. И.О. Байтулин. 2-е изд., перераб. и доп.; – Астана: Art Print XXI, 2014. – Т.2. – 452 с.
- 25 Бердиев Э.Т., Чоршонбиев Ф. Биоразнообразие рода *Berberis* L. в Центральной Азии. Сохранение и устойчивое использование биоразнообразия плодовых культур и их диких сородичей // Bioversity International. – 2012. – № 7. – С. 61-71.
- 26 Джолдыбаева Б., Алтынбаева Н.А., Аимбетов Р.С., Смаилов Б., Мухитдинов Н.М., Бисенбаев А.К. Оценка генетического полиморфизма популяции *Berberis iliensis* в Или-Балхашском регионе Казахстана // Доклады Национальной Академии Наук Республики Казахстан. – 2012. – №1. – С. 59-64.
- 27 Смекенов И.Т., Акишева Ж.Д., Алтынбаева Н.А. Мухитдинов Н.М., Бисенбаев А.К. Оценка генетического полиморфизма популяции *Berberis iliensis* Или-Балхашского региона на основе ISSR-маркеров // Доклады Национальной Академии Наук Республики Казахстан. – 2012. – №4. – С. 49-56.
- 28 Мухитдинов А.С., Аметов А.А., Мухитдинов Н.М., Ыдырыс А.А., Абдиева М.Н. Изменчивость биометрических показателей *Berberis iliensis* M. Pop. // Поиск. - 2013. - № 1. - С.322-332.
- 29 Чекалин С.В. Расселение и холодостойкость древесных растений Евразии (субтропические, умеренные и субполярные территории) / Чекалин С.В., Ситпаева Г.Т., Масалова В.А. – Алматы: Труды института ботаники и фитоинтродукции, 2012. – 188 с.
- 30 Чекалин С.В., Мухитдинов Н.М., Зайченко О.П., Масалова В.А. Оценка возрастной структуры и состояния природных популяций *Berberis iliensis* M. Pop. // Актуальные проблемы геоботаники: сб. науч. работ. – Алматы, 2011. – С.235-241.
- 31 Чекалин С.В., Мухитдинов А.С., Зайченко О.П., Набиева С.В., Масалова В.А. Пожарский А.С. Естественная гибридизация *Berberis iliensis*M. Pop. и *Berberis shaerocarpa* Kar.et Kir. // Сохранение и рациональное использование генофонда плодовых лесов Казахстана: сб. науч. работ. – Алматы, 2013. – С. 140-145.
- 32 Чекалин С.В., Мухитдинов А.С., Зайченко О.П., Масалова В.А., Бабай И.В., Ишаева А.Н., Исабаев С.О., Исмаилова Н.А. Современное состояние природного ареала барбариса илийского // Современные направления исследований флоры Казахстана и ее охраны: сб. науч. работ. – Алматы, 2014. – С. 131-136.
- 33 Чекалин С.В., Мухитдинов А.С., Зайченко О.П., Набиева С.В., Масалова В.А. Полевая всхожесть семян *Berberis iliensis* M. Pop. и *Berberis shaerocarpa* Kar.et Kir. и межвидовая гибридизация // Современные направления исследований флоры Казахстана и ее охраны: сб. науч. работ. – Алматы, 2014. – С. 283-288.
- 34 Чекалин С.В. Национальная методология оценки и сохранения горных плодовых лесов Казахстана: монография / С.В. Чекалин, Т.Н. Нурмуратов. – Алматы. 2010. – 70с.
- 35 Pozharskiy A.S., Chekalin S.V. Molecular study of *Berberis iliensis* M. Pop. and *Berberis shaerocarpa* Kar.et Kir. wild populations in South-East Kazakhstan using ISSR markers // International journal of Biology and Chemistry. – 2015. - No 8. - P 15-20.
- 36 Chekalin S.V. The system of gomological epigenetical variability of fruit's forms of *Berberis iliensis* M. Pop. and *Berberis shaerocarpa* Kar.et Kir. / Chekalin S.V. // Conservation and sustainable use of gene pool of Plant World in Eurasia at the present Stage: сб. науч. работ. International scientific conference within «Day of Kazakhstan» – Antalya, 2016. - P.76-77.
- 37 Sitpayeva G.T., Isabaev S.A., Chekalin S.V. Current state and species variety of wild relatives of cultural plants in southern part of Balhash and valley of the river Ili / Sitpayeva G.T., Isabaev S.A., Chekalin S.V. // Conservation and sustainable use of gene pool of Plant World in Eurasia at the present Stage: сб. науч. работ. International scientific conference within «Day of Kazakhstan» – Antalya, 2016. - P.67-69.
- 38 Sitpayeva G.T., Chekalin S.V., Masalova V.A., Isabaev S.A., Ismailova N.A., Ishaeva A.N. The resistance of natural populations *Berberis iliensis* M. Pop. and the way to its protection / Sitpayeva G.T., Chekalin S.V., Masalova V.A., Isabaev S.A., Ismailova N.A., Ishaeva A.N. // Conservation and sustainable use of gene pool of Plant World in Eurasia at the present Stage: сб. науч. работ. International scientific conference within «Day of Kazakhstan» – Antalya, 2016. - P.120-121.

### References

- 1 Abdulina S.A., Spisok sosudistykh rastenii Kazakhstana [List of vascular plants of Kazakhstan]. (Almaty, 1999), 187.
- 2 Berdiev E.T., Chorshonbiev F. «Bioraznoobrazie roda Berberis L. v central'noj Azii. Sohranenie i ustojchivoe ispol'zovanie bioraznoobrazija plodovyh kul'tur i ih dikh sorodichej [The biodiversity of the genus Berberis L. in Central Asia, Protection and sustainable using of biodiversity fruit crops and their wild relatives],» Bioversity International 7 (2012): 61-71.
- 3 Grant V., Vidoobrazovanie u rastenii [The origin of plant species]. (Moscow, 1984), 528
- 4 Djoldibaeva B., Altinbaeva NA, Aimbetov RS, Smailov B., Muchitdinov NM, Bisenbaev AK., Otsenka geneticheskogo polimorfizma populiatsii Berberis iliensis v Ili-Balkhashskom regione Kazakhstana [Evaluation of genetic variability of population Berberis iliensis M.Pop. from Ile-Balchash region of Kazakhstan],» Report National Academy of Sciences of Kazakhstan 1 (2012): 59-65.
- 5 Krasnaja kniga Kazahstana [Red List of Kazakhstan] (Astana: Art Print XXI, 2014), 452
- 6 Krasnaja kniga Kazahskoj SSR [The Red Data Book of Kazakh SSR]. (Alma-Ata: Nauka, 1981), 263
- 7 Muchitdinov A.S., Ametov A.A., Muchitdinov N.M., Idris A.A., Abdieva M.N., «Izmenchivost' biometricheskikh pokazatelei Berberis iliensis M. Pop. [The variability of biometric characteristic of Berberis iliensis M.Pop.],» Poisk 1 (2013): 322-332.
- 8 «Opredelitel' rastenii Srednei Azii. Kriticheskii konспект flory [The identification guide of Middle Asia plants],» ed. S.S. Kovalevskaya, vol.3 (Tashkent: Fan, 1972), 268.
- 9 Sokolov S.J., Svazeva O.A., and Kubly V.A., «Arealy derev'ev i kustarnikov SSSR [The habitats of trees and shrubs of the USSR],» ed. S.J. Sokolov, vol. 2 (Leningrad: Nauka 1980), 144.
- 10 Smekenov I.N., Akisheva J.D., Altibaeva N.A., Muchitdinov N.M., Bisenbaev A.K., Muchitdinov N.M., Bisenbaev A.K., «Otsenka geneticheskogo polimorfizma populiatsii Berberis iliensis Ili-Balkhashskogo regiona na osnove ISSR-markerov [Evaluation of genetic variability of population Berberis iliensis M.Pop. from Ile-Balchash region of Kazakhstan by the method of ISSR-markers],» Dokl. National Academy of Sciences of Kazakhstan 4 (2012): 40-56.
- 11 Bobrov E.G., «Flora SSSR [Flora USSR],» ed. V. L. Komarov, vol.7 (Moscow, Leningrad: AN SSSR, 1937), 792.
- 12 Baytenov M. B., «Flora Kazakhstana [Flora of Kazakhstan],» ed. N. V. Pavlov, vol. 4 (Alma-Ata, 1958), 548.
- 13 Chekalin S.V., Sitpaeva G.T. and Masalova V.A., Rasselenie i holodoustojchivost' drevesnyh rastenij Evrazii (subtropicheskie, umerennye i subpoljarnye territorii) [The resettlement and cool resistance of arboreal plants of Eurasia (subtropical, moderate and subarctic territories)] (Almaty, 2012), 188.
- 14 Chekalin SV, Muchitdinov AS, Zaychenko OP, Massalova VA., «Ocenka vozrastnoj struktury i sostojaniya prirodnih populacij Berberis iliensis M. Pop. [The evaluation of age structure and conditions of natural populations of Berberis iliensis M. Pop.],» Aktual'nye problemy geobotaniki (2011): 235-241.
- 15 Chekalin S.V., Muchitdinov A.S., Zaychenko O.P., Nabieva S.V., Massalova V.A., Pojarskiy A.S., «Estestvennaja gibrildizatsiya Berberis iliensis M. Pop. i Berberis shaerocarpa Kar. et Kir. [Natural gibrildization of Berberis iliensis M. Pop. and Berberis sphaerocarpa Kar. et Kir.],» Protection and rational using of gene pull of wild fruit forests of Kazakhstan (2013): 140-145.
- 16 Chekalin S.V., Muchitdinov A.S., Zaychenko O.P., Masalova V.A., Babay I.V., Ishaeva A.N., Isabaev S.O., Ismailova N.A., «Sovremennoe sostoianie prirodnogo areala barbarisa iliiskogo [Modern condition of natural habitat of Berberis iliensis],» Modern trends in investigation of Kazakhstan's flora and it's protection (2014): 131-136.
- 17 Chekalin S.V., Muchitdinov A.S., Zaychenko O.P., Nabieva S.V., Massalova V.A., «Polevaja vskhozhnost' semian Berberis iliensis M. Pop. i Berberis shaerocarpa Kar. et Kir. i mezhvidovaia gibrildizatsiya. [Soil germination power of seeds of Berberis iliensis M. Pop. and Berberis sphaerocarpa Kar. et Kir. and interspecific hybridization],» The modern tendentious in investigations of Kazakhstan's flora and it's protections (2014): 283-288.
- 18 Chekalin S.V. and Nurmuratuly N.N., Natsional'naia metodologija otsenki i sokhraneniia gornykh plodovykh lesov Kazakhstana [National methodology for evaluation and protection of mountain fruit forests of Kazakhstan] (Almaty, 2010), 70.
- 19 Cherepanov S.K., Sosudistye rastenia SSSR [The vascular plants of USSR]. (Leningrad, 1981), 510.
- 20 Cherepanov S.K., Sosudistye rastenia Rosii i sopredel'nykh gosudarstv [The vascular plants of Russia and neighboring states] (St.P.: Mir i semya, 1995), 992.
- 21 Alberch P., «Developmental constraints in evolutionary process,» Evolution and development 22 (1982): 313-332.
- 22 Arena, Miriam E., Edgardo Giordania, Silvia Radice, «Flowering, fruiting and leaf and seed variability in Berberis buxifolia, a native Patagonian fruit species,» Nova Sciences Publishers 3 (2011): 117-136.
- 23 Arena M.E. Giordani E., Redice S., «Phenological growth and development stages of the native Patagonian fruit species Berberis buxifolia Lam.» Journal of Food Agriculture & Environment 11 (2013): 1323-1327.
- 24 Arena M.E., Redice S., «Shoot growth and development of Berberis buxifolia Lam. in Tierra del Fuego (Patagonia),» Scientia Horticulturae 165 (2014): 5-12.
- 25 Bottini M.C.J., A. De Bustos, N. Jouve, Poggio L., «AFLP characterization of natural populations of Berberis (Berberidaceae) in Patagonia, Argentina», Plant.Syst. Evol 8 (2002): 133-142.
- 26 Bottini M.C.J., Greizertein E.J., Poggio L. «Polyploidy levels and their relationship with the rainfall in several populations of Patagonian species of Berberis L», Caryologia 52 (1999): 514-520.
- 27 Bottini M.C.J., Greizertein E.J., Aulicino M.B., Poggio L., «Relationships among genome size, environmental conditions and geographical distribution in natural populations of NW Patagonian species of Berberis L. (Berberidaceae)», Ann Bot. 86 (2000): 565-573.
- 28 Bottini M.C.J., De Bustos A., Sanso A.M., Jouve N., Poggio L. «Relationships in Patagonian species of Berberis L. (Berberidaceae) based on the characterization of rDNA internal transcribed spaces sequences», Bot. J. Lin Soc. 153 (2007): 321-328.

- 29 Chekalin S.V., «‘The system of gomological epigenetical variability of fruit’s forms of *Berberis iliensis* M. Pop. and *Berberis shaerocarpa* Kar.et Kir’: Conservation and sustainable use of gene pool of Plant World in Eurasia at the present Stage» (article presented at the international scientific conference within «Day of Kazakhstan», Antalya, Turkey, September 3-6, 2016).
- 30 Giordani E., Muller M., Gambineri F., Pafetti D., Arena M., Radice S., «Genetic and morphological analysis of *Berberis microphylla* G. Forst. accessions in southern Tierra del Fuego,» *Plant Biosystems* 20 (2016): 14, accessed August 02, 2016, doi: 10.1080/11263504.2016.1211194
- 31 Landrum L.R., «Revision of *Berberis* (Berberidaceae) in Chili and adjacent Southern Argentina,» *Ann Missouri Botanical garden* 86 (1999): 793-834.
- 32 Orsi M.C. «Berberidacea,» *Flora Patagonia Secc.* 8 (1984): 325-348.
- 33 Pozharskiy A.S., Chekalin S.V., «Molecular study of *Berberis iliensis* M. Pop. and *Berberis shaerocarpa* Kar.et Kir. wild populations in South-East Kazakhstan using ISSR markers,» *International journal of Biology and Chemistry* 8 (2015): 15-20.
- 34 Rodoni L.M., Feuring V., Zaro M.J., Vicente A.R. Arena M.E., «Ethylene responses and quality of antioxidant-rich stored barberry fruit (*Berberis microphylla*),» *Scientia Horticulturae* 179 (2014): 233-238.
- 35 Roy S., Tyagi A., Shukla V., Kumar A., Singh U.M., Chaudhary L.B., «Universal plant DNA barcode loci may not work in complex groups. A case study with Indian *Berberis* species,» *PLOS ONE* S 10 (2010): 3674, accessed October 27, 2010, doi: 10.1371/journal.pone.0013674
- 36 Sitpayeva G.T., Isabaev S.A., Chekalin S.V., «‘Current state and species variety of wild relatives of cultural plants in southern part of Balhash and valley of the river Ili’: Conservation and sustainable use of gene pool of Plant World in Eurasia at the present Stage» (article presented at the international scientific conference within «Day of Kazakhstan», Antalya, Turkey, September 3-6, 2016).
- 37 Sitpayeva G.T., Chekalin S.V., Masalova V.A., Isabaev S.A., Ismailova N.A., Ishaeva A.N., «‘The resistance of natural populations *Berberis iliensis* M. Pop. and the way to its protection’: Conservation and sustainable use of gene pool of Plant World in Eurasia at the present Stage» (article presented at the international scientific conference within «Day of Kazakhstan», Antalya, Turkey, September 3-6, 2016).
- 38 Suarez F.J., «Pollination in *Berberis microphylla* G. Forst. study in the insect participation in this development phase.» Grade thesis of the Facultad de Agronomia y Ciencias Agroalimentarias de la Universidad de Moron (2015): 35.

2-бөлім  
**ЗООЛОГИЯ**

---

Раздел 2  
**ЗООЛОГИЯ**

---

Section 2  
**ZOOLOGY**

МРНТИ 34.33.27

**Сергазинова З.М.<sup>1</sup>, Ержанов Н.Т.<sup>2</sup>, Дупал Т.А.<sup>3</sup>,  
Макаров А.В.<sup>4</sup>, Литвинов Ю.Н.<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>PhD-докторант, e-mail: wwwszm@mail.ru

<sup>2</sup>доктор биологических наук, профессор, e-mail: dirni@mail.ru

Павлодарский государственный университет имени С. Торайгырова, Казахстан, г. Павлодар

<sup>3</sup>кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail: gf@eco.nsc.ru

<sup>4</sup>ведущий инженер, e-mail: al\_micromammals@mail.ru

<sup>5</sup>доктор биологических наук, профессор, e-mail: litvinov@ eco.nsc.ru

Институт систематики и экологии животных

Сибирского отделения Российской академии наук,

Россия, г. Новосибирск

**НАСЕЛЕНИЕ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ  
В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ  
СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА  
(на примере г. Павлодара)**

В статье приводятся данные по населению мелких млекопитающих промышленной зоны г. Павлодар за летний период 2016-2017 гг. Проведен анализ основных структурных показателей разнообразия сообществ мелких млекопитающих как биоиндикаторов состояния экосистем в зонах техногенной нагрузки, в сравнении с контрольными участками. За период исследований на сравниваемых территориях нами зарегистрировано 19 видов мелких млекопитающих. В зоне техногенной нагрузки отмечено 15, а на контрольной территории 13 видов, а одновременно на двух территориях зарегистрировано по девять общих видов мелких млекопитающих. На техногенной территории доминируют в основном два вида – узкочерепная полевка и степная мышовка. На контролльном участке существенно преобладает узкочерепная полевка, а также бурозубки – тундряная, малая и обыкновенная, а также мышь-малютка. Исследована межпопуляционная изменчивость морфометрических экстерьерных показателей узкочерепной полёвки. Анализ показал закономерное снижение размерных показателей длины тела и веса животных на территориях техногенной нагрузки. Территории зон техногенной нагрузки подвержены сильной антропогенной трансформации ландшафтов и значительному изменению и фрагментированности местообитаний, в конечном итоге, влияющих на динамику и устойчивость популяции узкочерепной полевки. В результате многие зверьки, теряют способность к миграциям и заселению подходящих пограничных местообитаний, образуя локальные популяции.

**Ключевые слова:** грызуны, насекомоядные, численность и структура населения, промышленное загрязнение, зона техногенной нагрузки, контрольная территория, узкочерепная полевка.

Sergazinova Z.M.<sup>1</sup>, Erzhanov N.T.<sup>2</sup>, Dupal T.A.<sup>3</sup>,  
Makarov A.V.<sup>4</sup>, Litvinov Ju.N.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>PhD-student, e-mail: wwwszm@mail.ru

<sup>2</sup>Doctor of Biological Sciences, Professor, e-mail: dirni@mail.ru  
Pavlodar State University named S. Toraigyrov, Kazakhstan, Pavlodar

<sup>3</sup>Candidate of Biological Sciences, Senior Research Fellow, e-mail: gf@eco.nsc.ru  
<sup>4</sup>Leading engineer, e-mail: al\_micromammals@mail.ru

<sup>5</sup>Doctor of Biological Sciences, Professor, e-mail: litvinov@eco.nsc.ru

Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,  
Russia, Novosibirsk

### The population of small mammals in conditions of technogenic pollution of Northern Kazakhstan (on an example of Pavlodar)

In the article presents data on the population of small mammals in the industrial zone of Pavlodar for the summer period 2016-2017. Analyzed of the main structural indicators of the diversity of communities of small mammals, as bioindicators of the condition of ecosystems in zones of technogenic load, in comparison with the control sites. During the period of research in the compared territories, we recorded 19 species of small mammals. In the zone of technogenic load 15 were recorded, and 13 species in the control area, and simultaneously in two territories nine common species of small mammals were registered. The technogenic territory is dominated mainly by two species - the narrow-skulled vole and the southern birch mouse. In the control area, the narrow-skulled vole predominates, as well as the tundra shrew, the pygmy shrew and the common shrew, and also the harvest mouse. Interpopulation variability of morphometric exterior characteristics of a narrow-skulled vole was investigated. The analysis showed a regular decrease in the size indices of body length and weight of animals in the territories of technogenic load. The areas of technogenic load zones are subject to strong anthropogenic transformations of landscapes and to a significant change and fragmentation of habitats, ultimately affecting on the dynamics and stability of the population the narrow-skulled vole. As a result, many animals lose their ability to migrate and to populate suitable border habitats, forming local populations.

**Key words:** rodents, insectivores, number and structure of the population, industrial pollution, zone of technogenic load, control territory, narrow-skulled vole.

Сергазинова З.М.<sup>1</sup>, Ержанов Н.Т.<sup>2</sup>, Дупал Т.А.<sup>3</sup>, Макаров А.В.<sup>4</sup>, Литвинов Ю.Н.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>PhD-докторант, e-mail: wwwszm@mail.ru

<sup>2</sup>биология ғылымдарының докторы, профессор, e-mail: dirni@mail.ru

С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Қазақстан, Павлодар қ.

<sup>3</sup>биология ғылымдарының кандидаты, аға ғылыми қызметкері, e-mail: gf@eco.nsc.ru

<sup>4</sup>жетекші инженері, e-mail: al\_micromammals@mail.ru

<sup>5</sup>биология ғылымдарының докторы, профессор, e-mail: litvinov@eco.nsc.ru

Ресей ғылым академиясының Сібір бөлімшесінің жануарларды жүйелу және экология институты,  
Ресей, Новосибирск қ.

### Солтүстік Қазақстанның техногендік ластану жағдайына ұсақ сүтқоректілердің қоныстануы (Павлодар қаласы мысалында)

Мақалада 2016-2017 жылдардың жазғы мезгілі аралығындағы Павлодар қаласының өндірістік аймағының ұсақ сүтқоректілерінің таралуы бойынша мәліметтер берілген. Ұсақ сүтқоректілер қауымдастырының әр түрлілігі негізінде басты құрылымдық көрсеткіштеріне, техногендік жүктеме жағдайындағы экожүйелердің биоиндикаторлары ретінде, бақылау аумақтарын салыстыру арқылы талдау жүргізілді. Зерттеу барысында салыстыру аумақтарында ұсақ сүтқоректілердің 19 түрін тіркедік. Техногендік жүктеме аймағында 15, бақылау аймағында 13 түр, ал бір мезгілде екі аумақта тоғыз түрлі ұсақ сүтқоректілер тіркелген. Техногендік аумақтарда негізінен екі түрі басымдылық, танытады – бас миы тар сұртышқан және қыр тышқаны. Бақылау телімінде едәүір басымдылықты бас миы тар сұртышқан, сонымен қатар тундралы, кіші және көдімгі – жертесер, шағын тышқан танытады. Бас миы тар сұртышқаның морфометриялық сыртқы көрсеткіштерінің популяция аралық өзгеруі зерттелген. Талдау техногендік жүктеме аймақтарда жануарлардың салмағы және дene ұзындық көрсеткіштері мен өлшемдерінің төмендеу зандылығын көрсетti. Техногендік жүктеме аймағында ландшафттардың қатты антропогендік трансформациясы және мекендеу орындарының айтарлықтай фрагменттелуі акыр соңында бас миы тар сұртышқаның динамикасы мен тұрақты популяциясына әсер етеді. Нәтижесінде көптеген андар қоныс аударулаға және келісті шекаралық қоныс орындарға қоныстану қабілеттіліктерін жояды және жергілікті популяция құрайды.

**Түйін сөздер:** кемірушілер, жәндіккөректілер, тұрғындардың саны мен құрылымы, өндірістік ластану, техногендік жүктеме аймағы, бақылау аумағы, сүйірбасты тоқалтісі.

## Введение

Антропогенная трансформация окружающей природной среды приводит к значительным изменениям в экосистемах. Первые исследования изменений биоты вблизи точечных источников выбросов были выполнены в конце XIX в. (Holland, 1888: 112; Haselhoff, Lindau, 1903: 412; Stoklasa, 1923: 487). Описания мертвых лесов и «лунных ландшафтов» вошли во многие учебники экологии (Freedman, 1989:424) как наиболее яркие примеры негативных последствий человеческой деятельности. Интенсивное накопление информации позволило уже к концу 1970-х годов выявить картину трансформации экосистем под влиянием загрязнения (Woodwell, 1970: 430; Smith, 1981: 378; Odum, 1985: 420; Rapport, Whitford, 1999:193).

Павлодарская область является одним из развитых промышленных регионов Северного Казахстана. За последние десятилетия в г. Павлодар и его окрестностях, в связи со значительным ростом количества предприятий и увеличением объемов производства, преобразованием мезорельефа, интенсивным выпасом домашних животных возросла антропогенная нагрузка на окружающую среду, что привело к значительной трансформации и фрагментированности местообитаний. Изменение характеристик биотопов обуславливает значительные изменения географического распространения видов, что сказывается на видовом составе сообществ и приводит к усилению действия естественного отбора, корректирующего взаимоотношения видов на уровне их экологических ниш (Hanski, 2005: 47). На территориях техногенных участков, расположенных в непосредственной близости от объектов промышленного производства, происходит снижение биоразнообразия флоры и фауны, уменьшение количества обитающих видов и снижение их численности. Оставшиеся виды вынуждены приспособливаться к обитанию в сложных условиях постоянного техногенного пресса и присутствия в окружающей среде значительных количеств вредных веществ антропогенного происхождения (Земляной, 2007: 484).

Группа мелких млекопитающих, представленная различными таксономическими и экологическими единицами, давно используется в качестве удобной экологической модели для комплексного изучения антропогенного влияния на экосистемы (Ивантер, 1981: 47; Daniel, 1993: 352; Guillermo Espinosa-Reyes et al., 2014: 13; Rodriguez-Estival, Smits, 2016: 286). Данная

группа животных благодаря высокой численности, быстрому обмену веществ, интенсивному размножению, оседлости и небольшому индивидуальному участку обитания, удовлетворяют всем основным требованиям, предъявляемым к видам-индикаторам (Biomonitoring and environmental management, 1990: 108).

На территории Казахстана (Каркаралинского государственного национального природного парка, а также в прибрежных биотопах рек Жетысу), результаты биоиндикационных исследований показали, что популяции мышевидных грызунов, под влиянием антропогенной нагрузки, имеют устойчивое состояние (Пудов, 2013: 23; Магда, 2014: 319). Но, в результате исследований техногенных участков, под воздействием выбросов вредных веществ (Темиртауского промышленного комплекса), установлено значительное уменьшение биоразнообразия мелких млекопитающих, снижение их численности, а также накопление тяжелых металлов во внутренних органах животных, приводящих к развитию патологических изменений во внутренних тканях и органах кроветворения (Аталикова, 2009: 12).

К настоящему времени, работ, посвященных биоиндикационным исследованиям сообществ мелких млекопитающих на техногенных участках Северного Казахстана немного. Более того, изучение фауны и населения мелких млекопитающих в окрестностях г. Павлодар проводилось эпизодически, данные о составе, численности и распределении их населения по биотопам малы. Исходя из вышеизложенного, определяется актуальность данной статьи.

Впервые для территории окрестностей г. Павлодар проведен эколого-фаунистический анализ населения мелких млекопитающих, а также проведены зоомониторинговые исследования импактных регионов (Воробейчик, 2012: 83) АО «Алюминий Казахстана» и АО «Казахстанский электролизный завод», выявлены межпопуляционные различия внешних морфологических показателей узкочерепной полевки. Впервые для Павлодарской области приводится новый, ранее не встреченный, вид – восточноевропейская полевка (*M. levis* Miller, 1908).

Цель работы состоит в изучении видового состава и структуры населения мелких млекопитающих зон техногенной нагрузки и выявлении межпопуляционных различий внешних морфологических показателей узкочерепной полевки зон техногенной нагрузки и контрольной территории.

## Материалы и методы исследований

Исследования проводили в восточной промышленной зоне г. Павлодар, где выбрано два крупных объекта загрязнения: АО «Алюминий Казахстана» и АО «Казахстанский электролизный завод». Расстояние между заводами составило около 11 км.

АО «Алюминий Казахстана» (далее алюминиевый завод) входит в Евразийскую Группу (ERG). Основная деятельность состоит в добывче бокситов и производстве глинозема (Ибрагимов, 2010: 5-6). Это второй крупнейший производитель глинозема по объему в СНГ, пущенный в эксплуатацию в 1964 г. Мощность предприятия – 1,4 млн тонн глинозема в год. Рядом располагается Павлодарская ТЭЦ-1, входящая в состав предприятия. Завод находится на юго-востоке г. Павлодар на расстоянии около 2 км от жилого микрорайона. Алюминиевый завод и ТЭЦ выбрасывают до 90% от общего количества загрязняющих веществ в год, что приводит к наибольшим концентрациям на данной территории таких элементов как Cu, Zn, Cd, Pb, Cr, Mn, Co, Mo, Be в почвах (Панин, 2006: 174).

АО «Казахстанский электролизный завод» (далее электролизный завод) входит в группу ENRC – единственного производителя первичного алюминия в Казахстане (Ибрагимов, 2009: 14-16). Введен в эксплуатацию в 2007 г., производственная мощность – 250 тыс. тонн продукции в год. Завод располагается на расстоянии 12 км от города в юго-восточном направлении. По литературным источникам, основными загрязнителями подобного производства выступают фторидные соединения (HF, SiF<sub>4</sub>, NaF, Na<sub>3</sub>AlF<sub>6</sub> и др.), которые могут рассеиваться в радиусе 50 км, а также окиси углерода, диоксид серы и пыль (Ибрагимов, 2009: 234).

Полевые работы вели с мая по сентябрь 2016-2017 гг., в течение 10-20 дней каждого месяца, на 12 пробных участках в схожих биотопах в пределах трех зон техногенной нагрузки, расположенных в западном и восточном направлении, на разном удалении от источников загрязнения. Зоны выделяли на основании данных статьи С.В. Мухачевой: импактная зона до 0,5-3 км, буферная – 3-5 км, фоновая – 20-25 км (Мухачева, 2005: 523). В импактной зоне выбрано пять пробных участков – И<sub>1</sub>, И<sub>2</sub>, И<sub>3</sub>, И<sub>4</sub>, И<sub>5</sub>; в буферной три – Б<sub>6</sub>, Б<sub>7</sub>, Б<sub>8</sub>; в фоновой четыре – Ф<sub>9</sub>, Ф<sub>10</sub>, Ф<sub>11</sub>, Ф<sub>12</sub> (рисунок 1). Кроме того, в качестве контрольной зоны выделен участок, расположенный на рас-

стоянии около 200 км от г. Павлодар по прямой линии. Участок размещался в окрестностях с. Троицкое в 15 км от г. Карасук Новосибирской области (Карабасукский стационар Института систематики и экологии животных СО РАН, К<sub>к</sub>).

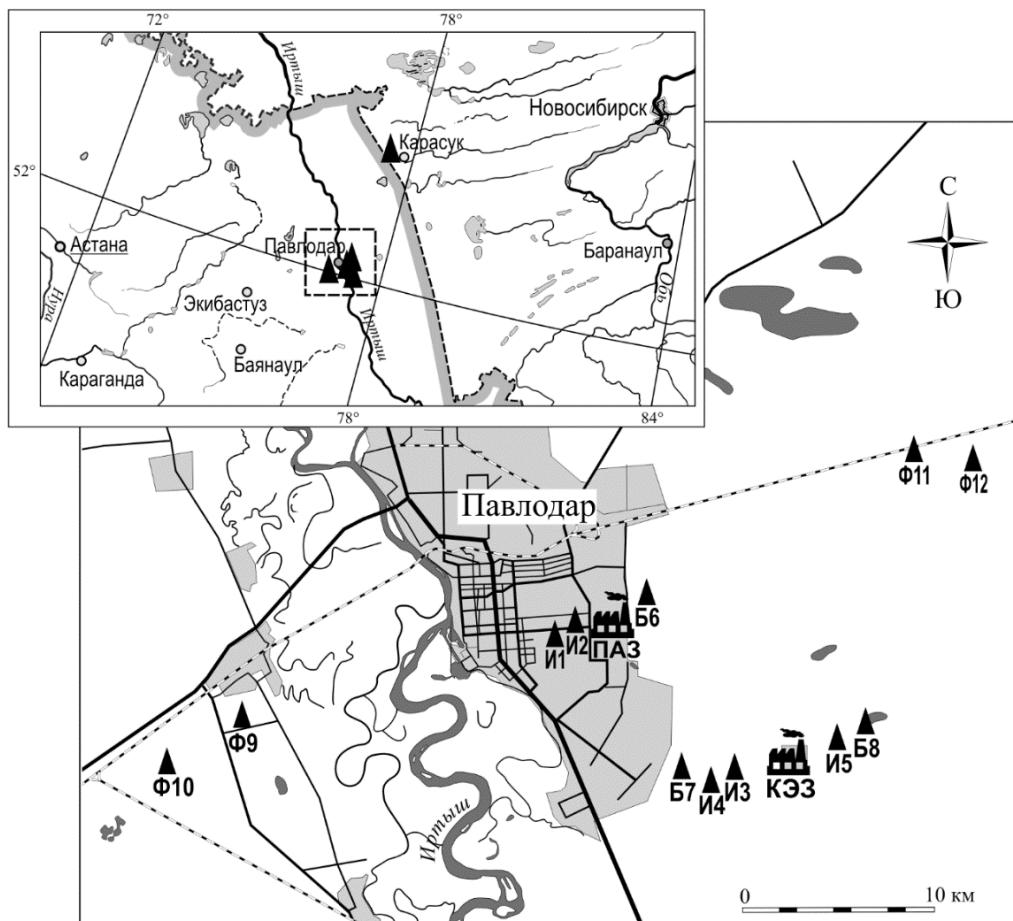
На территории импактной зоны пробные участки располагались в разнотравно-полынной (И<sub>1</sub>, И<sub>2</sub>), разнотравно-ковыльно-полынной (И<sub>3</sub>, И<sub>4</sub>) и разнотравно-типчаковой (И<sub>5</sub>) степях. Буферная зона представлена типчаково-полынной (Б<sub>6</sub>), полынно-ковыльной (Б<sub>7</sub>) и разнотравно-типчаковой степями (Б<sub>8</sub>), а фоновая – типчаково-полынной (Ф<sub>9</sub>, Ф<sub>10</sub>) и полынной степями (Ф<sub>11</sub>, Ф<sub>12</sub>).

Контрольная территория в окрестностях с. Троицкое (К<sub>к</sub>) представлена следующими биотопами: типчаково-злаково-разнотравная степь, небольшой участок ковыльно-типчаковой степи вдоль лесополосы, участок пахотного поля, заросший злаково-разнотравной растительностью и берег оз. Кротово заросший злаково-разнотравной растительностью.

Сбор материала осуществляли методом ловчих канавок, длиной 50 метров. В дно канавки вкапывали пять пластиковых конусов на расстоянии 10 м между ними и по 5 м за крайние конусы. В качестве конусов были использованы обычные 5-литровые емкости со срезанным дном. Канавки проверяли ежедневно рано утром. В качестве числовых характеристик видов в сообществе применяли индекс доминирования (процент или доля вида в сообществе (и. д.)) и показатель численности (п. ч.) рассчитанный на 100 конусо-суток (к/с) (Литвинов, 2010: 24).

Систематический перечень видов, их русские и латинские названия даны по справочнику-определителю «Наземные звери России» (Павлинов, 2002: 25-214) с некоторыми поправками по Каталогу мировой фауны млекопитающих (Mammal Species of the World, 2005).

По учетам 2016 г. на пробных и контрольном участках доминирующими видом в сообществе мелких млекопитающих была узкочерепная полевка (Дупал, 2017: 793). Поэтому объектом исследования межпопуляционной морфометрической изменчивости выбран этот вид. Кроме Карабасукской популяции стадной полевки для сравнения приводятся морфометрические данные с Бийского участка (К<sub>Б</sub>), который расположен в подзоне южной лесостепи в окрестностях г. Бийска (Алтайский край). Этот участок включал в себя два открытых биотопа: луга-перелески и луга-выпасы.



**Рисунок 1 – Район исследования и участки отлова мелких млекопитающих**  
 $\Phi_9, \Phi_{10}, \Phi_{11}, \Phi_{12}$  – фоновая зона;  $B_6, B_7, B_8$  – буферная зона,  $I_1, I_2, I_3, I_4, I_5$  – импактная зона;  
ПАЗ – алюминиевый завод; КЭЗ – электролизный завод

Выборки самцов и самок *Microtus (Stenocranius) gregalis* были разбиты на три возрастные группы: молодые (Subad), взрослые (Adultus) и перезимовавшие (Senex). Возрастные группы выделены по массе тела и состоянию половой системы. Сеголетки с массой тела больше 20 г, половозрелые самцы с массой семенника более 100 мг, а также беременные, с плацентарными пятнами самки отнесены к группе взрослых животных. Размножающиеся полевки, отловленные в начале лета, с массой тела более 30 г, с хорошо развитым межглазничным гребнем на черепе, включены в группу перезимовавших. Неполовозрелые сеголетки с массой тела менее 20 г отнесены к группе молодых полевок. Использовали следующие показатели: масса тела, длина тела, хвоста и ступни. Для каждого признака посчитаны средние значения и ошибка средней, достоверность различий (Плохинский, 1961: 119).

## Результаты исследований и их обсуждение

Всего за время исследований 2016–2017 гг. отработано 4682 конусо-суток в зоне техногенной нагрузки и 1535 на контрольной территории Карасукского участка. Отловлено 431 особей мелких млекопитающих 19 видов, 11 родов, 5 семейств и 2 отрядов, среди которых преобладали грызуны, как в техногенной (64,3 %), так и в контрольной (69,2 %) зонах (таблица 1).

За летний период 2016–2017 гг. одновременно на двух территориях зарегистрировано по девять общих видов мелких млекопитающих (табл. 1). В зоне техногенной нагрузки отмечено 15 видов, шесть из которых не встречены в этот период на контрольной территории ( $K_k$ ). Малая белозубка и обыкновенная слепушонка в Карасукском районе не встречаются. В контрольной зоне ( $K_k$ ) за два года зарегистрировано 13 видов, из которых средняя бу-

розубка, водяная полевка, мышь-малютка и полевая мышь не отмечены в зоне техногенной нагрузки. Кроме того, в зоне техногенной нагрузки Павлодарской области нами обнаружен новый вид для региона – восточноевропейская полевка (*Microtus levis* Miller, 1908). Определение вида осуществлялось сотрудником ла-

боратории экологии сообществ позвоночных животных ИСиЭЖ СО РАН к.б.н. Т.А. Дупал. Подтверждение вида проведено сотрудниками «Федерального научного центра Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН И.В. Карташевой и И.Н. Шереметьевой (устное сообщение).

**Таблица 1** – Список отловленных видов мелких млекопитающих

| Вид   | Зона техногенной нагрузки |            |           |            | Контрольная зона (K <sub>K</sub> ) |            |            |            |
|---|---------------------------|------------|-----------|------------|------------------------------------|------------|------------|------------|
|   | 2016                      |            | 2017      |            | 2016                               |            | 2017       |            |
|   | п                         | и.д.       | п         | и.д.       | п                                  | и.д.       | п          | и.д.       |
| Насекомоядные (Insectivora)   |                           |            |           |            |                                    |            |            |            |
| Малая бурозубка ( <i>Sorex minutus</i> L., 1766)                      | 1                         | 1,1        | 1         | 1,4        | 14                                 | 10,2       | 10         | 7,7        |
| Средняя бурозубка ( <i>S. caecutiens</i> Laxmann, 1785)               | 0                         | 0          | 0         | 0          | 0                                  | 0          | 1          | 0,8        |
| Тундряная бурозубка ( <i>S. tundrensis</i> Merriam, 1900)             | 2                         | 2,2        | 8         | 11,1       | 25                                 | 18,1       | 16         | 12,3       |
| Обыкновенная бурозубка ( <i>S. araneus</i> L., 1758)                  | 0                         | 0          | 1         | 1,4        | 12                                 | 8,7        | 11         | 8,5        |
| Крошечная бурозубка ( <i>S. minutissimus</i> Zimmermann, 1780)        | 1                         | 1,1        | 0         | 0          | 0                                  | 0          | 0          | 0          |
| Малая белозубка ( <i>Crocidura suaveolens</i> Pall., 1811)            | 2                         | 2,2        | 4         | 5,6        | 0                                  | 0          | 0          | 0          |
| Грызуны (Rodentia)  |                           |            |           |            |                                    |            |            |            |
| Краснощекий суслик ( <i>Spermophilus erythrogenys</i> , Brandt, 1841) | 1                         | 1,1        | 1         | 1,4        | 0                                  | 0          | 0          | 0          |
| Степная мышовка ( <i>Sicista subtilis</i> Pall., 1773)                | 24                        | 26,4       | 13        | 18,1       | 0                                  | 0          | 0          | 0          |
| Джунгарский хомячок ( <i>Phodopus sungorus</i> Pall., 1773)           | 6                         | 6,6        | 7         | 9,7        | 0                                  | 0          | 2          | 1,5        |
| Обыкновенная слепушонка ( <i>Ellobius talpinus</i> Pall., 1770)       | 2                         | 2,2        | 8         | 11,1       | 0                                  | 0          | 0          | 0          |
| Степная пеструшка ( <i>Lagurus lagurus</i> Pall., 1773)               | 4                         | 4,4        | 5         | 6,9        | 0                                  | 0          | 1          | 0,8        |
| Водяная полевка ( <i>Arvicola amphibius</i> L., 1758)                 | 0                         | 0          | 0         | 0          | 1                                  | 0,7        | 0          | 0          |
| Полевка-экономка ( <i>Microtus oeconomus</i> Pall., 1776)             | 1                         | 1,1        | 1         | 1,4        | 6                                  | 4,3        | 3          | 2,3        |
| Узкочерепная полевка ( <i>M. gregalis</i> Pall., 1779)                | 39                        | 42,8       | 21        | 29,2       | 63                                 | 45,7       | 56         | 43,1       |
| Обыкновенная полевка ( <i>M. arvalis</i> Pall., 1779)                 | 4                         | 4,4        | 1         | 1,4        | 0                                  | 0          | 0          | 0          |
| Восточноевропейская полевка ( <i>M. levis</i> Miller, 1908)           | 1                         | 1,1        | 0         | 0          | 5                                  | 3,6        | 3          | 2,3        |
| Мышь-малютка ( <i>Micromys minutus</i> Pall., 1771)                   | 0                         | 0          | 0         | 0          | 7                                  | 5,1        | 21         | 16,2       |
| Полевая мышь ( <i>Apodemus agrarius</i> Pall., 1771)                  | 0                         | 0          | 0         | 0          | 3                                  | 2,2        | 6          | 4,6        |
| Малая лесная мышь ( <i>A. uralensis</i> Pall., 1811)                  | 3                         | 3,3        | 1         | 1,4        | 2                                  | 1,4        | 0          | 0          |
| <b>Всего</b>  | <b>91</b>                 | <b>100</b> | <b>72</b> | <b>100</b> | <b>138</b>                         | <b>100</b> | <b>130</b> | <b>100</b> |

В 2017 г. по сравнению с прошлым годом, не отмечены следующие виды: для зоны техногенной нагрузки – это крошечная бурозубка и восточноевропейская полевка, а для контрольной – водяная полевка и малая лесная мышь. Напротив, в 2017 г. зарегистрированы виды, не встреченные в 2016 г.: на контрольном участке – это средняя бурозубка, джунгарский хомячок и степная пеструшка, а в зоне техногенной нагрузки – обыкновенная бурозубка.

В сообществах зоны техногенной нагрузки соотношение долей видов мелких млекопитающих неравномерное (табл. 1). В 2016 г. самый высокий показатель доминирования отмечен для узкочерепной полевки (42,8 %) и степной мышовки (26,4 %). На долю остальных видов приходилось 30,8 %. Реже встречались краснощекий суслик, малая и крошечная бурозубки, полевка-экономка и восточноевропейская полевка, доля которых составляла по 1,1 %. В 2017 г. наблюдается незначительное выравнивание структуры доминирования сообществ, за счет увеличения численности тундряной бурозубки и обыкновенной слепушонки, на долю которых приходится по 11,1 %. Как и в прошлом году, самый высокий показатель доминирования отмечен для узкочерепной полевки (29,2 %) и степной мышовки (18,1 %). Единично встречались малая и обыкновенная бурозубки, краснощекий суслик, полевка-экономка, обыкновенная полевка и малая лесная мышь, доля которых составляла по 1,4 %.

При сравнении индексов доминирования мелких млекопитающих техногенных и контрольных зон показано, что доли видов распределены более равномерно в последних. В 2016 г. в контрольной зоне ( $K_k$ ) также, как и в зоне техногенной нагрузки доминировала узкочерепная полевка (45,7 %). Значительную долю занимали бурозубки – тундряная (18,1 %), малая (10,2 %) и обыкновенная (8,7 %). Меньшую долю имели мыши: полевая (2,2 %) и малая лесная (1,4 %) и водяная полевка (0,7 %). В 2017 г., так же, как и в прошлом году доминировала узкочерепная полевка (43,1 %), но в свою очередь увеличилось обилие мыши-малютки, индекс доминирования которой составил 16,2 %. Снизилось обилие у тундряной (12,3 %) и малой бурозубок (7,7 %), а доля обыкновенной бурозубки осталась примерно на том же уровне (8,5 %). Меньшую долю имели полевки: экономка и восточноевропейская (по 2,3 %). Реже встречались джунгарский хомячок (1,5 %), средняя бурозубка (0,8 %) и степная пеструшка (0,8 %), которые прошлом

году не были зарегистрированы на данной территории.

Биотопическое распределение и соотношение показателей численности доминирующего вида – узкочерепной полевки в зоне техногенной нагрузки неравномерное. Узкочерепная полевка лидирует только в типчаково-полянной степи с элементами древесной растительности в буферной зоне алюминиевого завода ( $B_6$ ) и фоновой зоне на западе от него ( $\Phi_9$ ,  $\Phi_{10}$ ). Реже встречается в полянно-ковыльной степи буферной зоны электролизного завода ( $B_7$ ) и разнотравно-полянной степи с элементами древесной растительности импактной зоны алюминиевого завода ( $I_1$ ,  $I_2$ ). В других участках отсутствует вовсе. Данные территории подвержены фрагментации местообитаний и их утраты в отдельные годы влияет на динамику и устойчивость видов, в данном случае на выживаемость молодняка узкочерепной полевки. Участки импактной и буферной зон алюминиевого завода отделены друг от друга рядом автомобильных дорог, постройками, отстойниками. Вследствие чего образуются локальные популяции узкочерепной полевки, не имеющие возможности к миграциям и заселению пограничных местообитаний. Происходит снижение численности данного вида не только в импактной зоне алюминиевого завода, но и в импактной и буферной зонах электролизного завода вплоть до ее отсутствия. На контрольной территории ( $K_k$ ) значительных нарушений местообитаний нет, поэтому узкочерепная полевка встречается и доминирует во всех представленных биотопах.

Анализ морфологических различий узкочерепной полевки (таблица 2) из контрольных территорий и зон техногенной нагрузки показал, что на территориях, подверженных влиянию выбросов промышленных предприятий, половозрелые сеголетки имеют меньший вес, достоверно как у самок ( $P<0,001$ ), так и у самцов ( $P<0,001$ ), а также меньшую длину тела у самок ( $P<0,001$ ) и у самцов ( $P<0,05$ ), хвоста у самок ( $P<0,001$ ) и у самцов ( $P<0,05$ ) и ступни у самок ( $P<0,01$ ) и у самцов ( $P<0,001$ ), чем на контрольных территориях. Неполовозрелые сеголетки также имеют достоверно меньшую длину тела у самок ( $P<0,001$ ) и у самцов ( $P<0,01$ ), кроме того для самцов характерна меньшая длина хвоста ( $P<0,01$ ) и ступни ( $P<0,001$ ), а по массе значительных различий нет. У перезимовавших самцов в зоне техногенной нагрузки масса и длина тела больше, чем на контрольных территориях. Возможно, эти данные не достоверны, так как

из-за недостаточной выборки сделать законо-мерный вывод не представляется возможным. Перезимовавшие самки из зон техногенной нагрузки имеют достоверно меньший вес ( $P<0,01$ ), длину тела ( $P<0,001$ ), хвоста ( $P<0,001$ ) и ступни ( $P<0,01$ ), чем животные с контрольных участков (Карасукского и Бийского).

Известно, что влияние техногенных факторов загрязнения токсикантами и трансформация среды обитания являются одними из значительных среди внешних факторов, влияющих на изменение метаболизма животных. В таких условиях обитания у животных происходит модификация процессов метаболизма, что выражается в изменении некоторых биохимических

параметров организма, в том числе и их морфологической структуры. Могут наблюдаться уменьшения средней длины и массы тела (Катаев, 1984: 92; Мухачева, 1996:22; Лукьянова, 1998: 697).

Таким образом, сравнительный анализ морфометрических признаков показал снижение размерных показателей длины тела и массы узкочерепных полевок на техногенных территориях по сравнению с контрольными. Возможно, это является следствием интенсификации обменных процессов, необходимых для нейтрализации и выведения ингредиентов загрязнения, и значительных энергетических затрат, необходимых для выживания полевок.

**Таблица 2 – Межпопуляционная морфологическая изменчивость узкочерепной полевки техногенной и контрольной территорий**

| Возраст                           | Зона (кол-во животных) | Пол   | Масса тела | Длина тела  | Длина хвоста | Длина ступни |
|-----------------------------------|------------------------|-------|------------|-------------|--------------|--------------|
| Sen (перезимовавшие)              | T (2)                  | самец | 39,98±2,25 | 117,54±2,16 | 28,88±3,12   | 16,13±0,64   |
|                                   | K <sub>к</sub> (24) *  |       | 35,16±0,96 | 116,61±0,68 | 30,29±0,53   | 16,64±0,18   |
|                                   | K <sub>б</sub> (13)    |       | -          | 118,39±1,90 | 28,12±0,99   | 16,42±0,26   |
|                                   | T (2)                  | самка | 28,15±0,81 | 99,75±2,75  | 24,05±0,85   | 14,2±0,4     |
|                                   | K <sub>к</sub> (8)     |       | 33,46±0,81 | 116,62±2,11 | 27,36±0,73   | 16,21±0,27   |
|                                   | K <sub>б</sub> (6)     |       | -          | 120,5±1,59  | 32,08±0,74   | 15,7±0,22    |
| Ad (сеголетки половозрелые)       | T (12)                 | самец | 21,14±1,04 | 95,47±2,45  | 25,36±0,82   | 15,73±0,21   |
|                                   | K <sub>к</sub> (29)    |       | 24,52±0,62 | 103,04±1,52 | 29,61±0,55   | 16,59±0,13   |
|                                   | K <sub>б</sub> (19)    |       | -          | 100,68±1,77 | 24,92±0,39   | 15,58±0,17   |
|                                   | T (14)                 | самка | 18,73±1,25 | 91,63±2,45  | 25,42±0,72   | 14,52±0,18   |
|                                   | K <sub>к</sub> (54)    |       | 23,94±0,72 | 102,51±1,16 | 27,32±0,41   | 15,49±0,09   |
|                                   | K <sub>б</sub> (21)    |       | -          | 94,71±1,51  | 23,90±0,54   | 14,95±0,13   |
| Subad (сеголетки не половозрелые) | T (27)                 | самец | 14,07±0,76 | 83,94±1,65  | 20,69±0,74   | 14,71±0,21   |
|                                   | K <sub>к</sub> (116)   |       | 13,34±0,27 | 85,48±0,58  | 23,15±0,24   | 15,49±0,06   |
|                                   | K <sub>б</sub> (13)    |       | -          | 95,59±1,15  | 24,5±0,90    | 15,28±1,16   |
|                                   | T(13)                  | самка | 12,15±1,42 | 79,10±3,13  | 25,27±4,15   | 14,64±0,21   |
|                                   | K <sub>к</sub> (92)    |       | 12,19±0,23 | 83,94±0,65  | 22,36±0,25   | 15,01±0,08   |
|                                   | K <sub>б</sub> (17)    |       | -          | 91,06±1,27  | 21,72±0,34   | 14,94±0,19   |

Примечание: Т – зона техногенной нагрузки. Контрольная зона: K<sub>к</sub> – Карасукский участок; K<sub>б</sub> – Бийский участок.

\* Данные по контрольной зоне K<sub>к</sub> взяты из статьи Дупал Т.А. и Абрамова С.А. (Дупал, 2010: 858).

## Выводы

Исследование населения грызунов и насекомоядных одновременно на двух территориях выявило девять общих видов мелких млекопитающих. В зоне техногенной нагрузки отмечено 15 видов, шесть из которых не встречены в этот период на контрольной территории (Кк). В контрольной зоне (Кк) за два года зарегистрировано 13 видов, из которых средняя бурозубка, водяная полевка, мышь-малютка и полевая мышь не отмечены в зоне техногенной нагрузки. Кроме того, в Павлодарской области нами обнаружен новый вид для региона – восточноевропейская полевка (*Microtus levis* Miller, 1908).

В зоне техногенной нагрузки нарушена структура доминирования, а соотношение долей видов в сообществах мелких млекопитающих

неравномерное. Доминируют узкочерепная полевка и степная мышовка.

Территория техногенной нагрузки подвержена сильной нарушенности и фрагментации ландшафтов, что приводит к исчезновению отдельных местообитаний, образованию локальных популяций и в конечном итоге к снижению численности видов.

Наблюдается закономерное снижение размерных показателей длины тела и веса узкочерепных полевок на техногенных территориях, что является следствием интенсификации обменных процессов и значительных энергетических затрат.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ: гранты № 17-04-00269, № 16-04-00301.*

## Литература

- 1 Holland R. Air pollution as affecting plant life // Manchester and Salford Noxious Vapours Abatement Association Lectures on Air Pollution. – Manchester. – 1888. – P. 111-125.
- 2 Haselhoff E., Lindau G. Die Beschädigung der Vegetation durch Rauch. Handbuch zur Erkennung und Beurteilung von Rauchschäden. – Leipzig: Gebrüder Borntraeger. – 1903. – 412 p.
- 3 Stoklasa J. Die Beschädigung der Vegetation durch Rauchgase und Fabriksexhalationen. – Berlin, Vienna: Urban und Schwarzenberg. – 1923. – XXIV. – 487 p.
- 4 Freedman B. Environmental ecology. The impacts of pollution and other stresses on ecosystem structure and function. – San Diego: Acad. Press. – 1989. – 424 p.
- 5 Woodwell G.M. Effects of pollution on structure and physiology of ecosystems // Science. – 1970. – Vol. 168, No 3930. – P. 429-433.
- 6 Smith W.H. Air pollution and forests. Interactions between air contaminants and forest ecosystems. N.Y. et al.: Springer Verlag. – 1981. 378 p.
- 7 Odum E.P. Trends expected in stressed ecosystems // Bioscience. – 1985. – Vol. 35, No 7. – P. 419-422.
- 8 Rapport D.J., Whitford W.G. How ecosystems respond to stress – Common properties of arid and aquatic systems // Bioscience. – 1999. – Vol. 49, No 3. – P. 193-203.
- 9 Hanski I. The Shrinking World: Ecological Consequences of Habitat Loss. – Oldendorf/Luhe, Germany: International Ecology Institute. – 2005. – 307 p.
- 10 Земляной А.А. Влияние техногенного загрязнения на некоторые морфофизиологические индикаторы мелких млекопитающих // Материалы IV Межд. научной конф. «Биоразнообразие и роль животных в экосистемах». – Днепропетровск: Изд-во Днепропетровский Национальный университет. – 2007. – С. 484–485.
- 11 Daniel J.O'Brien, Kaneene J.B., and Poppenga R.H. The use of mammals as sentinels for human exposure to toxic contaminants in the environment // Environmental Health Perspectives. – 1993. – Vol. 99. – P. 351-368.
- 12 Guillermo E.-R., Gonzalez-Mille D.J., Ilizaliturri-Hernandez C.A., et al. Effect of mining in biotic communities of villa de la Paz San Luis Potosi, Mexico // BioMed Research International. – 2014. – 13 p. DOI: org/10.1155/2014/65046.
- 13 Rodriguez-Estival J., Smits J.T.G. Small mammals as sentinels of oil sands related contaminants and health effects in north-eastern Alberta, Canada // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2016. – No 124. – P.285-295.
- 14 Cullen P. Biomonitoring and environmental management: Int. Symp. Bionit. State Environ // Environ Monit And Assessment. – 1990. – Vol. 14, No 2-3. – P. 107-114.
- 15 Пудов А.М., Мукашева М.А., Блялев С.А., Пудов И.М., Мукашева Г.Ж. Мышевидные грызуны как биоиндикаторы мониторинга популяций в Каркаралинском государственном национальном природном парке // Вестник КарГУ. Серия «Биология, медицина, география». – 2013. – № 1. – С. 18–23.
- 16 Магда И.Н., Понявкиной А.Г., Лопатина О.Е., Корнелюк А.И., Шаймарданова Р.Т. К оценке состояния индикаторных видов мелких млекопитающих в прибрежных биотопах рек Жетысу // Вестник КазНУ. Серия «Экологическая». – 2014. – №1. – С. 313–319.
- 17 Аталикова А.С. Оценка и биомониторинг негативного воздействия на окружающую среду Темиртауского промышленного комплекса. – Автореф. дис. ... канд. биолог. наук. – Алматы: CopyLand. – 2009. – 20 с.

- 18 Воробейчик Е. Л., Козлов М. В. Воздействие точечных источников эмиссии поллютантов на наземные экосистемы: методология исследований, экспериментальные схемы, распространенные ошибки // Экология. – 2012. – № 2. – С. 83–91.
- 19 Ибрагимов А.Т., Будон С.В. Развитие технологии производства глинозема из бокситов Казахстана. – Павлодар: ТОО «Дом печати». – 2010. – 299 с.
- 20 Панин М.С., Гельдымамедова Э.А. Эколого-геохимическая характеристика почв г. Павлодара Республики Казахстан // Вестник Томского государственного университета. – 2006. – № 292. – С. 171–177.
- 21 Ибрагимов А.Т., Пак Р.В. Электрометаллургия алюминия. Казахстанский электролизный завод. – Павлодар, ТОО «Дом печати». – 2009. – 261 с.
- 22 Мухачева С.В. Особенности питания рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*, Shreber, 1780) в условиях техногенного загрязнения среды обитания // Сибирский экологический журнал. – 2005. – № 3. – С. 523–533.
- 23 Литвинов Ю.Н. и др. Сообщества и популяции животных: морфологический и экологический анализ (Труды института систематики и экологии животных СО РАН, вып. 46). – Новосибирск-Москва: Товарищество научных изданий КМК. – 2010. – 556 с.
- 24 Павлинов И.Я. Наземные звери России // Справочник-определитель. – М., 2002. – С. 25–214.
- 25 Дупал Т.А., Сергазинова З.М., Ержанов Н.Т., Литвинов Ю.Н. Предварительный анализ изменений структуры сообществ мелких млекопитающих под влиянием промышленных загрязнений в условиях Северного Казахстана // Сибирский экологический журнал – 2017. – Т. 24, № 6. – С. 789–797. DOI 10.15372/SEJ 201706010
- 26 Плохинский Н.А. Биометрия. – Новосибирск: изд-во СО АН СССР. – 1961. – 364 с.
- 27 Катаев Г.Д. Мелкие млекопитающие – индикаторы антропогенного воздействия в условиях Кольского Севера // Влияние промышленных предприятий на окружающую среду. – Пущино: Наука. – 1984. – С. 90–93.
- 28 Мухачева С.В. Экотоксикологические особенности и структура населения мелких млекопитающих в градиенте техногенного загрязнения среды: автореф. дис ... канд. биол. наук. – Екатеринбург: ИЭРиЖ УрО РАН. – 1996. – 22 с.
- 29 Лукьянова Л.Е., Лукьянов О.А. Реакция сообществ и популяций мелких млекопитающих на техногенные воздействия. II. Популяции (Рыжая полевка как модель) // Успехи современной биологии. – 1998. – Т. 118, вып. 6. – С. 693–706.
- 30 Wilson D.E., Reeder D.M. (editors). *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd ed), Johns Hopkins University Press. 2,142. [Электрон. ресурс] – 2005. – URL: <http://www.departments.bucknell.edu> (дата обращения: 20.11.2017).
- 31 Дупал Т.А., Абрамов С.А. Внутрипопуляционная морфологическая изменчивость узкочерепной полевки (*Microtus gregalis*, Rodentia, Arvicolinae) // Зоологический журнал. – 2010. – Т.89, №7. – С. 850–861.

## References

- 1 Cullen P. (1990) Biomonitoring and environmental management: Int. Symp. Bionit. State Environ. Environ Monit And Assessment, 14, no 2-3, pp. 107-114.
- 2 Daniel J.O'Brien, Kaneene J.B., Poppenga R.H. (1993) The use of mammals as sentinels for human exposure to toxic contaminants in the environment. Environmental Health Perspectives, vol. 99, pp. 351-368.
- 3 Freedman B. (1989) Environmental ecology. The impacts of pollution and other stresses on ecosystem structure and function. San Diego: Acad. Press, 424 p.
- 4 Guillermo Espinosa-Reyes, Gonzalez-Mille D.J., Ilizaliturri-Hernandez C.A., et al (2014) Effect of mining in biotic communities of villa de la Paz San Luis Potosi, Mexico. BioMed Research International, 13 p. DOI: org/10.1155/2014/65046.
- 5 Haselhoff E., Lindau G. (1903) Die Beschädigung der Vegetation durch Rauch. Handbuch zur Erkennung und Beurteilung von Rauchschäden [The damage of the vegetation by smoke. Manual for the detection and assessment of smoke damage]. Leipzig: Gebrüder Borntraeger, 412 p.
- 6 Holland R. (1888) Air pollution as affecting plant life. Manchester and Salford Noxious Vapours Abatement Association Lectures on Air Pollution. Manchester, pp. 111-125.
- 7 Hanski I. (2005) The Shrinking World: Ecological Consequences of Habitat Loss. Oldendorf/Luhe. Germany International Ecology Institute, 307 p.
- 8 Odum E.P. (1985) Trends expected in stressed ecosystems. Bioscience, vol. 35, no 7, pp. 419-422.
- 9 Rapport D.J., Whitford W.G. (1999) How ecosystems respond to stress – Common properties of arid and aquatic systems. Bioscience, vol. 49, no 3, pp. 193-203.
- 10 Rodriguez-Estival Jaime, Smits Judit T.G. (2016) Small mammals as sentinels of oil sands related contaminants and health effects in northeastern Alberta, Canada. Ecotoxicology and Environmental Safety, no 124, pp. 285-295.
- 11 Smith W.H. (1981) Air pollution and forests. Interactions between air contaminants and forest ecosystems. N.Y. et al.: Springer Verlag. – 378 p.
- 12 Stoklasa J. (1923) Die Beschädigung der Vegetation durch Rauchgase und Fabriksexhalationen [The damage of vegetation by fumes and factory exhalations]. Berlin, Vienna: Urban und Schwarzenberg, XXIV. – 487 p.
- 13 Wilson D.E., Reeder D.M. (2005) *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd ed), Johns Hopkins University Press. 2,142. URL: <http://www.departments.bucknell.edu>
- 14 Woodwell G.M. (1970) Effects of pollution on structure and physiology of ecosystems. Science, vol. 168, no 3930, pp. 429-433.
- 15 Atalikova A.S. (2009) Otsenka i biomonitoring negativnogo vozdeistviia na okruzhaiushchuiu sredu Temirtauskogo promyshlennogo kompleksa [Assessment and biomonitoring of the negative impact on the environment of the Temirtau industrial complex]. Avtoref. dis. ... kand. biolog. nauk., Almaty, CopyLand, 20 p.

- 16 Vorobeichik E.L., Kozlov M.V. (2012) Vozdeistvie tochechnykh istochnikov emissii pollyutantov na nazemnye ekosistemy: metodologiya issledovanii, eksperimental'nye skhemy, rasprostranennye oshibki [The impact of point sources of pollutant emissions on terrestrial ecosystems: research methodology, experimental schemes, common mistakes]. Ekologiya, no 2, pp. 83-91.
- 17 Dupal T.A., Abramov S.A. (2010) Vnutripopulatsionnaia morfologicheskaiia izmenchivost' uzkocherepnoi polevki (*Microtus gregalis*, Rodentia, Arvicolinae) [Intrapopulation morphological variability of the narrow-skulled vole (*Microtus gregalis*, Rodentia, Arvicolinae)]. Zoologicheskii zhurnal, T.89, no 7, pp. 850-861.
- 18 Dupal T.A., Sergazinova Z.M., Erzhanov N.T., Litvinov Yu.N. (2017) Preliminary Assessment of Changes in the Structure of Small Mammal Communities Caused by Industrial Pollution in the North Kazakhstan Region, Contemporary Problems of Ecology, no 6, pp. 700-706. DOI 10.15372/ SEJ201706010.
- 19 Zemlianoi A.A. (2007) Vliianie tekhnogenogo zagrizneniiia na nekotorye morfofiziologicheskie indikatory melkikh mlekopitaiushchikh [Influence of technogenic pollution on some morphophysiological indicators of small mammals]. Materialy IV Mezhd. nauchnoi konf. «Bioraznoobrazie i rol' zhivotnykh v ekosistemakh». Dnepropetrovsk: Dnepropetrovsk National University, pp. 484-485.
- 20 Ibragimov A.T., Budon S.V. (2010) Razvitie tekhnologii proizvodstva glinozema iz boksitov Kazakhstana [Development of alumina production technology from bauxite in Kazakhstan]. Pavlodar: TOO «Dom pechatii», 299 p.
- 21 Ibragimov A.T., Pak R.V. (2009) Elektrometallurgija aliuminiia. Kazakhstanskii elektroiliznyi zavod [Electrometallurgy of aluminum. Kazakhstan electrolysis plant]. Pavlodar: TOO «Dom pechatii», 261 p.
- 22 Kataev G.D. (1984) Melkie mlekopitaiushchie – indikatory antropogennogo vozdeistviia v usloviakh Kol'skogo Severa. Vliianie promyshlennyykh predpriiatii na okruzhaiushchuiu sredu [Small mammals - indicators of anthropogenic impact in the conditions of the Kola North, Influence of industrial enterprises on the environment]. Pushchino: Nauka, pp. 90-93.
- 23 Animal communities and populations: morphological and ecological analysis. Litvinov Yu.N. editors. In: Trudy instituta sistematiki i ekologii zhivotnykh SO RAN, Novosibirsk-Moskva: Tovarishchestvo nauchnykh izdanii KMK, vol. 46, 256 p.
- 24 Luk'ianova L.E., Luk'ianov O.A. (1998) Reaktsiiia soobshchestv i populiatsii melkikh mlekopitaiushchikh na tekhnogenyye vozdeistviia. II. Populiatsii (Ryzhaia polevka kak model') [The reaction of communities and populations of small mammals to man-caused impacts. II. Populations (Red vole as a model)]. Uspekhi sovremennoi biologii, T. 118, vol. 6, pp. 693-706.
- 25 Magda I.N., Poniavkinoi A.G., Lopatina O.E., Korneliuk A.I., Shaimardanova R.T. (2014) K otsenke sostoianiia indikatornykh vidov melkikh mlekopitaiushchikh v pribrezhnykh biotopakh rek Zhetyusu. [To an assessment of the status of indicator species of small mammals in the coastal biotopes of the Zhetyusu rivers]. Vestnik KazNU, Seriia «Ekologicheskaiia», no 1, pp. 313-319.
- 26 Mukhacheva S.V. (2005) Osobennosti pitaniia ryzhei polevki (*Cletrionomys glareolus*, Shreber, 1780) v usloviakh tekhnogenogo zagrizneniiia sredy obitaniia [Features feeding red voles (*Cletrionomys glareolus*, Shreber, 1780) in conditions of technogenic pollution of habitat]. Sibirskii ekologicheskii zhurnal, no 3, pp. 523-533.
- 27 Mukhacheva S.V. (1996) Ekotoksikologicheskie osobennosti i struktura naseleniya melkikh mlekopitaiushchikh v gradiente tekhnogenogo zagrizneniiia sredy [Ecotoxicological features and structure of the population of small mammals in the gradient of technogenic pollution of the environment]. Avtoref. dis. ... kand. biolog. nauk., Ekaterinburg, 22 p.
- 28 Pavlinov I.Ya. (2002) Nazemnye zveri Rossii. Spravochnik-opredelitel' [Terrestrial beasts of Russia, Reference guide]. Moscow, 304 p.
- 29 Panin M.S., Gel'dymamedova E.A. (2006) Ekologo-geokhimicheskaiia kharakteristika pochv g. Pavlodara Respubliki Kazakhstan [Ecological and geochemical characteristics of soils in Pavlodar, Republic of Kazakhstan]. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta, no 292, pp. 171-177.
- 30 Plokhsinskii N.A. (1961) Biometriia [Biometrics]. Novosibirsk: SO AN USSR, 364 p.
- 31 Pudov A.M., Mukasheva M.A., Blialev S.A., Pudov I.M., Mukasheva G.Zh. (2013) Myshevidnye gryzuny kak bioindikatory monitoringa populiatsii v Karkaralinskem gosudarstvennom natsional'nom prirodnom parke [Mouse rodents as bioindicators of population monitoring in the Karkaralinsky national natural park]. Vestnik KarGU. Seriia «Biologii, meditsina, geografii», no 1, pp. 18-23.

3-бөлім  
**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

---

Раздел 3  
**БИОТЕХНОЛОГИЯ**

---

Section 3  
**BIOTECHNOLOGY**

МРНТИ 62.33.29

**Толембетова А.К.<sup>1</sup>, Турашева С.К.<sup>2</sup>, Иманбаева А.А.<sup>4</sup>,  
Ерназарова Г.И.<sup>5</sup>, Серикова З.Б.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>студентка магистратуры, e-mail: tulembetova56@bk.ru

<sup>2</sup>кандидат биологических наук, доцент, e-mail: svetlana.turasheva@kaznu.kz

<sup>3</sup>кандидат биологических наук, доцент, e-mail: gulzira.yernazarova@kaznu.kz

<sup>4</sup>студентка бакалавриата

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

<sup>5</sup>кандидат биологических наук, Мангышлакский экспериментальный ботанический сад,  
Казахстан, г. Актау, e-mail: imangarden@mail.ru

## **МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ КОММЕРЧЕСКИХ СОРТОВ РОЗ *IN VITRO***

С целью размножения посадочного материала гибридных и коммерческих сортов роз казахстанской селекции, адаптированных к аридным регионам Западного Казахстана была использована технология микроклонального размножения *in vitro*. Для введения гибридных и сортовых роз в культуру *in vitro* узловые сегменты с пазушными почками, а также сегменты междуузлий, взятые с растений, активно вегетирующих в Мангышлакском экспериментальном ботаническом саду изолировали в асептических условиях. Стерилизация путем обработки эксплантов 10% раствором перекиси водорода в течение 8 минут оказалась наиболее эффективной, по сравнению с обработкой эксплантов в 70% этианоле (20 сек.) и последующей 5-минутной экспозицией в 5% гипохлориде натрия. При использовании такого способа дезинфекции выход жизнеспособных эксплантов был максимальным и составлял 68,4%. Клонирование роз осуществлялось на различных вариантах модифицированной по фитогормонам питательной среде Мурасиге-Скуга. Наибольшее количество микроклонов образовывалось на среде МС, содержащей 3 мг/л БАП и 0,5 мг/л 2,4-Д. В качестве антиоксиданта в состав среды МС было добавлено 0,5 мг/л аскорбиновой кислоты. Для укоренения микрочеренков применялась среда МС с 2 мг/л ИУК. Коэффициент размножения при таких условиях равнялся 4. Данный оптимизированный протокол рекомендуется для интродукции декоративных гибридных и коммерческих сортов роз, для дальнейшего озеленения прикаспийского региона.

**Ключевые слова:** роза (*Rosa L.*), микроклональное размножение, *in vitro*, регуляторы роста.

Tolembetova A.K.<sup>1</sup>, Turasheva S.K.<sup>2</sup>, Imanbaeva A.A.<sup>4</sup>,  
Ernazarova G.I.<sup>5</sup>, Serikova Z.B.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>master student, e-mail: tulembetova56@bk.ru

<sup>2</sup>candidate of biological sciences, associate professor, e-mail: svetlana.turasheva@kaznu.kz

<sup>3</sup>candidate of biological sciences, associate professor, e-mail: gulzira.yernazarova@kaznu.kz

<sup>4</sup>bachelor student

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>5</sup>candidate of biological sciences, Mangishlak experimental botanic garden,  
Kazakhstan, Aktau, e-mail: imangarden@mail.ru

### **Microclonal propagation *in vitro* of commercial varieties of rose**

To propagate the seedling of hybrid and commercial varieties roses of Kazakhstan breeding, adapted to the arid regions of Western Kazakhstan, the microclonal propagation *in vitro* technology was used. For introduce hybrid roses in *in vitro* culture, the nodal segments with axillary buds, as well as the internode segments taken from plants actively growing in Mangishlak experimental botanic garden, were isolated in aseptic conditions. Sterilization by treating the explants with a 10% solution of hydrogen peroxide for

8 minutes was the most effective, than its treatment by 70% ethanol (20 sec.) and subsequent 5-minute exposure in 5% sodium hypochlorite. Due to this method of disinfection, the yield of viable explants was maximal – 68.4%. Cloning of roses was carried out on different variants of Murashige-Skug medium modified by phytohormones. The greatest number of microclones was obtained on MS medium containing 3 mg/l BAP and 0.5 mg/l NAA. Ascorbic acid (0.5 mg/l) was added into MC medium as an antioxidant. For rooting was used MC medium with 2 mg/l IAA. The multiplication rate in this case was 4. This optimized protocol is recommended for the introduction of commercial varieties of roses, as well as for gardening of the Caspian region.

**Key words:** rose (Rose L.), microclonal propagation, *in vitro*, plant growth regulators

Төлембетова Э.К.<sup>1</sup>, Турашева С.К.<sup>2</sup>, Иманбаева А.А.<sup>3</sup>,  
Ерназарова Г.И.<sup>4</sup>, Серикова З.Б.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>магистратура студенті, e-mail: tulembetova56@bk.ru

<sup>2</sup>биология ғылымдарының кандидаты, доцент, e-mail: svetlana.turasheva@kaznu.kz

<sup>4</sup>биология ғылымдарының кандидаты, доцент, e-mail: gulzira.yernazarova@kaznu.kz

<sup>5</sup>бакалавриат студенті,

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

<sup>3</sup>биология ғылымдарының кандидаты, Манғыстау эксперименталдық ботаникалық бағы,  
Қазақстан, Ақтау қ., e-mail: imangarden@mail.ru

### Раушангүлдердің коммерциялық сұрыптарын *in vitro* микроклондық көбейту

Батыс Қазақстанның құрғақ аймақтарына бейімделген раушангүлдердің будан және коммерциялық сұрыптарының көшет материалдарын көбейту мақсатында, *in vitro* микроклондық көбейту технологиясы қолданылды. Маңғышлақ, эксперименталдық ботаникалық бағында өсіп жатырған раушангүлдердің қолтық бүршік бар бұтақ сегменттері мен буынаралық сегменттерін, аспептикалық жағдайда сұрыптарды және гибридтіраушангүлдерді *in vitro* жағдайда енгізу үшін оқшаулап алғынды. Эксплантты 70% этанол (20 секунд) және 5% натрий гипохлоридімен (5 минут) өндөумен салыстырғанда, 8 минут бойы 10% сутек асқын тотығы ертіндісімен заарсыздандыру ең тиімді болды. Бұл әдісті қолданған кезде экспланттың өмір сүру шығуы максималды болды және 68,4% құрады. Раушангүлдердің клондық көбеюі фитогормондармен өзгертіп модифицирленген Мурасиге-Скуг (МС) қоректік ортасының әртүрлі нұсқаларында жүзеге асырылды. Микроклондардың ең көп саны 3 мг/л БАП және 0,5 мг/л 2,4-Д құрайтын МС ортасында құрылды. Антиоксидант ретінде МС ортасына 0,5 мг/л аскорбин қышқылы қосылды. Микробұтақтарды тамырландыру үшін 2 мг/л ИСҚ қосылған МС ортасы пайдаланылды. Осындағы жағдайларда көбейту коэффициенті 4-ті құрады. Бұл онтайландырылған регламент Каспий аймағын одан әрі қөгалдандыру үшін сәндік гибридті және раушангүлдердің коммерциялық сұрыптарын енгізу үшін ұсынылады.

**Түйін сөздер:** раушангүл (Rosa L.), микроклондық көбейту, *in vitro*, өсу реттегіштері.

## Введение

В последнее время в связи с ростом числа городов и новостроек в Западном и Центральном Казахстане появляется необходимость в создании зеленых насаждений, из которых формируются скверы, парки, аллеи и групповые посадки. Для озеленения территории в общественных местах используются хвойные и лиственные деревья, кустарники, а также большое разнообразие цветочных декоративных растений, которые выполняют не только эстетическую функцию, но и создают определенный микроклимат. Из-за сурового климата, крайне неблагоприятного для роста и развития растений (резкие перепады температур, высокая солнечная инсоляция в сочетании с засоленностью почв и дефицитом влаги) Западный Казахстан от-

личается ограниченным составом аборигенной дендрофлоры и декоративной растительности, что обуславливает необходимость интродукции и акклиматизации растений для дальнейшего проведения озеленительных работ. В вопросах зеленого строительства в рамках национальной программы «Жасыл ел» в аридных зонах прикаспийского региона крупные цветоводческие хозяйства и экспериментальные ботанические сады отдают предпочтение розам, в частности, наиболее ценным сортам чайно-гибридных, полуплетистых и роз, принадлежащих к садовой группе флорибунда. Большинство сортов роз традиционно размножается черенками, прививается на рассаду или клональные подвои. Однако прививка является дорогостоящей процедурой, и традиционное разведение является трудоемким процессом. Биотехнология стала одной из

альтернатив традиционным методам размножения роз (Nitish K., 2011: 61-72). Повышение эффективности селекционной и семеноводческой работы связано с использованием клеточных технологий и, в частности, микроклонального размножения *in vitro*. Этот метод позволяет в короткие сроки размножить уникальные генотипы (отдаленные гибриды, селекционные образцы, формы, полученные с использованием биоинженерных приемов) и ускорить внедрение новых сортов в производство (Ruzic D., 2006: 149-153, Saxena G., 2000: 133-140). Важным преимуществом микроклонального размножения является то, что посадочный материал, получаемый этим методом, генетически идентичен давшему ему начало растению. По сравнению с традиционными методами данный биотехнологический метод позволяет получать оздоровленный от грибных и бактериальных патогенов, вирусных, микоплазменных и нематодных инфекций посадочный материал, а также достичь высокого коэффициента размножения, т.к. при клональном микроразмножении можно получить до 100 000 клонов в год, тогда как при обычном – всего 50-100 растеней за тот же срок (Das P., 2010: 70-78, Pratar K.P., 2006: 94-114). Немаловажным является также и возможность сокращения продолжительности селекционного процесса, клеточные технологии позволяют проводить работы в течение года, независимо от климатических условий и экономить площади, необходимые для выращивания посадочного материала. Высокая экономическая эффективность технологии показана во многих европейских странах, которые удовлетворяют ежегодно растущий коммерческий спрос на декоративные цветочные растения, используя метод микроклонального размножения для массового тиражирования посадочного материала декоративных растений (Kim S.W., 2009: 199-203, Khosravi P., 2007: 100-104, Nak-Udom N., 2009: 583-586). В Казахстане ландшафтный дизайн и разведение коммерческих сортов декоративных цветочных растений развиты слабо ввиду отсутствия рентабельной и универсальной технологии, основанной на регламенте массового тиражирования и быстрого воспроизведения качественного посадочного материала декоративных растений, которая являлась бы альтернативой обычным трудоемким методам размножения. Данная статья посвящена разработке эффективных способов ускоренного размножения гибридов и коммерческих сортов роз казахстанской селекции на основе метода микроклонального размножения *in vitro*.

## Материалы и методы исследования

Объектами исследования являлись коммерческие сорта роз казахстанской селекции: «Кольхозница», «Былина», «Казахстанская Юбилейная», «Алма-Атинская ароматная», «Ак-ку». Исходный материал собран весной с опытного участка Мангышлакского экспериментального ботанического сада (МЭБС) в период активной вегетации.

Данные сорта характеризуются следующими свойствами:

**Кольхозница** – авторы сорта К.Л. Сушкин, М.В. Бессчетнова, 1959. В МЭБС с 1980 г. получены из Главного ботанического сада г. Алматы. В коллекции 12 экз. Кусты роз высокие, до 1 м высоты, здоровые, листья крупные, кожистые. Бутоны длинные, острые. Цветки розовые с лиловатыми оттенками, крупные (11-12 см), махровые (до 45 лп.), душистые, большей частью одиночные. Цветение обильное, продолжительное время сохраняют декоративность. Зимостойкость средняя, слабо поражается мучнистой росой. Сорт замечателен яркой окраской цветка, устойчивостью в срезе. Рекомендуется для массового озеленения.

**Былина** – авторы сорта К.Л. Сушкин, М.В. Бессчетнова, 1961. В МЭБС с 1979 г. получены из Главного ботанического сада г. Алматы. В коллекции 17 экз. Кусты роз сильнорослые, до 1 м высоты, густые, молодые побеги пурпуровые с лиловым оттенком. Листья крупные, темно-зеленые, молодые листья пурпуровые. Бутоны овальные, распускаются медленно. Цветки светло-лилово-красные, пышные, с красивой раскладкой лепестков, высоким центром, крупные (10-13 см), махровые (40 лп.), со слабым специфическим ароматом, в соцветиях по 3-7, на прочных цветоносах. Цветение дружное и продолжительное. Зимостойкий. Не поражается грибными болезнями. Перспективен для срезки и групп.

**Казахстанская Юбилейная** – авторы сорта К.Л. Сушкин, М.В. Бессчетнова, 1958. В МЭБС привлечен в 1985 г. из Главного ботанического сада г. Алматы. В коллекции 30 экз. Кусты невысокие, 65-75 см высоты, листья крупные, темно-зеленые, молодые пурпуровые. Бутоны длинные, острые, распускаются медленно. Цветки темно-красные, с черно-бархатистым оттенком, крупные (10-14 см), махровые (до 60 лп.), со слабым ароматом, большей частью одиночные. В сильную жару выгорает. Зимостойкость средняя. Слабо поражается мучнистой росой. Сорт

хорош для групповых посадок, среза и выгонки.

*Алма-Атинская Ароматная* – авторы сорта К.Л. Сушков, М.В. Бессчетнова, 1959. В МЭБС с 1979 г. получены из Главного ботанического сада г. Алматы. В настоящее время в коллекции 11 экз. Кусты роз сильнорослые, 70-80 см высоты, прямые. Листья крупные, кожистые. Бутоны длинные. Цветки светло-розовые с желтизной, на обороте лилово-розовые, чашевидные, крупные (10-13 см), густомахровые (до 80 лп.), душистые, большей частью одиночные. Цветение умеренное до обильного. Зимостойкий, устойчив к грибным болезням. Сорт перспективен для декоративного оформления и срезки.

*Ак-ку* – сорт получен из Иссыкского дендрария, в МЭБС с 2006 г. В коллекции 23 экз. Кусты роз невысокие, 65-73 см высоты, плотные, хорошо облиственные, листья некрупные, блестящие. Бутоны овальные. Цветки бархатисто-красные, средней величины (8-9 см), махровые (37-43 лп.), с тонким ароматом, устойчивый, не выгорает в жару. Цветение обильное, зимостойкий. Рекомендуется для срезки и групповых посадок (Бессчетнова М.В., 1979: 120).

Обязательным условием микроклонального размножения является использование эксплантов, полностью сохраняющих генетическую стабильность. Этому условию удовлетворяют почки органов стеблевого происхождения. Для использования метода микроклонального размножения, основанного на активации пазушных почек, с активно вегетирующими растениями отбирали узловые сегменты с пазушными почками и сегменты междуузлий. Побеги предварительно разрезали на фрагменты длиной 3-4 см, промывали мыльным раствором в течение 5-6 минут, проточной водой и затем несколько раз ополаскивали дистиллиированной водой.

Для поиска оптимального режима стерилизации были применены одно- и двуступенчатые варианты стерилизации, различающиеся по времени обработки и типом стерилизующего агента. В первом случае, экспланты стерилизовали путем обработки 10% раствором перекиси водорода в течение 8 минут. Во втором случае, экспланты погружали на 20 секунд в 70% этиanol, затем на 20 минут в 5% раствор гипохлорита натрия. После стерилизации растительный материал многократно промывали стерильной дистиллированной водой, обрезали сегменты, содержащие пазушные почки до 1-1,5 см и вертикально помещали на твердую питательную среду Мурасиге-Скуга (МС) (Murashige T., 1962: 473-497). Скрининг зараженных эксплантов про-

водили каждые 3 дня. Эффективность режима стерилизации оценивали по максимальному выходу жизнеспособных эксплантов на 15 сутки культивирования.

В технологии массового размножения растений *in vitro* решающую роль играет состав питательной среды и, в частности, гормональный состав (Smith R.H., 2000: 31-46). С целью подбора универсальной питательной среды, обеспечивающей высокий выход микрочеренков (регенерантов) для всех исследуемых сортов роз, было изучено 10 вариантов сред с разными комбинациями и концентрациями фитогормонов: бензидиламинопурина (БАП), нафтилуксусной кислоты (НУК), 2,4-дихлорфеноксикусной кислоты (2,4-Д). В качестве антиоксиданта в питательную среду вносили аскорбиновую кислоту (АК) и активированный уголь (АУ). Контролем являлась стандартная безгормональная среда МС (таблица 1).

**Таблица 1** – Модифицированный по фитогормонам состав питательной среды МС, использованной на этапе микроклонального размножения различных сортов роз

| Вариант питательной среды   | Состав питательной среды                  |
|---|---|
| 1 (контроль)  | Без фитогормонов                          |
| 2   | 0,1 мг/л БАП + 1 мг/л НУК                 |
| 3   | 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК               |
| 4   | 1 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК                 |
| 5   | 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК                 |
| 6   | 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л 2,4-Д               |
| 7   | 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК + 0,5 мг/л АУ   |
| 8   | 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК + 0,5 мг/л АК   |
| 9   | 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л 2,4-Д + 0,5 мг/л АУ |
| 10  | 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л 2,4-Д + 0,5 мг/л АК |
| Примечание: АУ – активированный уголь;<br>АК – аскорбиновая кислота |   |

pH среды доводили до 5,6-5,8. Для каждого варианта использовали трехкратную повторность.

Экспланты культивировали на свету (интенсивность освещения составляла 5 тыс.лк) с 16 часовым фотопериодом. Температуру поддерживали в интервале 20°-25° С при 70% влажности воздуха. Укоренение микрочеренков осуществлялось на среде МС, содержащей 2 мг/л ИУК.

Полученные экспериментальные данные подвергались статистической обработке с помощью программ для статанализа.

## Результаты исследования и их обсуждение

Клональное микроразмножение состоит из ряда последовательных этапов, каждый из которых имеет свою специфику. Этапы клонального микроразмножения: отбор подходящих эксплантов, их стерилизация и перенос на питательную среду; собственно микроразмножение; укоренение побегов с последующей адаптацией их к почвенным условиям; выращивание растений в условиях теплицы и подготовка их к посадке в поле (Зонтиков Д.Н., 2011: 56-63).

При выборе экспланта необходимо учитывать как вид растения, так и метод микроразмножения, который будет использоваться. В большинстве случаев верхушечные, пазушные и цветочные почки и побеги с меристематическими тканями узлов используют для получения и размножения побегов в культуре *in vitro*. В то время как, листья, корни, лепестки чаще применяют для получения каллусной ткани и перевода ее в суспензионную культуру или индукции соматического эмбриогенеза (Мухамбетжанов С.К., 2010: 41-52, Сапаргали О., 2010: 341-343). Успех введения в культуру часто определяется эффективностью стерилизации. Поверхностные покровы органов растений обычно загрязнены бактериями и спорами грибов, тогда как внутренние ткани здоровых, неповрежденных растений хотя и считаются стерильными, но и здесь не может быть абсолютной стерильности. Известно, что эффективность освобождения от контаминантов биологической природы зависит от способа и продолжительности стерилизации (Мухамбетжанов С.К., 2011: 45-48, Krosh-Khui M., 2006: 514-527, Candi F.A., 2009: 167-183).

Для поверхностной дезинфекции растительного материала применяют широкий набор химических реагентов как по отдельности, так и в комплексе друг с другом. При этом, выбор стерилизующего агента определяется особенностями экспланта. В данном исследовании нами были использованы узловые сегменты с пазушными почками и сегменты междуузлий пяти различных сортов роз. Результаты исследований показали, что наиболее эффективным способом стерилизации оказалась одноступенчатая стерилизация 10% раствором перекиси водорода (таблица 2).

Количество неинфекцированных и жизнеспособных стеблевых сегментов с пазушными почками при стерилизации 10% раствором перекиси водорода было в 1,3 раза больше, чем при стерилизации эксплантов 70% этанолом с последующей экспозицией их в гипохлориде натрия и составляло 68,4 %, соответственно.

Следующим этапом технологии является собственно размножение *in vitro* – культивирование на питательной среде для массового получения микроклонов. Основу всех питательных сред для выращивания культур тканей роз составляют: макро- и микроэлементы, витамины, источники железа и углеводов, органические добавки, а их гормональный состав является ключевым фактором для успешного культивирования *in vitro*. Обычно состав питательной среды подбирают для каждого сорта роз. Для выращивания роз в стерильных условиях используют питательные среды Мурасиге и Скуга, Шенка-Хильдебранта, Гамборга-Эвелега ( $B_5$ ), Кюрина-Лепойве, Неша, WPM и др. Выбор той или иной питательной среды обуславливается целями и задачами исследования (Das P., 2010: 70-78, Khosravi P., 2007: 100-104, Мухамбетжанов С.К., 2011: 45-48). В наших исследованиях базовой средой являлась питательная среда Мурасиге-Скуга, дополненная регуляторами роста в различных комбинациях и концентрациях.

На исследуемых вариантах сред наблюдалось образование каллусов и адVENTивных побегов. Отсутствие в составе среды фитогормонов (контроль) приводило к каллусообразованию в культуре стеблевых эксплантов (75%). Наличие в среде фитогормонов с количественным преобладанием регуляторов роста ауксинового типа действия (2 вариант среды) индуцировало каллусогенез в большей степени, чем на средах с высокими концентрациями цитокининов. Так, например, на 20-й день культивирования эксплантов на среде МС, содержащей фитогормоны БАП и НУК в соотношении 10:1 частота каллусогенеза составляла 80%, а при соотношении 1:10 частота каллусогенеза увеличилась на 10 % и равнялась 90%, соответственно (таблица 3, рисунок 1а).

Следует заметить, что химическая природа ауксина также оказывает влияние на каллусообразование. В частности, при замене НУК на синтетический ауксин 2,4-Д (при неизменной концентрации) количество каллусов значительно уменьшается. Например, сравнивая результаты на 7 и 9 вариантах сред, при одинаковых

концентрациях и соотношениях цитокинина и ауксина, но различных видах ауксина видно, что в присутствии НУК процент каллусогенеза со-

ставлял 25%, тогда как на среде с 2,4-Д частота каллусогенеза составляла 9,09% т.е. 2,8 раза меньше.

**Таблица 2 – Влияние режима стерилизации на жизнеспособность эксплантов сортов роз в условиях *in vitro* \***

| Способ стерилизации          | Стерилизующий агент                 | Время экспозиции  | Количество эксплантов шт. | Количество неинфицированных жизнеспособных эксплантов, % |
|------------------------------|-------------------------------------|-------------------|---------------------------|--|
| Двуступенчатая стерилизация  | 70% этанол;<br>5% гипохлорид натрия | 20 сек.<br>5 мин. | 43,0±11,2                 | 53,3   |
| Одноступенчатая стерилизация | 10% перекись водорода               | 8 мин.            | 34,0±9,7                  | 68,4   |

Примечание: \* средние значения для всех сортов

**Таблица 3 – Частота каллусогенеза в культуре стеблевых эксплантов роз на различных вариантах модифицированной среды МС**

| Вариант | Состав питательной среды                | Частота каллусогенеза, % |
|---------|---|--------------------------|
| 1       | среда без гормонов                      | 75,0                     |
| 2       | 0,1 мг/л БАП + 1 мг/л НУК               | 90,0                     |
| 3       | 0,5мг/л БАП + 0,1мг/л НУК               | 0                        |
| 4       | 1 мг/л БАП + 0,1 мг/л НУК               | 80,0                     |
| 5       | 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК               | 0                        |
| 6       | 3 мг/л БАП +0,5 мг/л 2,4-Д              | 6,7                      |
| 7       | 3 мг/л БАП +0,5 мг/л НУК+АУ             | 25,0                     |
| 8       | 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК + 0,5 мг/л АК | 0                        |
| 9       | 3 мг/л БАП +0,5 мг/л 2,4-Д+АУ           | 9,1                      |
| 10      | 3 мг/л БАП +0,5 мг/л 2,4-Д+АК           | 14,3                     |

Примечание: АУ- активированный уголь; АК-аскорбиновая кислота

Противоположная ситуация наблюдалась при индукции процессов геммогенеза. Приведенные результаты подтверждают положение о том, что высокое соотношение ауксин:цитокинин стимулирует процессы пролиферации соматических клеток и их дедифференциацию.

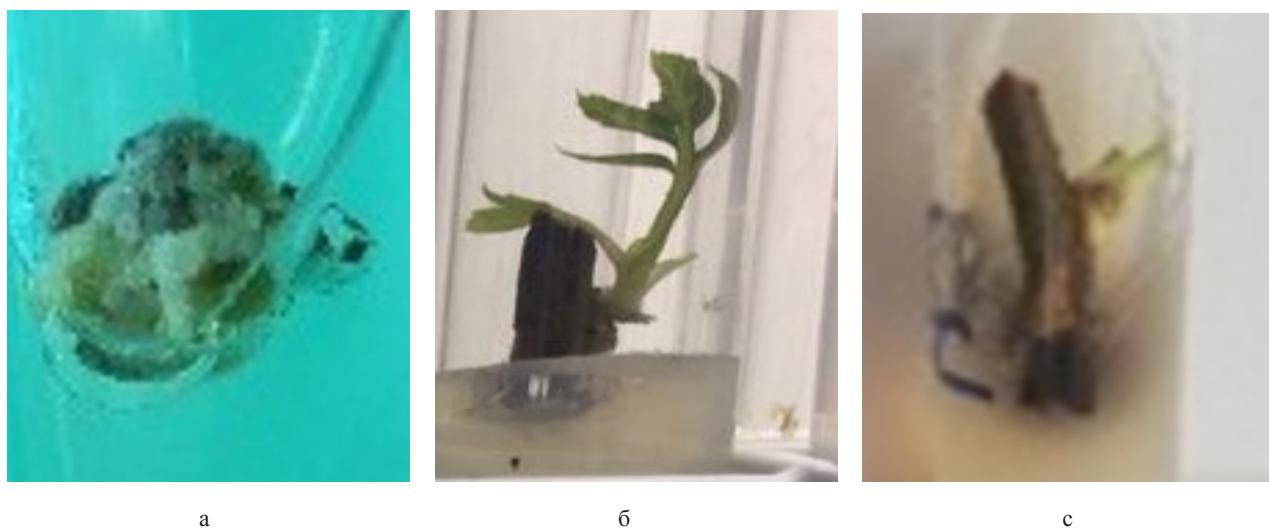
Поскольку целью исследований является размножение сортов роз генетически идентичных исходному растению, а каллусы представляют собой генетически неоднородный материал, поэтому дальнейшие работы были сфокусированы на индукции процессов побегообразования *in vitro*. Как было отмечено выше, преобладание в питательной среде цитокинина приводит к обра-

зованию побегов из пазушных почек, в частности ранее нами было исследовано влияние цитокинина БАП в соотношении с ауксинами равное 5:1. На варианте питательной среды, содержащей 0,5 мг/л БАП и 0,1 мг/л НУК наблюдается образование одиночных побегов, которые прорастали с частотой 64,2% (рисунок 1б). При увеличении соотношения БАП:НУК до 6:1, процент побегообразования уменьшался почти в 5 раз и составлял 13,33%. Однако добавление 0,5 мг/л антиоксиданта аскорбиновой кислоты приводило к возрастанию количества побегов до 25% (таблица 4). Положительное влияние антиоксиданта проявляется также и в том, что снижается

степень некроза тканей, вызванное фенольными соединениями, экскретируемыми и аккумулируемыми в питательной среде (рисунок 1с). Позитивная роль антиоксиданта аскорбиновой кислоты и активированного угля в нейтрализации метаболитов, ингибирующих рост и развитие клеток отмечается многими авторами (Malabadi R.B., 2005: 181-186, Stasolla C., 2006: 429-436, Roy P.K., 2004: 149-154).

Экспериментальные данные, приведенные в таблице 4, показывают, что использование фи-

тогормона 2,4-Д вместо НУК приводит к множественному побегообразованию (таблица 4, рисунок 2). Регенерация побегов на среде с 3 мг/л БАП и 0,5 мг/л 2,4-Д происходит с частотой 10%, а при добавлении аскорбиновой кислоты – увеличивается до 25%. При этом количество побегов на экспланте составляет 4 и 90% побегов прорастают. Таким образом образование множества адвентивных побегов в расчете на один экспланкт повышает коэффициент размножения, и в целом, эффективность технологии.



а – каллусогенез в культуре стеблевых эксплантов роз;  
б – образование одиночных побегов роз в культуре *in vitro* на среде с 0,5 мг/л БАП и 0,1 мг/л НУК;  
в – некроз тканей стеблевых сегментов с пазушными почками на среде без антиоксидантов.

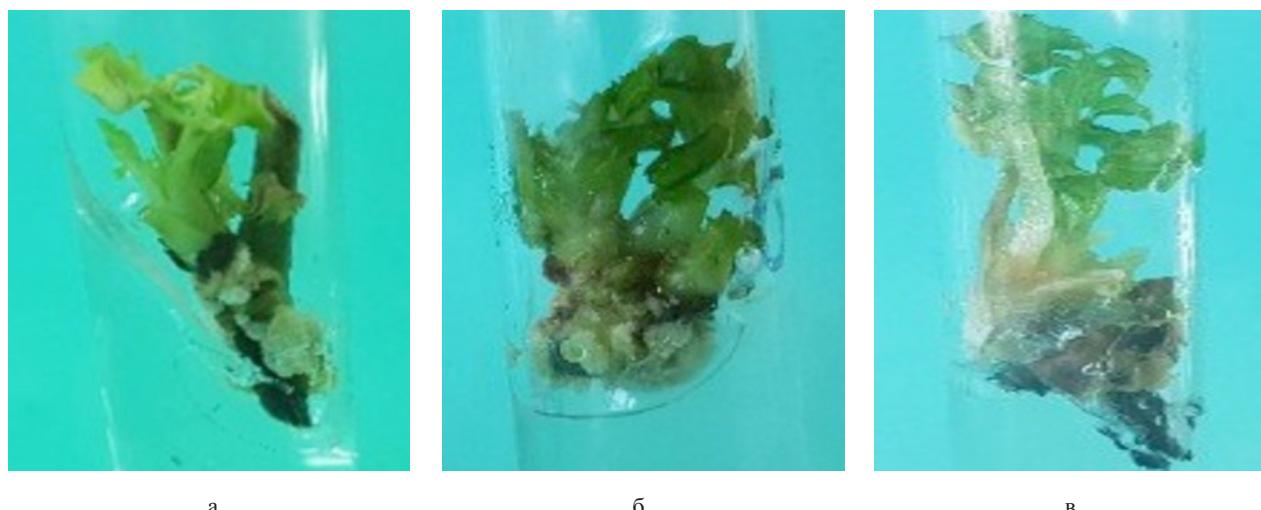
**Рисунок 1** – Образование каллусов и одиночных побегов в культуре пазушных почек роз на различных вариантах питательной среды МС

**Таблица 4** – Частота побегообразования в культуре пазушных почек роз на различных вариантах среды МС (средние значения для исследуемых сортов роз)

| Варианты  | Варианты питательных сред                | Частота побегообразования, % |
|---|--|------------------------------|
| 1   | Без фитогормонов                         | 0                            |
| 2   | 0,1 мг/л БАП + 1 мг/л НУК                | 0                            |
| 3   | 0,5 мг/л БАП+ 0,1 мг/л НУК               | 64,2±13,3                    |
| 4   | 1 мг/л БАП +0,1 мг/л НУК                 | 0                            |
| 5   | 3 мг/л БАП+ 0,5 мг/л НУК                 | 13,3±6,1                     |
| 6   | 3 мг/л БАП+ 0,5 мг/л 2,4-Д               | 10,0±3,6                     |
| 7   | 3 мг/л БАП +0,5 мг/л НУК+0,5 мг/л АУ     | 0                            |
| 8   | 3 мг/л БАП+ 0,5 мг/л НУК + 0,5 мг/л АК   | 25,0±12,0                    |
| 9   | 3 мг/л БАП+ 0,5 мг/л 2,4-Д + 0,5 мг/л АУ | 12,1±3,8                     |
| 10  | 3 мг/л БАП+ 0,5мг/л 2,4-Д + 0,5 мг/л АК  | 25,0±8,3                     |
| Примечание: АУ- активированный уголь; АК-аскорбиновая кислота |  |                              |

Эксперимент, оценивающий действие цитокинина БАП, присутствующего в среде МС на размножение пазушных побегов, показал, что наибольшая скорость размножения побегов (4 побега на один регенерирующий эксплант) были по-

лучена для сорта розы «Колхозница», когда концентрация регуляторов роста в среде составляла 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л 2,4-Д + 0,5 мг/л АК. Наивысшее соотношение цитокинина к ауксину 2,4-Д в среде индуцировало размножение побегов.



**Рисунок 2 – Адвентивное побегообразование в культуре пазушных почек роз сортов Колхозница (а), Былина (б), Ак-ку (в) на питательной среде МС, содержащей 3 мг/л БАП, 0,5 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л АК**

В отношении генотипов, наибольшей отзывчивостью к органогенезу *in vitro* обладал сорт розы «Колхозница», затем по убывающей следуют сорта «Былина», «Казахстанская Юбилейная» которые характеризуются частотой побегообразования 98% и 80%, соответственно. Процент побегообразования у сортов «Ак-ку» и «Алма-Атинская ароматная» составил 60% и 30% (таблица 5). Регенерация побегов у всех исследуемых сортов роз, кроме сорта «Казахстанская Юбилейная» происходила на 10 варианте среды МС, содержащей 3 мг/л БАП, 0,5 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л АК, а для сорта «Казахстанская Юбилейная» оптимальной оказалась среда с тем же балансом регуляторов роста, но содержащая 0,5 мг/л активированного угля.

На этапе укоренения и высадки в грунт обычно изменяют основной состав среды. Уменьшают количество солей и углеводов, исключают цитокинины и добавляют ауксины (Мухамбетжанов С.К., 2011: 45-48). Выбор концентрации ауксинов, необходимых для нормального укоренения побегов зависит от ряда причин. Среди них отметим наследственную предрасположенность побегов к укоренению, обусловленную видовыми и сортовыми особенностями родительских растений, тип используемого ауксина, а также

концентрацию и соотношение фитогормонов на этапе размножения побегов. Эффективность ауксинов при укоренении побегов в значительной мере уменьшается под влиянием высоких доз цитокининов, вносимых в питательную среду на первом и втором этапах микроразмножения. Целесообразно при культивировании на первых этапах использовать среды сначала с более высокими, а затем – низкими концентрациями цитокининов.

**Таблица 5 – Частота побегообразования в культуре пазушных почек различных сортов роз на питательной среде, содержащей 3 мг/л БАП, 0,5 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л АК**

| № | Сорт                    | Частота побегообразования, % |
|---|-------------------------|------------------------------|
| 1 | Колхозница              | 98,0                         |
| 2 | Былина                  | 80,0                         |
| 3 | Казахстанская Юбилейная | 80,0                         |
| 4 | Ак-ку                   | 60,0                         |
| 5 | Алма-Атинская ароматная | 30,0                         |

В данных исследованиях на этапе размножения нами были использованы высокие концентрации цитокинина БАП (3 мг/л), а в качестве источника ауксинов оптимальным оказалась 2,4-Д (0,5 мг/л). Однако образовавшиеся адвентивные побеги имели слаборазвитые корни, поэтому было предложено заменить ауксин 2,4-Д на функционально более активную форму ауксина – индолилуксусную кислоту в концентрации 2 мг/л. Таким образом соотношение цитокинин : ауксин на втором этапе культивирования составляло 6:1, а на этапе укоренения – 1,5:1. При таком балансе и типе регуляторов роста корешки удлинялись и развивались лучше, чем на среде с 2,4-Д, применяемого в качестве регулятора процесса ризогенеза.

### Заключение

В результате исследований был разработан протокол культивирования *in vitro* стеблевых сегментов, содержащих пазушные почки для коммерческих сортов роз казахстанской селекции. Установлен оптимальный режим поверхностной дезинфекции эксплантов и стерилизу-

ющий агент – 10% раствор перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) с экспозицией эксплантов в течение 8 минут. На питательной среде МС, дополненной 3 мг/л БАП, 0,5 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л аскорбиновой кислоты отмечено множественное образование побегов (до 4 побегов на эксплант). Культивирование эксплантов на данном варианте питательной среды обеспечивает высокую скорость и коэффициент размножения побегов *in vitro* для большинства сортов роз, что предопределяет высокую эффективность технологии микроклонального размножения растений. На этапе укоренения следует уменьшить соотношение регуляторов роста в сторону количественного преобладания ауксинов. Для развития корней микрочеренков розы целесообразно использовать ауксин ИУК в соотношении с БАП равным 1,5:1, соответственно 3 мг/л БАП и 2 мг/л ИУК. Данный регламент культивирования пазушных почек роз в условиях *in vitro* рекомендуется для массового размножения коммерческих сортов декоративных роз для озеленения прикаспийского региона Казахстана, а также для интродукции и пополнения коллекции розария Манышлакского экспериментального ботанического сада.

### Литература

- 1 Nitish K., Reddy M. In vitro Plant Propagation: a review // Journal of Forest Science. – 2011. - Vol. 27. – P. 61-72.
- 2 Ruzic D., Lazic T. Micropropagation as means of rapid multiplication of newly developed blackberry and black currant cultivars // Agriculturae Conspectus Scientificus. – 2006. – Vol. 71. – P. 149-153.
- 3 Saxena G., Banerjee S., Rahman L., Mallavarapu G.R., Sharma S., Kumar S. An efficient in vitro procedure for micropropagation and generation of somaclones of rose scented Pelargonium // Plant Science. – 2000. – Vol. 29. –P. 133-140.
- 4 Das P. Mass cloning of Rose and Mussaenda, popular garden plants, via somatic embryogenesis // Hort.Sci. -2010. – Vol. 37. –P. 70-78.
- 5 Pratar K.P., Siba P.R., Madhu Sh., Anil S., Paramvir S.A. In vitro propagation of rose - a review // Biotechnology Advances. – 2006. – Vol. 24. – P. 94-114.
- 6 Kim S.W., Oh M.J., Liu J.R. Somatic embryogenesis and plant regeneration in zygotic embryo explant cultures of rugosa rose // Plant Biotechnology Reports. -2009. - Vol. 3. - P. 199-203.
- 7 Khosravi P., Kermani M.J., Nematzadeh G.A., Bihamta M.R. A protocol for mass production of Rosa hybrid cv. Iceberg through in vitro propagation // Iranian J. of Biotechnology. – 2007. - Vol. 5. –P. 100-104.
- 8 Nak-Udom N., Kanchanapoom K., Kanchanapoom K. Micropropagation from cultured nodal explants of rose (*Rosa hybrida* L. cv. 'Perfume Delight') // Songkranakarin J. Sci. Technol. – 2009. – Vol. 31. –P. 583-586.
- 9 Бессчетнова М.В., Михнева Т.Н. Розы. – Алма-Ата: Кайнар. -1979. - 120 с.
- 10 Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. // Physiologia Plantarum. – 1962. – Vol. 15. – P. 473-497.
- 11 Зонтиков Д.Н., Зонтикова С.А. Особенности клonalного микроразмножения декоративных сортов *Rosa hybrid* // Вестник КГУ им.Н.А.Некрасова – 2011. – № 5. –P. 56-63
- 12 Мухамбетжанов С.К., Нам С.В., Вечерко Н.А., Мурсалиева В.К. Факторы влияющие на рост и развитие роз *in vitro* // Биотехнология. Теория и практика. – 2010. - № 1. – С. 41-52.
- 13 Сапаргали О., Нам С.В., Вечерко Н.А., Мухамбетжанов С.К., Мурсалиева В.К. Влияние генотипа на микроклональное размножение роз // Сб. тр. междунар.конф. «Актуальные проблемы ботанического ресурсоведения», Алматы. - 2010. - С.341-343
- 14 Мухамбетжанов С.К., Мурсалиева В.К., Вечерко Н.А., Нам С.В. Оптимизация протоколов питательных сред для микроклонального размножения роз // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2011. -№ 4. – С. 45-48.
- 15 Krosh-Khui M., De Silva J.A.T. In vitro culture of the *Rosa* species // Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology-2006. - Vol. 2. – P.514-527.

- 16 Candi F.A., Kazaz O. Biotechnology of roses: progress and future prospects // Suleyman Dermirel Univer. Orman Fakultesi Dergisi (Seri:A). -2009. - Vol.1. -P.167-183.
- 17 Malabadi R.B., Van Staden J. Role of antioxidants and amino acids on somatic embryogenesis of *Pinus patula*. // In Vitro Cellular and Developmental Biology: Plant. – 2005. - Vol. 41. – P. 181–186.
- 18 Stasolla C., Lam M.S.W., Yeung E.C. Exogenous applications of ascorbic acid enhance shoot apical meristem growth and induce shoot organogenesis in germinating white spruce *Picea glauca* somatic embryos // International Journal of Plant Sciences. – 2006. - № 167. – P. 429–436.
- 19 Roy P.K., Mamum A.N.K., Ahmed G. In vitro plantlets regeneration of rose // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2004. - Vol.14. - P.149-154.
- 20 Smith R.H. Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments. Academic Press. – 2000. - P. 31-46.

#### References

- 1 Besschetnova M.V., Mikhneva T.N. (1979) Rosi [Roses]. - Alma-Ata: Kainar, 120 p.
- 2 Candi F.A., Kazaz O. (2009) Biotechnology of roses: progress and future prospects. Suleyman Dermirel Univer. Orman Fakultesi Dergisi (Seri:A, vol.1, pp. 167-183.
- 3 Das P (2010) Mass cloning of Rose and Mussaenda, popular garden plants, via somatic embryogenesis. Hort.Sci., vol. 37, pp. 70-78.
- 4 Khosravi P., Kermani M.J., Nematzadeh G.A., Bihamta M.R. (2007) A protocol for mass production of Rosa hybridacy. Iceberg through in vitro propagation. Iranian J. of Biotechnology, vol. 5, pp.100-104.
- 5 Kim S.W., Oh M.J., Liu J.R. (2009) Somatic embryogenesis and plant regeneration in zygotic embryo explant cultures of rugosa rose. Plant Biotechnology Reports, vol. 3, pp. 199-203.
- 6 Krosh-Khui M., De Silva J.A.T. (2006) In vitro culture of the Rosa species. Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology, vol. 2, pp. 514-527.
- 7 Malabadi R.B., Van Staden J. (2005) Role of antioxidants and amino acids on somatic embryogenesis of *Pinus patula*. In Vitro Cellular and Developmental Biology: Plant, vol. 41, pp. 181–186.
- 8 Mukhametzhanov S.K., Mursalieva V.K., Vecherko N.A., Nam S.V. (2011) Optimizacia protokolov pitatelnih sred dlja mikroklonalnogo razmnozhenia roz [Optimisation of protocol of nutrient medium for microclonal propagation of rose] Bulletin of Kazakh National University. Experimental Biology, vol. 4, pp. 45-48.
- 9 Mukhametzhanov S.K., Nam S.V., Vecherko N.A., Mursalieva V.K. (2010) Faktori vlijajushie na rost i razvitiye roz in vitro [The factors influence on growth and development of rose in vitro]. Biotechnology: theory and practice, vol. 1, pp. 41-52.
- 10 Murashige T, Skoog F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, vol. 15, pp. 473-497.
- 11 Nak-Udom N., Kanchanapoom K., Kanchanapoom K. (2009) Micropropagation from cultured nodal explants of rose (*Rosa hybrida* L. cv. ‘Perfume Delight’) Songklanakarin J. Sci. Technol., vol. 31, pp. 583-586.
- 12 Nitish Kumar, Reddy M. (2011) In vitro Plant Propagation: a review. Journal of Forest Science, vol. 27, pp. 61-72.
- 13 Pratar Kumar Pati, Siba Prasad Rath, Madhu Sharma, Anil Sood, Paramvir Singh Ahuja (2006) In vitro propagation of rose - a review. Biotechnology Advances, vol. 24, pp. 94-114.
- 14 Roy P.K., Mamum A.N.K., Ahmed G. (2004) In vitro plantlets regeneration of rose. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, vol. 14, pp. 149-154.
- 15 Ruzic D., Lazic T. (2006) Micropropagation as means of rapid multiplication of newly developed blackberry and black currant cultivars. Agriculturae Conspectus Scientificus, vol. 71, pp. 149-153.
- 16 Sapargali O., Nam S.V., Vecherko N.A., Mukhametzhanov S.K., Mursalieva V.K. (2010) Influence of the genotype on the microclonal propagation of roses. Abstracts of international conference "Actual problems of botanical research", Almaty, pp. 341-343.
- 17 Saxena G., Banerjee S., Rahman L., Mallavarapu G.R., Sharma S., Kumar S. (2000) An efficient in vitro procedure for micropropagation and generation of somaclones of rose scented Pelargonium. Plant Science, vol. 29, pp. 133-140.
- 18 Smith R.H. (2000) Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments. Academic Press, pp. 31-46.
- 19 Stasolla C., Lam M.S.W., Yeung E.C. (2006) Exogenous applications of ascorbic acid enhance shoot apical meristem growth and induce shoot organogenesis in germinating white spruce *Picea glauca* somatic embryos. International Journal of Plant Sciences, vol. 167, pp. 429–436.
- 20 Zontikov D.H., Zontikova S.A. (2011) Osobennosti klonalnogo microrazmnozheniya dekorativnih sortov Rosa hybrid [Features of clonal micropropagation ornamental varieties of Rosa hybrid]. Byulleten KGU imeni N.A.Nekrasova, vol. 5, pp. 56-63.

**Turasheva S.K.<sup>1</sup>, Muhambetzhanov S.K.<sup>2</sup>, Orazova S.B.<sup>3</sup>, Kosalbaev B.<sup>4</sup>,  
Zhardamalieva A.B.<sup>5</sup>, Ajtbaeva D.B.<sup>6</sup>, Omirbekova N.Zh.<sup>7</sup>**

<sup>1</sup>candidate of biological sciences, associate professor, e-mail: svetlana.turasheva@kaznu.kz

<sup>2</sup>candidate of biological sciences, associate professor

<sup>3</sup>candidate of biological sciences, senior lecturer, e-mail: Saltanat.Orazova@kaznu.kz

<sup>4</sup>master, assistant <sup>5</sup>researcher

<sup>5</sup>doctor of biological sciences, professor

<sup>6</sup>bachelor-student

<sup>7</sup>doctor of biological sciences, professor

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

## ***IN VITRO CLONAL PROPAGATION OF REPAIRING HYBRIDS OF WILD STRAWBERRY FRAGARIA ANANASSA DUCH.***

The features of the clonal propagation technology of repairing hybrids of wild strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) have been studied. Traditionally, the strawberry is vegetative propagated by grafting, but for the repairing varieties of strawberry, this method is less effective because plants form only 1–2 rosettes per plant during the growing season. The clonal micropropagation in vitro is the alternative method of reproduction to vegetative propagation. For the introduction of strawberry in vitro culture apical stolons and non-rooting rosettes collected from April to June have been taken. To obtain polyploid plants formed during callusogenesis process, stem and leaf explants were used. The main medium was Murashige-Skug agar medium (MS) supplemented with plant growth regulators (PGRs) and ascorbic acid (1.5 mg/l), the control medium was MS medium without PGRs. The influence of different concentration of cytokinin (0.3–1 mg/l 6-BAP) on the multiplication and auxin (0.5–1 mg/l IAA) on rooting of repairing hybrids of strawberry in vitro culture have been studied. The optimal concentrations of 6-benzylaminopurine (0.3 mg/l) were determined at the propagation stage and the same for α-indoleacetic acid (0.5 mg/l) on the rooting stage have been determined. Microrosettes with a well-developed root system obtained during in vitro cultivation were acclimatized and grown on hydroponics. Adapted to growth in the open ground plants were used as a planting material, which was propagated in a greenhouse.

**Key words:** *Fragaria ananassa* Duch.wild strawberry, clonal micropagation in vitro, plant growth regulators, planting material.

Тұрашева С.К.<sup>1</sup>, Мұхамбетжанов С.К.<sup>2</sup>, Оразова С.Б.<sup>3</sup>, Қосалбаев Б.<sup>4</sup>,  
Жардамалиева А.Б.<sup>5</sup>, Айтбаева Д.Б.<sup>6</sup>, Өмірбекова Н.Ж.<sup>7</sup>

<sup>1</sup>биология ғылымдарының кандидаты, профессор, e-mail: svetlana.turasheva@kaznu.kz

<sup>2</sup>биология ғылымдарының кандидаты, доцент

<sup>3</sup>биология ғылымдарының кандидаты, e-mail: Saltanat.Orazova@kaznu.kz

<sup>4</sup>магистр, ассистент <sup>5</sup>тылыми қызметкер

<sup>6</sup>бакалаврият студенті

<sup>7</sup>биология ғылымдарының докторы, профессор

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

***Fragaria ananassa* Duch. бақты құлпынайдың ремонтантты  
бұдан түрлерін *in vitro* клондық микрокөбейту**

*Fragaria ananassa* Duch. ремонтантты бақты құлпынайдың бұдан түрлерінің микроклондық көбейту технологияның ерекшеліктері зерттелінді. Дәстүрлі селекция бойынша құлпынайды вегетативті жолымен көбейтіп алады, бірақ, ремонтантты құлпынай үшін вегетация кезеңі барысында әр 1-2 сабактан бір ғана бүршақ (розетка) түзілетін болғандықтан, бұл көбейту тәсілі

тиімді болмайды. Вегетативті көбейту әдістің алтернативасы *in vitro* клондық микрокөбейту әдісі болып келеді. Құлпынайды *in vitro* культураға енгізу үшін сөүр айынан бастап маусым айына дейін жинап алынған тамырланбаған розеткалары және үсті столондар пайдаланылды. Каллусогенез үдерісі нәтижесінде пайда болатын полиплоидтарды алу үшін жапырақ, және сабак, экспланттары қолданылды. Қоректік ортаның құрамына аскорбин қышқылы (1,5 мг/л) және өсу реттегіштері қосылған агарланған Мурасиге-Скуг (МС) негізгі орта болып келді, ал бақылау нұсқасы ретінде гормонсыз МС орта болып пайдаланылды. *In vitro* жағдайында ремонтантты бақты құлпынайдың көбейту коэффициентін және тамырландыруын арттыру мақсатымен әртүрлі концентрацияларда 6-бензиламинопуриннің (0,3-1 мг/л 6-БАП) және ауксин  $\alpha$ -индолилсірке қышқылының (0,5-1 мг/л ИСК) әсері зерттелінді. Құлпынайдың нақты көбею кезінде 0,3 мг/л 6-бензиламинопуриннің және құлпынайдың тамырландыру кезінде 0,5 мг/л индолилсірке қышқылының оптимальды концентрациялары анықталынды. Жақсы дамыған тамырлары бар *in vitro* өсіру барысында алынған микrorозеткаларды бейімделіп гидропоникада өсірдік. Ашық топырақ стерильды емес жағдайға бейімделген өсімдіктер көшет материал ретінде қолданылған. Сонымен қатар сауықтырылған көшет материал ары қарай жылыжайда өсіріп көбейтілді.

**Түйін сөздер:** *Fragaria ananassa* Duch. бақты құлпынай, *in vitro* клондық микрокөбейту, өсу реттегіштер, көшет материалы.

Турашева С.К.<sup>1</sup>, Мухамбетжанов С.К.<sup>2</sup>, Оразова С.Б.<sup>3</sup>, Косалбаев Б.<sup>4</sup>,  
Жардамалиева А.Б.<sup>5</sup>, Айтбаева Д.Б.<sup>6</sup>, Омирбекова Н.Ж.<sup>7</sup>

<sup>1</sup>кандидат биологических наук, профессор, e-mail: svetlana.turasheva@kaznu.kz

<sup>2</sup>кандидат биологических наук, доцент

<sup>3</sup>кандидат биологических наук, доцент, e-mail: Saltanat.Orazova@kaznu.kz

<sup>4</sup>магистр, ассистент <sup>5</sup>научный сотрудник

<sup>6</sup>студентка бакалавриата

<sup>7</sup>доктор биологических наук, профессор

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

### **Клональное микроразмножение *in vitro* ремонтантных гибридных форм земляники садовой *Fragaria ananassa* Duch.**

Изучены особенности технологии клонального микроразмножения ремонтантных гибридных форм земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.). Традиционно землянику садовую размножают вегетативно с помощью усов, однако для ремонтантной земляники такой способ размножения малоэффективный, так как за период вегетации она образует 1–2 уса на одну розетку. Альтернативным методом вегетативного размножения является клональное микроразмножение *in vitro*. Для введения земляники в культуру *in vitro* использовали верхушечные столоны (усы) и неукоренившиеся розетки, собранные в период с апреля по июнь. С целью получения полиплоидных форм, образующихся в процессе каллусогенеза, использовали стеблевые и листовые экспланты. Основной питательной средой была агаризованная среда Мурасиге-Скуга (МС), дополненная регуляторами роста и аскорбиновой кислотой (1,5 мг/л), контролем являлся безгормональный вариант среды МС. Изучено влияние различных концентраций цитокинина 6-бензиламинопурин (0,3-1 мг/л 6-БАП) на коэффициент размножения и ауксина  $\alpha$ -индолилуксусной кислоты (0,5-1 мг/л ИУК) на укоренение ремонтантных гибридов земляники садовой в культуре *in vitro*. Определены оптимальные концентрации 6-бензиламинопурина (0,3 мг/л) на этапе собственно размножения и  $\alpha$ -индолилуксусной кислоты (0,5 мг/л) на этапе укоренения земляники садовой. Полученные в процессе культивирования микророзетки с хорошо развитой корневой системой акклиматизировали и выращивали на гидропонике. Адаптированные к росту в открытом грунте растения использовались как посадочный материал, который далее размножали в теплице.

**Ключевые слова:** земляника садовая *Fragaria ananassa* Duch., клональное микроразмножение *in vitro*, регуляторы роста, посадочный материал.

### **Introduction**

The strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) – one of the most popular berry crops grown in the Northern hemisphere of the temperate zone. This culture is traditionally propagated vegetatively with the whiskers. For everbearing strawberries this method of reproduction is inefficient, as over

the period of the growing season it forms 1-2 runners on one socket. This is due to the feature of the structure of the rosette and the laying of vegetative buds in the everbearing strawberries. In addition, when breeding strawberries, many diseases are traditionally transmitted and, as a result, the characteristics of the variety are reduced (Lutov V. I., 2006: 23).

An alternative method of vegetative reproduction is clonal micropropagation in vitro. Biotechnological approaches and techniques contribute to the expansion of assortment, accelerated introduction of new hybrids everbearing varieties of strawberries, fruiting period which is much longer than traditional varieties. The advantages of these techniques have long been known and among them can be distinguished as follows: obtaining improved planting material; rapid production of vegetative offspring difficult to reproduce forms; obtaining genetically homogeneous material; cultivation regardless of season and climatic conditions throughout the year; obtaining hybrid seedlings from embryos with distant hybridization; work at the polyploid level; long-term storage of the material in vitro.

Clonal micropropagation is one of the biotechnological methods, which fully shows the limitless potential of plants to reproduce.

There are several types of micropropagation:

1. the induction of axillary meristem development;
2. the development of adventitious shoots from the explant tissue;
3. the induction of organogenesis or somatic embryogenesis from callus tissues of plants.

The most common is the first model of reproduction, which is based on the removal of apical domination with cytokinin activity – 6-benzylaminopurine, kinetin. In most studies it is noted that low concentrations of 6-BAP are required for berry crops propagated by means of cellular technologies (Vysotsky V. A., 2011: 3; Dzhafarova V. E., 2010: 72; Dzhafarova V. E., 2015: 29). In the application of the technology of clonal micropropagation should take into account the influence of several factors, key of which is the composition of the nutrient medium and the balance of phytohormones at different stages of cultivation. For cultivation and passage of fruit and berry crops is often recommended Murashige-Skoog environment, Niche, Gamborg, Andersen, Lloyd-Maccoun and others. It is believed that the MS medium is universal for many crops or varieties, but in some experiments it was shown that to increase the rate of reproduction in blackberries and other berry crops, regardless of the form of growth, it is better to use the medium of Lee and de Fossard (Tashmatova L. V., 2014: 63). This environment ensured the formation of a larger number of buds and shoots, and also contributed to the growth of the shoots.

At the stage of rooting, many cultures, especially seed and berry crops have difficulties associated with the formation of a full-fledged root

system that provides survival of microbreeds at the stage of adaptation. Usually used different rooting stimulants: IBA, NAA and IAA, as well as different ways of application. For example, in blackberry varieties with different forms of growth, when IMK was introduced into the nutrient medium at a concentration of 0.5-1.0 mg/l, rooting reached 90-100% (Tashmatova L. V., 2013: 20).

Another important factor determining the success of berry crops cultivation is the process of adaptation of micro-transfers to non-sterile conditions. One of the ways to increase the survival rate of microshoots is the use of elicitors, which have immunomodulating properties and cause systemic resistance of plants to adverse factors. For example, the use of Russian-made preparations El-1 and Ecost 1/3 increases the survival rate of micro-shoots of strawberry varieties to 69% (Belyakova L. V., 2011: 200).

Despite the large number of works on reproduction and regeneration in vitro of strawberry, to date, remains relevant modification of the basic techniques of micropropagation, since each variety requires its own specific physico-chemical conditions of in vitro cultivation (Alekseenko L. V., 1998: 3; Belyakov, L. V., 2010: 38; Rastorguev L. S., 2010: 57; L. B. Tashmatova, 2015: 19).

## Material and Methods

The strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) belongs to the family Rosaceae (Rosaceae). *Fragaria ananassa* is a natural hybrid of *Fragaria chiloensis* (L.) Duch. and *Fragaria virginiana* (Duch.). The object of these studies was a 3 hybrid everbearing strawberry foreign selection: ZH 15-3, 14-3 ZH, ZH 14-1-3. Donor plants were grown using drip irrigation technology on the black tape.

As a source of plant material for the introduction of strawberries into the culture in vitro were used apical pillars (runners) and unburdened rosettes collected in the period from April to June 2017. Taken in the nursery planting subjects the hybrid strawberry was sterilized according to the following scheme: free from soil mustache and outlets were exempt from the upper leaves, within 15 minutes, rinsed with water, using detergent and, subsequently, for 30 minutes, washed under running water. Then, in the laminar-box, the initial material was processed by step sterilization for 3 seconds with 70% ethyl alcohol, then with various disinfectant solutions for 5 minutes. As sterilizing agents were used: commercial household product «Domestos» (diluted with sterile distilled water in a ratio of 1:3); commercial household product «Belizna»

(5%); hydrogen peroxide, 3% solution. Treated vegetable material was washed several times with sterile distilled water.

After carrying out surface sterilization under aseptic conditions was performed to isolate the meristematic apex of buds and rosettes. Sheet and stem fragments were also used to produce callus. Explants were placed on agarized modified medium MS (pH 5,6-5,8). Modification of the environment was in addition to the main part of the standard medium 1.5 mg/l of ascorbic acid (AA), used as antioxidant, and growth regulators 6-benzylaminopurine (BAP) at a concentration of 0,3; 0,5; 1 mg/l. This nutrient medium was used for culturing explants at the stage of actually breeding of hybrid strawberry. At the stage of rooting applied nutrient MS medium containing indoleacetic acid (IAA) in concentrations 0.5 and 1 mg/l. In the control used the MS medium without any growth regulators (Murashige T., 1962: 489).

Cultivation of explants was carried out at 16-hour photoperiod for 3-4 weeks. Intensity of illumination ranged from 5 to 10 kLux in the culture room with air-conditioned maintained at temperature of  $25 \pm 2$  °C and humidity of 70%. Accounting and monitoring were carried out at the end of each passage, after 10-15 days.

Rooted regenerates were grown on hydroponics different mineral composition, mg/l:

A – Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> x 4H<sub>2</sub>O 320; KNO<sub>3</sub> 320; 5Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> x 2H<sub>2</sub>O 720; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 720; Fe-EDTA 24;

B – MnSO<sub>4</sub> x 4H<sub>2</sub>O 2,1; KNO<sub>3</sub> 320; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O 380; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 180; NH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub> 20; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10; H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub> 2,8; ZnSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O 1,44; CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O 0,19; Na<sub>2</sub>Mo<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O 0,12.

All experiments were carried out in three repetitions. Statistical data processing was carried out using the Microsoft office Excel 2007 application package.

## Results and Discussion

The results show that the sterilization of initial plant material is the most effective at sterilizing agent 5% solution of sodium hypochlorite (commercial name «Belizna»). The percentage of contamination in the treatment of sodium hypochloride was 40%, while sterilization with aqueous solution of commercial means «Domestos» led to infection 70.83% of isolated explants. Sterilization of the initial material with 3% hydrogen peroxide solution was the least effective – 89% of the explants were infected. Thus, among chlorine-containing means, at the identical mode and time of pretreatment, the commercial preparation «Belizna» was 1,7 times more effective, than «Domestos». A solution of hydrogen peroxide, which is the most common and frequently used sterilizing agent, proved to be less suitable for the sterilization of vegetative organs of strawberry (tab. 1).

**Table 1** – Results of the sterilization of the initial plant material of strawberry garden with various sterilizing agents

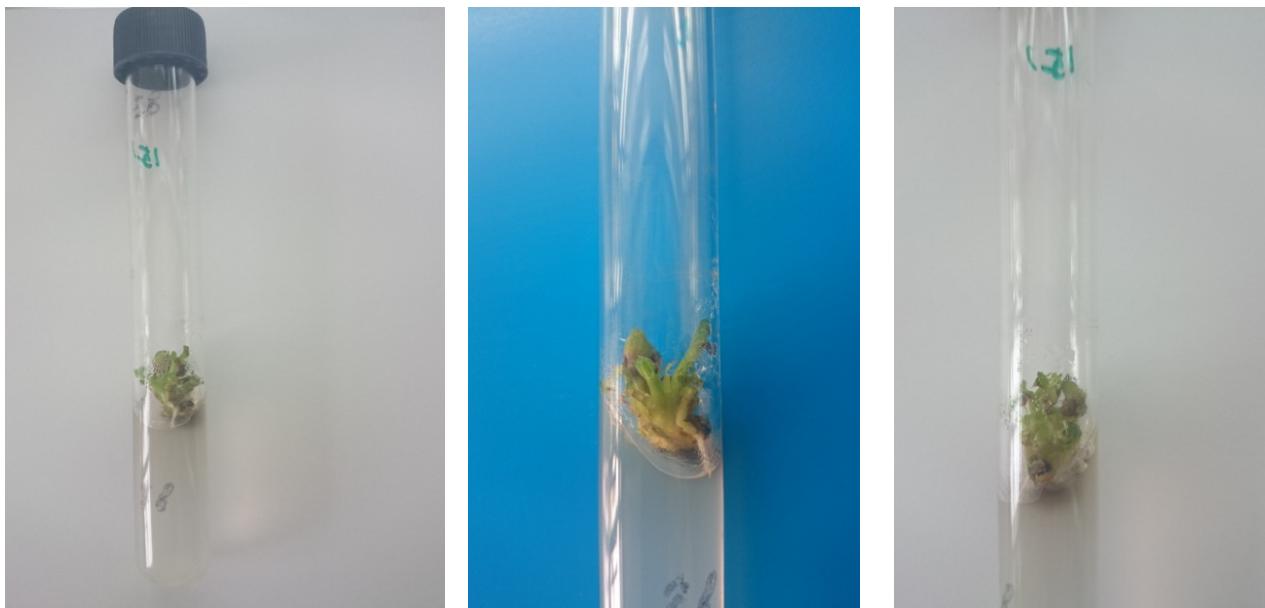
| Sterilizing agent                                      | Time of pretreatment, min | The percentage of contamination, % |
|--|---------------------------|------------------------------------|
| Commercial household preparation «Domestos» (1:3)      | 5                         | 40,00±1,23                         |
| Commercial household product «Belizna» (5%)            | 5                         | 70,83±6,47                         |
| Hydrogen peroxide (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), 3% | 5                         | 89,00±7,17                         |

The study of the impact of different concentrations of 6-BAP on the sprouting and increase in the breeding rate of strawberry genotypes showed that the modified nutrient medium Murashige-skuga, supplemented by 0.3 mg / l, noted a very rapid development of micro-shoots in the culture of axillary meristems (table. 2). The use of low concentrations of 6-BAP induced not only regeneration processes in the culture of meristems, but also the formation of morphogenic callus in the culture of stem explants (Fig. 1, 2).

The addition of 6-BAP in the minimum concentration resulted in the development of 1.5–2 axillary buds on the average on the microrosette. Separating the shoots and re-placing them on medium with 6-BAP, cycles can be repeated within a certain period of time, with the required amount of planting material. Increasing the concentration of 6-BAP to 1 mg/l led to suppression of growth and development of explants. Similar results were obtained in studies of Russian scientists, who also pointed out that high concentrations of 6-BAP (5-

10  $\mu\text{M}$ ) reduced the height of strawberry sockets from 2-3 to 0.5-1 cm, which further hindered their rooting. In addition, the high concentration

of cytokinines in the medium (10.0  $\mu\text{M}$  of 6-BAP) reduced the appearance of rosettes (Rastorguev L.S., 2010: 61).



**Figure 1** – Formation of plants-regenerants in the culture of meristems of strawberry *Fragaria ananassa* Duch. on an MS medium supplemented by 6-BAP 0.3 mg/l

**Table 2** – Frequency of regeneration and callus in the culture of apical meristem and stem explants of strawberry garden

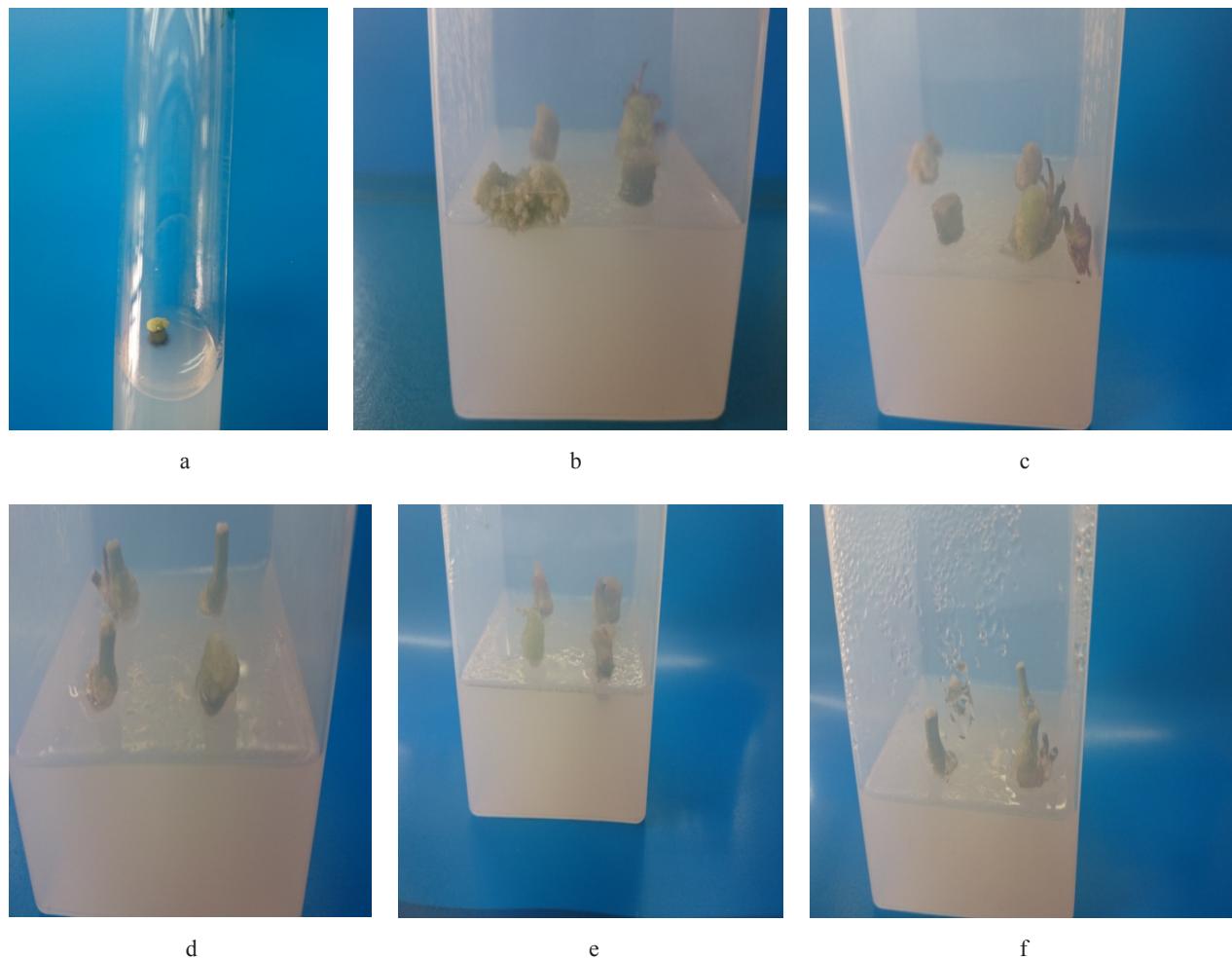
| Medium                                | Explant         | Frequency of regeneration, % | Frequency of callus, % |
|---------------------------------------|-----------------|------------------------------|------------------------|
| MS + 0,3 mg /l 6-BAP<br>+1,5 mg /l AA | stem            | 15,0 $\pm$ 1,1               | 85,0 $\pm$ 7,19        |
|                                       | apical meristem | 10,0 $\pm$ 1,8               | 0                      |
| MS (control)                          | stem            | 0                            | 29,16 $\pm$ 1,47       |
|                                       | apical meristem | 0                            | 0                      |

Obtaining callus, and then regeneration of them polyplloid forms of strawberry garden is of great interest to breeders. Among the polyploids of berry crops, triploids are the most popular, because they differ in a good taste of berries, regular fruiting and high adaptability.

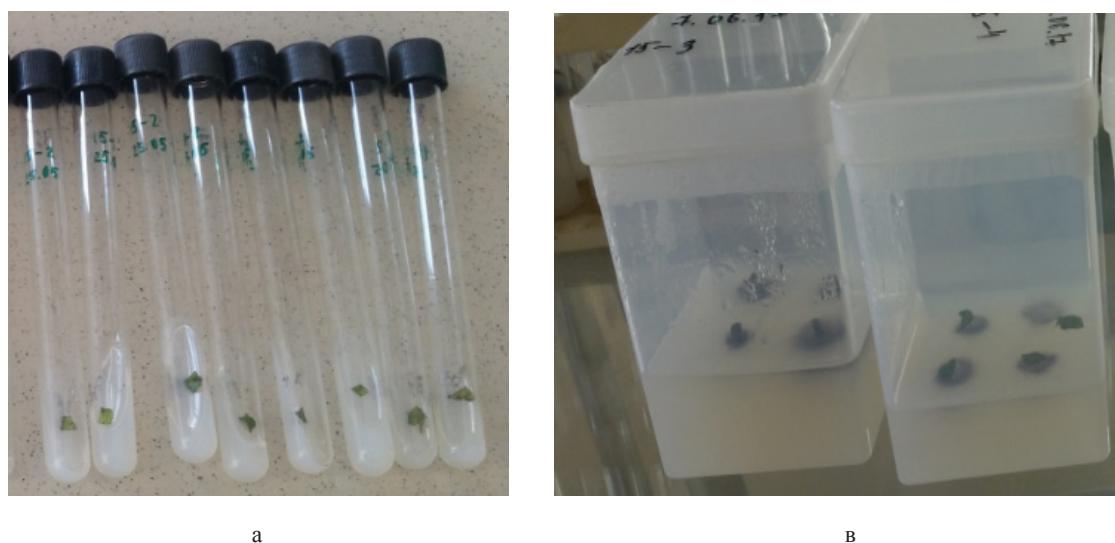
Known studies, which were obtained polyplloid plants in culture in vitro (Tashmatova L.V., 2014: 62; Tashmatov L.V., 2013: 18). The material for induced polyplloidization was apical and adventive buds, which were affected by a colchicine. In our studies, the initial explants (leaves

and stems) were not pretreated by mutagenic chemical agents, as spontaneous polyplloidization of callus tissue took place in the process of callusogenesis.

In the culture of leaf explants was observed a slight darkening of the medium around the explants, which testified to exogenous secondary metabolites secreted by the cells of the leaf. However, the presence of ascorbic acid as antioxidant in the medium, suspended minor necrotic processes observed in the cut of fragments of the leaf blade (Fig.3).



**Figure 2** – Production of morphogenic callus in the culture of stem explants of strawberry garden (A, B, C, D, E,) and regenerants in callus culture *Fragaria ananassa* Duch. (C, F)



**Figure 3** – Leaf explants culture of garden strawberries on MS medium with growth regulators and ascorbic acid (a); on control medium with dark areas around the explants (B)

For rooting, regenerated plants were transferred to MS medium containing 0.5 mg/l and 1 mg/l IAA. On non-hormonal nutrient medium all studied genotypes of strawberries were not rooted. The use of IAA in the nutrient medium at a concentration of 0.5 mg/l did not affect the change in the frequency of regeneration, but stimulated the rooting of microrosettes. Formed roots were not thin, long enough and had root hairs (roots of the second order). Well-developed root system provides further better adaptation of strawberry plants in ex vitro conditions. The use of IAA in higher concentrations was inappropriate, since the process of rhizogenesis is significantly inhibited. Thus, low concentrations

of auxin, in particular 0.5 mg/l of IAA are recommended for rooting of shoots of hybrid forms of strawberries.

As a result of the cultivation of exhibits in vitro microrosettes with a well-developed root system, which was acclimatized and grown on hydroponics (Fig.4). The hydroponic plant used solutions (A, B) with different composition of mineral salts. The results of studies have shown that the most optimal for the development of the root system is the B mineral composition, which is more enriched by the content of mineral salts necessary for the growth and development of strawberry roots and adaptation to the conditions of open ground.



**Figure 4 – Cultivation of microrosettes in vitro on the medium for rooting and growing on hydroponic installation**

Plants adapted to non-sterile conditions were used as planting material, which was grown and propagated in a greenhouse.

### Conclusion

Strawberry garden is the most profitable berry crop and now the question of laying of industrial plantings by the certified highly productive material in sufficient quantity is acute. It is known that

biotechnological methods play an important role in improvement and replication of vegetable material on an industrial scale. Recommended Protocol of optimized nutrient media for cultivation of stem apex, leaf explants and microrosettes everbearing forms of strawberry allows recovery of the valuable genotypes of berry plants, create and maintain genetic collection, which ultimately will increase the efficiency of science and commercial production for obtaining high quality planting material of fruit crops.

### References

- 1 Лутов В.И. Сортопризучение и совершенствование технологии размножения земляники в условиях северной лесостепи предгорий Салаяра: автореф. дис. канд. с.-х.наук, Барнаул. – 2006. – 23 с.
- 2 Высоцкий В.А. Биотехнологические приемы в современном садоводстве // Садоводство и виноградарство. – 2011. – № 2. – С. 2-3.
- 3 Джафарова В.Е. Биотехнологические методы в селекции плодовых культур // Сб. науч. тр. ГНУ ВНИИСПК Совершенствование сортоимента и технологий возделывания плодовых культур. – Орел: ВНИИСПК, 2010. – С.70-72.

- 4 Джафарова В.Е. Оценка микроразмножения и индуцирования полиплоидных меристем и форм яблони (*Malus Domestica* Borkh) // Современное садоводство – Contemporary horticulture. – 2015. – №1. – С. 15-29. <http://vniispk.ru/news/zhurnal//1/13.pdf>
- 5 Ташматова Л.В. Особенности клонального микроразмножения ежевики с различной формой роста // Современное садоводство – Contemporary horticulture. – 2014. – № 4. – С. 60-63. <http://vniispk.ru/news/zhurnal/2014/4/58.pdf>
- 6 Ташматова Л.В. Укоренение и адаптация груши в условиях *in vitro* // Современное садоводство – Contemporary horticulture. – 2013. – №1. – С. 16-20. <http://vniispk.ru/news/zhurnal/2013/003.pdf>
- 7 Белякова Л.В. Применение элиситоров при клональном микроразмножении земляники // Плодоводство и ягодоводство России. – 2011. – № 26. – С. 194-200.
- 8 Алексеенко Л.В. Особенности размножения нейтральных и ремонтантных сортов земляники *in vitro* : автореф. дис. канд. с.-х. наук. – М., 1998. – 34 с.
- 9 Белякова Л.В., Высоцкий В.А., Алексеенко Л.В. Влияние некоторых факторов культивирования на развитие эксплантов земляники в процессе клонального микроразмножения // Садоводство и виноградарство . – 2010. – № 2. – С. 37-42.
- 10 Растроев Л.С. Повышение частоты регенерации растений земляники в культуре каллуса и анализ степени их изменчивости // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2010. – Т. 27, № 3. – С. 56-61.
- 11 Ташматова Л.В., Джафарова В.Е., Мацнева О.В. Использование приемов биотехнологии в садоводстве // Современное садоводство. – 2015. – №4. – С. 19-31
- 12 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. – 1962. – № 15. – Р. 473-497.

### References

- 1 Alekseenko L.V. (1998) Osobennosti razmnozhenia neutralnih i remontantnih sortov zemlyaniki in vitro [Reproduction features of neutral and everbearing strawberry cultivars in vitro], autoreferat of PhD thesis (Moscow), pp. 34.
- 2 Beljakova L.V. (2011) Primenie elisitorov pri klonalnom mikrorazmnozhenii zemlyaniki [The use of elicitors in the clonal micropropagation of strawberry]. Plodovodstvo i vinogradarstvo Rossii. no. 26, pp.194-200.
- 3 Beljakova L.V., Visockiy B.A., Alekseenko L.V. (2010) Vlaniye nekotorih faktorov kultivirovania yfa razvitiye explantov zemlyaniki v processe klonalnogo mikrorazmnozheniya [The influence of some cultivation factors on the development of explants of strawberry in the process of micropropagation]. Sadovodstvo i vinogradarstvo. no. 2, pp. 37-42.
- 4 Dzhafarova B.E. (2010) Biotechnologicheskie methodi v selekcii plodovih kultur [Biotechnological methods in selection of fruit crops] GNU VNIISPK sovershenstvovanie sortimenta i technologii vozdelivaniya plodovih kultur: sbornik nauchnih trudov. (Orel, VNIISPK), pp.70-72.
- 5 Dzhafarova B.E. (2015) Ocenka mikrorazmnozhenia i inducirovania poliploidnih meristem i form jabloni (*Malus Domestica* Borkh) [Evaluation of micropropagation and polyplloid induction of meristems and forms of Apple (*Malus Domestica* Borkh)] Contemporary horticulture. no. 1, pp. 15-29. <http://vniispk.ru/news/zhurnal//1/13.pdf>
- 6 Lutov V.I. (2006) Sortoizuchenie i sovershenstvovanie technologii razmnozhenia zemlyaniki v uslovijah severnoi lesostepi predgorii Salaira: autoreferat PhD thesis. [The study and improvement of the technology of reproduction of strawberries in the conditions of North forest-steppe foothills of the Salair], Barnaul. pp. 23.
- 7 Murashige T., Skoog F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. no.15, pp. 473-497.
- 8 Rastorguev L.S. (2014) Povishenie chastoti regeneracii rastenii zemlyaniki v kulture kallusa i analiz ih izmenchivosti [Increase of regeneration frequency of strawberry plants in callus culture and analysis of their variability]. Plodovodstvo i vinogradarstvo Rossii. vol. 27, no. 3, pp. 56-61.
- 9 Tamshatova L.V. (2013) Ukorenie i adaptacia grushi v uslovijah in vitro [Rooting and adaptation of pears in vitro]. Contemporary horticulture. no. 1, pp.16-20. <http://vniispk.ru/news/zhurnal/2013/003.pdf>
- 10 Tamshatova L.V. (2014) Osobennosti klonalnogo mikrorazmnozhenia ezhewiki s razlichnoi formoi rosta [The peculiarities of clonal micropropagation of BlackBerry with different growth form] Contemporary horticulture. no. 4, pp. 60-63. <http://vniispk.ru/news/zhurnal/2014/4/58.pdf>
- 11 Tamshatova L.V., Dzhafarova B.E., Macneva O.V. (2015) Ispolzovanie priemov biotekhnologii v sadovodstve [Use of biotechnology techniques in horticulture]. Sovremennoe sadovodstvo. no. 3, pp. 57-61.
- 12 Visockiy B.A. (2011) Biotechnologicheskie priemi v sovremenov sadovodstve [Biotechnological techniques in modern gardening] Sadovodstvo i vinogradarstvo,vol. 2, pp. 2-3.



4-бөлім

**МОЛЕКУЛАРЫҚ**

**БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА**

---

Раздел 4

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ**

**БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА**

---

Section 4

**MOLECULAR**

**BIOLOGY AND GENETICS**

IRSTI 34.15.25; 76.03.31; 31.27.31;

**Aisina D.<sup>1</sup>, Niyazova R.<sup>2</sup>, Atambayeva Sh.<sup>3</sup>, Imyanitov E.<sup>4</sup>, Ivashchenko A.<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>PhD-student, trainee researcher, e-mail: dana.aisina03@gmail.com

<sup>2</sup>candidate of biological sciences, professor, leading researcher, e-mail: raygul.niyazova@kaznu.kz

<sup>3</sup>candidate of biological sciences, associate professor, leading researcher, e-mail: shara.atambaeva@kaznu.kz

<sup>4</sup>doctor of biological sciences, professor, chief researcher, e-mail: a\_ivashchenko@mail.ru

Scientific Research Institute of Biology and Biotechnology Problems,

al-Farabi Kazakh National University, the Republic of Kazakhstan, Almaty

<sup>4</sup>doctor of medical sciences, professor, member of corr. of RAS, Head of Laboratory

of National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Petrov,

Russia, Saint-Petersburg, e-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru, imyanitov@mail.ru

## **FEATURES OF MIRNA BINDING WITH mRNA OF CANDIDATE GENES OF BREAST CANCER SUBTYPES**

To determine associations of miRNA and mRNA of their target genes, binding characteristics of miRNA and mRNA of candidate genes of four subtypes of the breast cancer have been studied. Half of candidate genes of the triple-negative subtype had binding sites for several miRNAs. mRNA of ATM gene had seven binding sites for miR-5095, miR-619-5p, miR-5096, miR-5585-3p, miR-1273a, miR-1273g-3p, all of which bind in the 3'UTR. mRNA of AXL gene, the tyrosine kinase receptor, had binding sites for five miRNAs that are localized in 3'UTR, CDS, and 5'UTR. From five miRNA, miR-1908-3p may be the most effective regulated the expression of protooncogene CBL. mRNA of CEACAM5 gene contained binding sites of miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p with a high degree of complementarity. mRNA of F2RL1, IAPP genes have binding sites predominantly for miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096. Based on the obtained data, it is necessary to control the expression of candidate genes of the triple-negative subtype with miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096 and miR-1273a, miR-1273e, miR-1273g-3p. A high free binding energy was detected for pairs of miR-6089 and triple-negative subtype RUNX1 and SFN candidate genes mRNA. mRNA of IL11, MAGEA10 and STMN1 genes had binding sites of miR-619-5p and miR-1273a, miR-1273d, miR-1273e, miR-1273f.

mRNA of the subtype her2 candidate genes ADAM17, AURKA and BRCA2 strongly bind miR-619-5p. mRNA of BRIP1 gene has sites for miR-1285-5p, miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-1273a, miR-1273g-3p. mRNA of CDK6 gene has binding sites for miR-548 family and multiple sites for miR-466. The presence of such binding sites in mRNA of CDK6 gene several times increases the probability of its interaction with these miRNAs. The key candidate gene ERBB3 of the her2 subtype interacts with miR-619-5p with high complementarity. 12 miRNAs can bind to mRNA of MAZ gene, binding sites are located in 5'UTR and CDS. mRNA of candidate genes of the subtype luminal A, B can bind: HMGA2 gene – five miRNA, MAPT gene – six miRNA, SMAD3 gene – four miRNA, TGFB1 gene – six miRNA. mRNA of TGFB1 and SMAD3 genes had four and three effective miR-6089 binding sites, respectively. A special feature of candidate genes of the subtype luminal A, B is the absence in their mRNA binding sites of the unique miRNA family miR-1273 and group miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096, miR-1285-5p.

**Key words:** miRNA, mRNA, subtypes of breast cancer, target genes.

Айсина Д.<sup>1</sup>, Ниязова Р.<sup>2</sup>, Атамбаева Ш.<sup>3</sup>, Имянитов Е.<sup>4</sup>, Иващенко А.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>PhD-докторантурасынан студенті, тәжірибе-жинақтаушы, e-mail: dana.aisina03@gmail.com

<sup>2</sup>биология ғылымдарының кандидаты, профессор, жетекші ғылыми қызметкер, e-mail: raygul.nyiyazova@kaznu.kz

<sup>3</sup>биология ғылымдарының кандидаты, доцент, жетекші ғылыми қызметкер, e-mail: shara.atambaeva@kaznu.kz

<sup>5</sup>биология ғылымдарының докторы, профессор, бас ғылыми қызметкер, e-mail: a\_ivashchenko@mail.ru

Биология және биотехнология мәселелерінің ғылыми-зерттеу институты,

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

<sup>4</sup>медицина ғылымдарының докторы, профессор, РРА-ның корреспондент-мүшесі, Н.Н. Петров атындағы онкология ұлттық медициналық-зерттеу орталықтың 1сік есү биология бөлімінің менгерушісі,

Ресей, Санкт-Петербург қ., e-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru, imyanitov@mail.ru

## **Сүт безі қатерлі ісігі субтипптерінің кандидатты гендердің miRNA мен mRNAның байланысу ерекшеліктері**

miRNA мен олардың нысана гендерінің mRNAның ассоциацияларын анықтау үшін сүт безі қатерлі ісігінің төрт субтипптерінің кандидатты гендерінің mRNA мен miRNAның әрекеттесу сипаттамалары зерттелді. Triple-negative субтиппінің кандидатты гендердің жартысы бірнеше miRNA байланыстыратын сайттары болды. ATM генінің mRNA құрамында miR-5095, miR-619-5p, miR-5096, miR-5585-3p, miR-1273a, miR-1273g-3p үшін жеті байланысу сайттар бар, олардың барлығы 3'UTR-де байланысады. AXL генінің, тирозин киназаның рецепторының mRNAда бес miRNA байланыстыратын сайттары 3'UTR, CDS және 5'UTR-де локализацияланған болған. Бес miRNA-ның ішінен CBLprotoонкогеннің экспрессиясының тиімді реттеуіне miR-1908-3p қатысуы мүмкін. CEACAM5 генінің mRNA құрамында miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p жоғары дәрежелі комплементарлығымен байланыстыру сайттары бар. F2RL1, IAPP гендердің mRNAда miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096 байланыстыру сайттары бар. Маркерлар ретінде алынған мәліметтер негізінде triple-negative субтиппінің кандидатты гендердің экспрессиясын miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096 және miR-1273a, miR-1273e, miR-1273g-3p қатысуымен реттеу қажет. miR-6089 және triple-negative субтиппін RUNX1 мен SFN кандидатты гендерінің mRNA жұптары үшін байланысудың жоғары бос энергиясы анықталды. IL11, MAGEA10 и STMN1 гендердің mRNAда miR-619-5p и miR-1273a, miR-1273d, miR-1273e, miR-1273f байланыстыру сайттар анықталды.

Her2 субтиппің ADAM17, AURKA және BRCA2 кандидаттық гендердің mRNAлары miR-619-5p күшті байланыстырады. BRIP1 генінің mRNAнда miR-1285-5p, miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-1273a, miR-1273g-3p байланыстыру сайттары бар. CDK6 генінің mRNAнда miR-548 отбасын байланыстыратын сайттары және miR-466 байланыстыратын көптік сайттары бар. CDK6 генінің mRNAнда мұндай байланыстыру сайттарының болуы оның осы miRNA-мен әрекеттесуін бірнеше есе арттырады. Her2 субтиппің ERBB3 кілтті кандидатты гені miR-619-5p-мен жоғары комплементарлықпен байланысады. MAZ генінің mRNA-мен 12 miRNA 5'UTR және CDS-де байланыса алады. A, B luminal субтиппің кандидатты гендерінің mRNAмен байланысады: HMGА2 геннің – бес miRNA, MАРТ геннің – алты miRNA, SMAD3 геннің – төрт miRNA, TGFB1 геннің – алты miRNA. TGFB1 және SMAD3 гендерінің mRNAнда сәйкесінше төрт және үш эффективті miR-6089 байланыстыратын сайттары болды. A, B luminal субтиппің кандидатты гендерінің ерекшелігі miR-1273 отбасының және miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096, miR-1285-5p тобының уникалды miRNA байланысу сайттарының болмауы болып табылады.

**Тұйін сөздер:** miRNA, mRNA, сүт безінің қатерлі ісігінің субтиппері, нысана гендер.

Айсина Д.<sup>1</sup>, Ниязова Р.<sup>2</sup>, Атамбаева Ш.<sup>3</sup>, Имянитов Е.<sup>4</sup>, Иващенко А.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>студент PhD-докторантуры, стажер-исследователь, e-mail: dana.aisina03@gmail.com

<sup>2</sup>кандидат биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, e-mail: raygul.nyiyazova@kaznu.kz

<sup>3</sup>кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, e-mail: shara.atambaeva@kaznu.kz

<sup>5</sup>доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, e-mail: a\_ivashchenko@mail.ru

Научно-исследовательский институт проблем биотехнологии,

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

<sup>4</sup>доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, заведующий отделом биологии опухолевого роста Национального медицинского исследовательского центра онкологии имени Н.Н. Петрова,

Россия, г. Санкт-Петербург, e-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru, imyanitov@mail.ru

## **Особенности связывания miRNA с mRNA кандидатных генов субтипов рака молочной железы**

Для выявления ассоциаций miRNA и mRNA их генов мишней изучены характеристики взаимодействия miRNA и mRNA кандидатных генов четырех субтипов рака молочной железы. Половина кандидатных генов субтипа triple-negative имели сайты связывания для нескольких miRNA. mRNA гена ATM содержала семь сайтов связывания для miR-5095, miR-619-5p, miR-5096, miR-

5585-3p, miR-1273a, miR-1273g-3p, которые все связываются в 3'UTR. mRNA гена AXL, рецептора тирозин киназы, имела сайты связывания для пяти miRNA, которые локализованы в 3'UTR, CDS и 5'UTR. Из пяти miRNA наибольшей эффективностью регуляции экспрессииprotoонкогена CBL может обладать miR-1908-3p. mRNA гена CEACAM5 содержала сайты связывания miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p с высокой степенью комплементарности. mRNA генов F2RL1, IAPP имеют сайты связывания преимущественно для miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096. На основании полученных данных в качестве маркеров необходимо контролировать экспрессию кандидатных генов субтипа triple-negative с miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096 и miR-1273a, miR-1273e, miR-1273g-3p. Высокая величина свободной энергии связывания выявлена для пар miR-6089 и mRNA RUNX1 и SFN – кандидатных генов субтипа triple-negative. mRNA генов IL11, MAGEA10 и STMN1 имели сайты связывания miR-619-5p и miR-1273a, miR-1273d, miR-1273e, miR-1273f.

mRNA кандидатных генов субтипа her2 ADAM17, AURKA и BRCA2 сильно связывают miR-619-5p. mRNA гена BRIP1 имеет сайты miR-1285-5p, miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-1273a, miR-1273g-3p. mRNA гена CDK6 имеет сайты связывания для семейства miR-548 и множественные сайты для miR-466. Наличие в mRNA гена CDK6 таких сайтов связывания в несколько раз увеличивает вероятность ее взаимодействия с этими miRNA. Ключевой кандидатный ген ERBB3 субтипа her2 взаимодействует с miR-619-5p с высокой комплементарностью. С mRNA гена MAZ могут связываться 12 miRNA, сайты связывания которых расположены в 5'UTR и CDS. С mRNA кандидатных генов субтипа luminal A,B связывались: гена HMGA2 – пять miRNA, гена MAPT – шесть miRNA, гена SMAD3 – четыре miRNA, гена TGFB1 – шесть miRNA. mRNA генов TGFB1 и SMAD3 имели соответственно четыре и три эффективных сайтов связывания miR-6089. Особенностью кандидатных генов субтипа luminal A,B является отсутствие в их mRNA сайтов связывания уникальных miRNA семейства miR-1273 и группы miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096, miR-1285-5p.

**Ключевые слова:** miRNA, mRNA, субтипы рака молочной железы, гены-мишени.

## Introduction

Due to the development of molecular genetic technologies for establishing the causes of oncological diseases (OD), tens and hundreds of genes participating in the development of specific types and subtypes of OD have been identified in recent years (Chistiakov, 2016: 107-121). Unfortunately, the established candidate genes responsible for the development of OD are not systematized and it is required to clarify the role of these genes in the development of various subtypes of the OD. Classification of subtypes of OD on the basis of molecular features is improved, but the lack of information on the expression of candidate genes in different subtypes is a barrier for using of these genes as targets for targeted therapy.

Breast cancer (BC) by molecular genetic traits is divided into several subtypes. At present, the opinion is being expressed that the subtypes of oncological diseases are formed due to the different expression of many genes that are expressed in different subtypes with a greater or lesser degree than in the tissue of a healthy person. Multiple differences in the expression of genes cause a variety of ways of the oncogenesis. Identification of these differences is necessary, since targeted therapy involves the identification of target genes that determine the subtype of oncogenesis in the greatest degree. Modern

molecular classifications of subtypes of breast cancer are based on gene expression profiles according to the following markers: the estrogen receptor (ER), the progesterone receptor (PR), the androgen receptor (AR), the epidermal growth factor receptor (HER), the anti-apoptosis proteins (Bcl-2, p53), cell proliferation proteins, matrix metalloproteinas (MMP), integrins, transduction transfer proteins, cyclins, cyclin dependent kinases (CDK), epithelial-mesenchymal factors, cadherins, transcription factors, metastasis control factors, factors of angiogenesis, etc. (Yu, 2017: 142-152). The existing molecular classification of breast cancer includes subtypes: luminal A and luminal B, which we combined into a subtype of luminal A, B; subtype her2; subtype triple-negative, also known as basal like.

On the basis of clinical data, these subtypes differ in frequency of occurrence, rate of growth, invasiveness, ability to metastasis, etc. The reason for these differences in the subtypes of breast cancer is different sets of genes involved in the development of these subtypes of oncogenesis. In connection with this, it is required to develop methods for early diagnosis of subtypes of OD, based on the identification of candidate genes and other molecular genetic factors involved in the regulation of expression of these genes. With the correct diagnosis, it will be possible to develop methods of targeted therapy on the base of identified

molecular genetic causes of the disease. Among the molecules involved in the regulation of the expression of most genes of the human genome are miRNAs that effectively affect on the expression of protein-coding target genes. (Ergün, 2015: 497-505; Hannafon, 2016: 90; Krishnan, 2015: 735; Li, 2017: 133; MacFarlane, 2010: 537-561; Wang, 2017: 72) A number of studies have shown a change in the concentration of miRNA in the development of BC, however, there are no publications showing the specific role of miRNA in the disease. This is due to a number of reasons that will be discussed in this paper. The aim of this study is to establish associations of miRNAs and their target genes that can serve as markers of subtypes of breast cancer. It is shown that one miRNA can bind to several hundred mRNA target genes (Atambayeva, 2017: 428; Ivashchenko, 2014: e8; Ivashchenko, 2014: e11). In this study, 47 genes have been studied, the expression of which varies with different subtypes of breast cancer.

## Materials and methods

The nucleotide sequences of candidate genes of the BC subtypes were downloaded from GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). The miRNA nucleotide sequences were downloaded from miRBase database (<http://www.mirbase.org>). The MirTarget program (Ivashchenko, 2014: 423-427) was used to search for binding sites, free energy of binding ( $\Delta G$ ), and interaction schemes. The value of  $\Delta G/\Delta G_m$  was used as a comparative quantitative criterion of the interaction strength of miRNA with mRNA, where  $\Delta G_m$  is equal to the free energy of miRNA binding with a completely complementary nucleotide sequence. The MirTarget program calculates the ratio  $\Delta G/\Delta G_m$ , determines the location of microRNA site in the 5'-untranslated region (5'UTR), in the protein-coding region (CDS) or in the 3'-untranslated region (3'UTR). Table 1 shows sources of information on candidate genes of breast cancer subtypes which were targets for miRNAs from miRBase.

**Table 1** – Candidate genes of subtypes of BC, indicating sources of information on their participation in oncogenesis of breast cancer

|   |
|---|
| Subtype her2<br><i>ADAM17</i> (doi: 10.1016/j.acthis.2011.03.009); <i>AURKA</i> (doi: 10.1038/s41523-017-0049-z); <i>BRCA2</i> (doi: 10.1155/2016/5718104); <i>BRIP1</i> (doi: 10.1863/oncotarget.7027); <i>CDK6</i> (doi: 10.2147/BCTT.S150540); <i>EPOR</i> (doi: 10.1007/s10549-012-2316-x); <i>ERBB3(HER3)</i> (doi: 10.1863/oncotarget.22027); <i>H2AFX(H2AX)</i> (doi: 10.1863/oncotarget.2259); <i>MAPK3 (ERK1)</i> (doi: 10.1016/j.bbrc.2017.06.001); <i>MAZ</i> (doi: 10.1371/journal.pone.0026122); <i>NISCH</i> (doi: 10.1016/j.artmed.2016.10.003); <i>TIMP3</i> (doi: 10.1016/j.humpath.2011.12.022).  |
| Subtype triple negative (basal like)<br><i>ATM</i> (doi: 10.1007/s40262-017-0587-4); <i>AXL</i> (doi: 10.1155/2017/1686525); <i>BIRC5</i> (doi: 10.1186/1756-9966-31-58); <i>CBL</i> (doi: 10.1073/pnas.1300873110); <i>CD44</i> (doi: 10.1093/protein/gzx063); <i>CEACAM5 (CEA)</i> (doi: 10.1016/j.cca.2017.04.023); <i>ERBB3</i> (doi: 10.1863/oncotarget.13284); <i>F2RL1 (PAR2)</i> (doi: 10.1002/cmdc.201700640); <i>FGFR2</i> (doi: 10.1007/s00428-016-1950-9); <i>FIS1 (LINC01554)</i> (doi: 10.1186/bcr3588); <i>IAPP (IAP)</i> (doi: 10.1863/oncotarget.20227); <i>ILII</i> (doi: 10.1371/journal.pone.0037361); <i>JHDM1D(KDM7A)</i> (doi: 10.1002/ijc.27629); <i>LAMC1</i> (doi: 10.1016/j.molonc.2012.03.003); <i>LASP1</i> (doi: 10.1186/1756-9966-31-58); <i>MAGEA10</i> (doi: 10.1016/j.acthis.2014.01.003); <i>MID1</i> (doi: 10.1016/j.ajpath.2013.02.046); <i>MMP2</i> (doi: 10.1038/srep28623); <i>PFNI</i> (doi: 10.1080/15384101.2017.1346759); <i>PRKCE</i> (doi: 10.1038/onc.2013.91); <i>PRRT2 (PKC)</i> (doi: 10.1002/cmdc.201700640); <i>RUNX1</i> (doi: 10.1016/j.ebiom.2016.04.032); <i>SERPINE1 (PAII)</i> (doi: 10.1186/1471-2407-13-268); <i>SFN</i> (doi: 10.1073/pnas.1315022110); <i>STMN1</i> (doi: 10.3892/ijo.2017.4085). |
| Subtype luminal A,B<br><i>EZH1</i> (doi: 10.1371/journal.pgen.1002751); <i>FOXA1</i> (doi: 10.1038/modpathol.2017.107); <i>GTF2IRD1</i> (doi: 10.2353/ajpath.2010.090837); <i>HMGAA2</i> (doi: 10.1371/journal.pgen.1002751); <i>ITGB1</i> (doi: 10.1080/15548627.2016.1213928); <i>MAPT</i> (doi: 10.1007/s00428-012-1357-1); <i>MCM7</i> (doi: 10.1371/journal.pgen.1002751); <i>SMAD3</i> (doi: 10.1074/jbc.M113.506535); <i>SOX4</i> (doi: 10.1371/journal.pgen.1002751); <i>TGFB1 (TGFB)</i> (doi: 10.1038/ncb2672).   |

## Results and Discussion

To diagnose subtypes of breast cancer, it is necessary to use a number of associations combining the reliability and economy of using these associations. We selected candidate genes

(Table 1) from more than 600 genes involved in the development of BC, which can serve as a basis for selective diagnosis of subtypes of BC. For the candidate genes listed in Table 1, the change in their expression in subtypes of breast cancer was experimentally established.

*Characteristics of the interaction of miRNA with mRNA of candidate genes of the triple-negative subtype*

25 candidate genes of the triple-negative subtype were targets for miRNA (Table 2). Many of them had binding sites for several miRNAs. At equal concentrations of these miRNA and mRNA gene, there will be a significant suppression of protein synthesis by miRNAs that bind more strongly to mRNA. The *ATM* gene encodes a

kinase that is highly expressed in the lymph nodes and by phosphorylation of a wide range of proteins, including tumor suppressors p53 and BRCA1, kinase CHK2, proteins RAD17 and RAD9, DNA repair protein NBS1, involved in the regulation of the cell cycle. mRNA of *ATM* gene had seven binding sites for unique miRNAs: miR-5095, miR-619-5p, miR-5096, miR-5585-3p, miR-1273a, miR-1273g-3p, which all bind in the 3'UTR (Table 2).

**Table 2** – Schemes of interaction of miRNA with mRNA of candidate genes of Triple-negative (Basal-like) subtype

| Gene           | miRNA                 | Beginning of sites, nt | ΔG, kJ/mole | ΔG/ΔGm, % | Lenght, nt |
|----------------|-----------------------|------------------------|-------------|-----------|------------|
| 1              | 2                     | 3                      | 4           | 5         | 6          |
| <i>ATM</i>     | miR-5095(SCP2)        | 9787                   | -108        | 93        | 21         |
| <i>ATM</i>     | miR-619-5p(SSH1)      | 9793                   | -119        | 98        | 22         |
| <i>ATM</i>     | miR-5096(BMP2K)       | 9882                   | -104        | 92        | 21         |
| <i>ATM</i>     | miR-5585-3p(TMEM39B)  | 9950                   | -110        | 95        | 22         |
| <i>ATM</i>     | miR-1273a(RGS22)      | 11054                  | -119        | 90        | 25         |
| <i>ATM</i>     | miR-1273g-3p(SCP2)    | 11076                  | -113        | 96        | 21         |
| <i>ATM</i>     | miR-1273e(x)          | 11119                  | -108        | 93        | 22         |
| <i>AXL</i>     | miR-6743-5p(ig)       | 124**                  | -117        | 90        | 22         |
| <i>AXL</i>     | miR-7152-3p(ig)       | 2620*                  | -106        | 94        | 20         |
| <i>AXL</i>     | miR-6086(EGFL6)       | 2792*                  | -106        | 94        | 20         |
| <i>AXL</i>     | miR-1273g-3p(SCP2)    | 3323                   | -115        | 98        | 21         |
| <i>AXL</i>     | miR-3929(ig)          | 3518                   | -110        | 90        | 23         |
| <i>BIRC5</i>   | miR-5095(SCP2)        | 352*                   | -106        | 91        | 21         |
| <i>CBL</i>     | miR-1908-3p(0-0)      | 30**                   | -121        | 92        | 21         |
| <i>CBL</i>     | miR-1273a(RGS22)      | 7727                   | -117        | 89        | 25         |
| <i>CBL</i>     | miR-1273g-3p(SCP2)    | 7749                   | -115        | 98        | 21         |
| <i>CBL</i>     | miR-1470(AC020911)    | 9246                   | -115        | 90        | 21         |
| <i>CBL</i>     | miR-4743-5p(KIAA0427) | 9822                   | -113        | 87        | 23         |
| <i>CD44</i>    | miR-4763-3p(RP4)      | 354**                  | -121        | 85        | 24         |
| <i>CEACAM5</i> | miR-1291(C12orf41)    | 2159*                  | -113        | 85        | 24         |
| <i>CEACAM5</i> | miR-5585-3p(TMEM39B)  | 2441                   | -108        | 93        | 22         |
| <i>CEACAM5</i> | miR-5095(SCP2)        | 3229                   | -115        | 98        | 21         |
| <i>CEACAM5</i> | miR-619-5p(SSH1)      | 3235                   | -119        | 98        | 22         |
| <i>CEACAM5</i> | miR-5585-3p(TMEM39B)  | 3378                   | -113        | 96        | 22         |
| <i>ERBB3</i>   | miR-619-5p(SSH1)      | 4950                   | -117        | 96        | 22         |
| <i>ERBB3</i>   | miR-619-5p(SSH1)      | 5104                   | -121        | 100       | 22         |
| <i>ERBB3</i>   | miR-1322(PINX1)       | 5632                   | -87         | 85        | 19         |
| <i>F2RL1</i>   | miR-619-5p(SSH1)      | 1943                   | -110        | 91        | 22         |
| <i>F2RL1</i>   | miR-5096(BMP2K)       | 2016                   | -104        | 92        | 21         |
| <i>FGFR2</i>   | miR-6749-5p(ATG2A)    | 405**                  | -119        | 92        | 22         |
| <i>FGFR2</i>   | miR-1322(PINX1)       | 504**                  | -87         | 85        | 19         |

Continuation of table 2

| Gene            | miRNA                 | Beginning of sites, nt | $\Delta G, \text{kJ/mole}$ | $\Delta G/\Delta G_m, \%$ | Lenght, nt |
|-----------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|------------|
| 1               | 2                     | 3                      | 4                          | 5                         | 6          |
| <i>FISI</i>     | miR-1273g-3p(SCP2)    | 14**                   | -110                       | 95                        | 21         |
| <i>FISI</i>     | miR-6892-3p(ig)       | 17**                   | -110                       | 93                        | 21         |
| <i>FISI</i>     | miR-1914-3p(UCKL1)    | 230**                  | -117                       | 90                        | 22         |
| <i>FISI</i>     | miR-933(ATF2)         | 506**                  | -117                       | 93                        | 22         |
| <i>FISI</i>     | miR-6756-5p(MCAM)     | 1156*                  | -123                       | 92                        | 23         |
| <i>IAPP</i>     | miR-619-5p(SSH1)      | 804                    | -117                       | 96                        | 22         |
| <i>IAPP</i>     | miR-5096(BMP2K)       | 876                    | -113                       | 100                       | 21         |
| <i>IAPP</i>     | miR-5585-3p(TMEM39B)  | 944                    | -108                       | 93                        | 22         |
| <i>IL11</i>     | miR-328-5p(0-0)       | 216**                  | -125                       | 91                        | 23         |
| <i>IL11</i>     | miR-4436b-5p(MALL)    | 1253                   | -113                       | 90                        | 22         |
| <i>IL11</i>     | miR-1273f(SCP2-5UTR)  | 1466                   | -102                       | 98                        | 19         |
| <i>IL11</i>     | miR-1273d(KIF1B)      | 1467                   | -121                       | 89                        | 25         |
| <i>IL11</i>     | miR-1273e(x)          | 1476                   | -113                       | 96                        | 22         |
| <i>IL11</i>     | miR-619-5p(SSH1)      | 1988                   | -113                       | 93                        | 22         |
| <i>JHDM1D</i>   | miR-7158-5p(ig)       | 28*                    | -115                       | 86                        | 24         |
| <i>JHDM1D</i>   | miR-6729-5p(MIIP)     | 94*                    | -117                       | 89                        | 22         |
| <i>LAMC1</i>    | miR-3187-5p(LPPR3)    | 652*                   | -115                       | 87                        | 23         |
| <i>LASPI</i>    | miR-149-5p(GPC1)      | 734*                   | -115                       | 90                        | 23         |
| <i>MAGEA10</i>  | miR-1273g-3p(SCP2)    | 2145                   | -108                       | 93                        | 21         |
| <i>MAGEA10</i>  | miR-1273d(KIF1B)      | 2179                   | -117                       | 86                        | 25         |
| <i>MAGEA10</i>  | miR-1273e(x)          | 2188                   | -110                       | 95                        | 22         |
| <i>MID1</i>     | miR-6735-5p(SZT2)     | 2115*                  | -119                       | 86                        | 25         |
| <i>MMP2</i>     | miR-1285-5p(AC000120) | 1376*                  | -104                       | 92                        | 21         |
| <i>MMP2</i>     | miR-328-5p(0-0)       | 3009                   | -119                       | 86                        | 23         |
| <i>PFN1</i>     | miR-6867-5p(ig)       | 1160                   | -110                       | 91                        | 23         |
| <i>PRKCE</i>    | miR-328-5p(0-0)       | 2558                   | -119                       | 86                        | 23         |
| <i>PRKCE</i>    | miR-6831-5p(ig)       | 2563                   | -110                       | 85                        | 24         |
| <i>PRRT2</i>    | miR-6743-5p(ig)       | 1379*                  | -115                       | 89                        | 22         |
| <i>RUNXI</i>    | miR-6089(ig)          | 1431**                 | -127                       | 86                        | 24         |
| <i>RUNXI</i>    | miR-466(ig)           | 5456                   | -106                       | 91                        | 23         |
| <i>RUNXI</i>    | miR-466(ig)           | 5460                   | -110                       | 95                        | 23         |
| <i>SERPINE1</i> | miR-4758-3p(LAMA5)    | 277*                   | -119                       | 90                        | 23         |
| <i>SFN</i>      | miR-638(DNM2)         | 40**                   | -127                       | 86                        | 25         |
| <i>SFN</i>      | miR-6089(igc)         | 826                    | -129                       | 87                        | 24         |
| <i>SFN</i>      | miR-6846-5p(ig)       | 839                    | -113                       | 91                        | 22         |
| <i>SFN</i>      | miR-466(ig)           | 1190 ÷ 1200            | -106                       | 91                        | 23         |
| <i>STMN1</i>    | miR-1273a(RGS22)      | 1729                   | -115                       | 87                        | 25         |
| <i>STMN1</i>    | miR-1273g-3p(SCP2)    | 1751                   | -108                       | 93                        | 21         |
| <i>STMN1</i>    | miR-1268a(ig)         | 1855                   | -102                       | 94                        | 18         |
| <i>STMN1</i>    | miR-1972(PDXDC1)      | 1991                   | -117                       | 95                        | 22         |

Note. Without an asterisk – 3'UTR, \* – CDS, \*\* – 5'UTR. The host gene or the intergenic origin of ig miRNA is in parentheses.

Control of the expression of *ATM* gene and the detection of the level of miR-5095, miR-619-5p, miR-5096, miR-5585-3p, miR-1273a, miR-1273g-3p and miR-1273e with high probability characterize the development of breast cancer on the triple-negative subtype and the appearance of metastases in the lymph nodes in which *ATM* gene is highly expressed. That is, suppression of its synthesis will increase the probability of metastasis in the lymph nodes. The data in Table 2 shows strong control of the expression of *ATM* gene by unique miRNAs mentioned above. The specificity of the *ATM* gene is that all miRNA binding sites are located in the 3'UTR of its mRNA. mRNA of *AXL* gene (Bonora, 2015: 1608), the tyrosine kinase receptor, had five binding sites for five miRNAs that are located in 3'UTR, CDS, and 5'UTR. miR-1273g-3p was almost completely complementary to mRNA (Table 2). Based on the presented data, the expression of the *AXL* gene can be substantially controlled by miR-6743-5p, miR-1273g-3p, miR-3929, miR-6086 and miR-7152-3p, three of which are encoded in intergenic regions, i.e. expressed independently. Unique miR-1273a, miR-1273g-3p had binding sites in the mRNA of the protooncogene *CBL* (Lee, 2013: 11121-6). Of the five miRNAs, the most effective regulation effect on the *CBL* gene expression may have miR-1908-3p which bind to mRNA with free energy of -121 kJ/mole. Note that binding miRNA in the 5'UTR mRNA allows to stop protein synthesis at the beginning of this process in order not to waste energy on the synthesis of a polypeptide that can be interrupted by the strong binding of miRNA. The mRNA of *CBL* gene had miRNA binding sites encoded the oligopeptides HHHHHHH, DDDDD and PPPPPP in CBL protein. The characteristics of miRNA binding sites encoded these oligopeptides are not given in Table 2, since they bind with a lower free energy, but at a concentration greater than the concentration of mRNA, they can significantly inhibit translation. The mRNA of *CEACAM5* (Wang, 2017: 51-55) gene had binding sites of miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p with a high degree of complementarity:  $\Delta G/\Delta G_m$  value is varied from 85% to 98%. Binding sites for these miRNAs were located in a restricted region of mRNA. The mRNA of *F2RL1* (Zhang, 2017: 59086-59102) and *IAPP* (Jo, 2017: 78781-78795) genes had binding sites predominantly for miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096. Moreover, miR-5096 was completely complementary to the binding site of mRNA of *IAPP* gene (Table 2). miR-6089 with a high free binding energy interacts with mRNA of

*RUNXI* and *SFN* (Boudreau, 2013: e3937-44) target genes. For this reason, miR-6089 can be used as a marker for the diagnosis of the triple negative subtype. The mRNA of *RUNXI* and *SFN* genes, in addition to binding miR-6089, have binding sites for miR-466, which is also recommended as a marker because it has multiple binding sites in mRNA of *RUNXI* gene. The mRNA of *IL11* gene had binding sites for six miRNAs (Table 2), of which miR-619-5p and miR-1273a, miR-1273d, miR-1273e, miR-1273f have been recommended above as participant of associations for markers. Some of these miRNAs bind to mRNA of *MAGEA10* and *STMN1* genes (Table 2), which confirms the necessity of control their concentration to establish the development of the disease by the triple negative subtype. The mRNA of *ERBB3* gene (Hayes, 2017: e0177919; Mota, 2017: 89284-89306) effectively bind miR-619-5p in two sites, in one site even with full complementarity. In addition, miR-1322 had multiple sites in mRNA, which puts the expression of *ERBB3* gene in a strong dependence on these miRNAs. Based on the obtained data (Table 2), it is necessary to control the expression of candidate genes of the triple-negative subtype with the following miRNAs as markers: miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096 and miR-1273a, miR-1273e , miR-1273g-3p.

Table 3 shows the schemes and characteristics of binding of some miRNAs to mRNA of candidate genes of the triple-negative subtype of BC.

These data show that in all cases, miRNA binds to mRNA without disrupting the double-stranded structure, since the interaction between non-canonical pairs of nucleotides A-C and G-U does not change the distance between RNA chains. These schemes demonstrate the advantage of the MirTarget program among the commonly used programs in determining the free energy of miRNA interaction with mRNA, which is calculated taking into account the formation of non-canonical pairs of nucleotides A and C, G and U.

#### *Characteristics of the interaction of miRNA with mRNA of candidate genes of subtype her2*

The twelve candidate genes of subtype her2 shown in Table 1 were targets for miRNAs (Table 4). The *ADAM17* gene belongs to the family of disintegrins and metalloproteases. It is involved in the processing of tumor necrosis factor  $\alpha$  on the cell surface and in intracellular membranes of the trans-network of Golgi apparatus (Pham, 2017: 5507-5513). The mRNA of *ADAM17* gene fully complementary bind miR-619-5p.

**Table 3** – Schemes of the interaction of miRNA with mRNA of candidate genes of the triple negative subtype of BC

|   |   |
|---|---|
| <i>ATM</i> ; miR-619-5p; 3'UTR; 9793; -119; 98<br>5' - GGCUCACGCCUGUAUCCCAGC - 3'<br>                     <br>3' - CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG - 5'    | <i>AXL</i> ; miR-1273g-3p; 3'UTR; 3323;-115; 98<br>5' - CCCAGGCUGGAGUGCAGUGGU - 3'<br>                     <br>3' - GAGUCCGACCUCACGUCACCA - 5'      |
| <i>CBL</i> ; miR-1273g-3p; 3'UTR; 7749; -115; 98<br>5' - CCCAGGCUGGAGUGCAGUGGU - 3'<br>                     <br>3' - GAGUCCGACCUCACGUCACCA - 5'   | <i>CEACAM5</i> ; miR-5095; 3'UTR; 3229; -115; 98<br>5' - CGCGGUGGCUCACGCCUGUAA - 3'<br>                     <br>3' - GCGCCACCAAGUGCGGACAUU - 5'     |
| <i>CEACAM5</i> ; miR-619-5p; 3'UTR; 3235; -115; 98<br>5' - CGCGGUGGCUCACGCCUGUAA - 3'<br>                     <br>3' - GCGCCACCAAGUGCGGACAUU - 5' | <i>F2RL1</i> ; miR-619-5p; 3'UTR; 1943; -110; 91<br>5' - GCCUCAUGCUCUGUAUCCUAGC - 3'<br>                       <br>3' - CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG - 5' |
| <i>IAPP</i> ; miR-5096; 3'UTR; 876; -113; 100<br>5' - GCCUGACCAACAUGGUGAAC - 3'<br>                     <br>3' - CGGACUGGUUGUACCACUUUG - 5'       | <i>ATM</i> ; miR-1273e; 3'UTR; 11119; -108; 93<br>5' - UCUGCCUCCUGGGUUCAGCAA - 3'<br>                     <br>3' - AGGUGAAGGACCCAAGUUCGUU - 5'      |
| <i>ERBB3</i> ; miR-619-5p; 5104; 3'UTR; -121; 100<br>5' - GGCUCAUUGCUGUAUCCCAGC - 3'<br>                     <br>3' - CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG - 5' | <i>IL11</i> ; miR-1273e; 3'UTR; -113; 96<br>5' - UCCACCUCCCUGGUUCAGCAA - 3'<br>                     <br>3' - AGGUGAAGGACCCAAGUUCGUU - 5'            |
| <i>IL11</i> ; miR-1273f; 1466; 3'UTR; -102; 98<br>5' - CACUGCAACCUCACCUC - 3'<br>                     <br>3' - GUGACGUUGGAGGUAGAGG - 5'           | <i>ERBB3</i> ; miR-619-5p; 4950; 3UTR; -117; 96<br>5' - GGCUCAUUGCUGUAUUCAGC - 3'<br>                     <br>3' - CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG - 5'      |
| <i>MAGEA10</i> ; miR-1273e; 2188; 3'UTR; -110; 95<br>5' - UCCGCCUCCUGGGUUCAGCGA - 3'<br>                     <br>3' - AGGUGAAGGACCCAAGUUCGUU - 5' | <i>MAGEA10</i> ;miR-1273f; 2178; 3'UTR; -96; 92<br>5' - GCCUCAUGCUCUGUAUCCUAGC - 3'<br>                       <br>3' - CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG - 5'  |

Note. Here and in Tables 5 and 7, the first line shows: the name of the gene; miRNA; mRNA site; beginning of the miRNA binding site, nt; the value of  $\Delta G$ , kJ / mole; the value of  $\Delta G / \Delta G_m, \%$ .

**Table 4** – Characteristics of the interaction of miRNA with mRNA candidate genes of the subtype her2

| Gene          | miRNA                 | Beginning of sites, nt | $\Delta G, \text{kJ/mole}$ | $\Delta G/\Delta G_m, \%$ | Lenght, nt |
|---------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|------------|
| <i>I</i>      | 2                     | 3                      | 4                          | 5                         | 6          |
| <i>ADAM17</i> | miR-619-5p(SSH1)      | 3466                   | -121                       | 100                       | 22         |
| <i>ADAM17</i> | miR-1285-5p(AC000120) | 3524                   | -104                       | 92                        | 21         |
| <i>AURKA</i>  | miR-5095(SCP2)        | 420**                  | -108                       | 93                        | 21         |
| <i>AURKA</i>  | miR-619-5p(SSH1)      | 426**                  | -119                       | 98                        | 22         |
| <i>BRCA2</i>  | miR-619-5p(SSH1)      | 10746                  | -117                       | 96                        | 22         |
| <i>BRIP1</i>  | miR-1273a(RGS22)      | 4222                   | -113                       | 85                        | 25         |
| <i>BRIP1</i>  | miR-1273g-3p(SCP2)    | 4244                   | -110                       | 95                        | 21         |
| <i>BRIP1</i>  | miR-5095(SCP2)        | 6581                   | -115                       | 98                        | 21         |
| <i>BRIP1</i>  | miR-619-5p(SSH1)      | 6587                   | -119                       | 98                        | 22         |
| <i>BRIP1</i>  | miR-5585-3p(TMEN39B)  | 6728                   | -113                       | 96                        | 22         |

Continuation of table 4

| Gene         | miRNA                 | Beginning of sites, nt | $\Delta G, \text{kJ/mole}$ | $\Delta G/\Delta G_m, \%$ | Lenght, nt |
|--------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|------------|
| <i>I</i>     | 2                     | 3                      | 4                          | 5                         | 6          |
| <i>BRIP1</i> | miR-1285-5p(AC000120) | 6827                   | -104                       | 92                        | 21         |
| <i>BRIP1</i> | miR-1972(PDXDC1)      | 7273                   | -117                       | 95                        | 22         |
| <i>CDK6</i>  | miR-548h-3p(ig)       | 1677                   | -104                       | 91                        | 23         |
| <i>CDK6</i>  | miR-548z(RASSF3)      | 1677                   | -104                       | 91                        | 23         |
| <i>CDK6</i>  | miR-548aq-3p(IGF2BP2) | 1678                   | -102                       | 94                        | 22         |
| <i>CDK6</i>  | miR-548az-3p(ig)      | 1678                   | -98                        | 94                        | 21         |
| <i>CDK6</i>  | miR-466(ig)           | 1892 ÷ 1926            | -100                       | 85                        | 23         |
| <i>CDK6</i>  | miR-466(ig)           | 1908                   | -108                       | 93                        | 23         |
| <i>CDK6</i>  | miR-466(ig)           | 1920                   | -108                       | 93                        | 23         |
| <i>EPOR</i>  | miR-328-5p(0-0)       | 1461*                  | -121                       | 88                        | 23         |
| <i>ERBB3</i> | miR-619-5p(SSH1)      | 4950                   | -117                       | 96                        | 22         |
| <i>ERBB3</i> | miR-619-5p(SSH1)      | 5104                   | -121                       | 100                       | 22         |
| <i>H2AFX</i> | miR-328-5p(0-0)       | 672                    | -119                       | 86                        | 23         |
| <i>MAPK3</i> | miR-1181(CDC37)       | 114*                   | -115                       | 90                        | 21         |
| <i>MAPK3</i> | miR-6884-3p(ig)       | 175*                   | -113                       | 88                        | 23         |
| <i>MAPK3</i> | miR-6805-3p(ig)       | 1145*                  | -117                       | 87                        | 23         |
| <i>MAPK3</i> | miR-6887-5p(ig)       | 1528                   | -113                       | 88                        | 23         |
| <i>MAZ</i>   | miR-1470(AC020911)    | 19**                   | -123                       | 97                        | 21         |
| <i>MAZ</i>   | miR-6850-5p(ig)       | 92**                   | -115                       | 87                        | 22         |
| <i>MAZ</i>   | miR-4466(ARID1B)      | 107**                  | -110                       | 98                        | 18         |
| <i>MAZ</i>   | miR-762(RP11)         | 111**                  | -123                       | 91                        | 22         |
| <i>MAZ</i>   | miR-6729-5p(MIIP)     | 361*                   | -115                       | 87                        | 22         |
| <i>MAZ</i>   | miR-2861(CDK9)        | 376*                   | -110                       | 95                        | 19         |
| <i>MAZ</i>   | miR-762(RP11)         | 499*                   | -117                       | 86                        | 22         |
| <i>MAZ</i>   | miR-3960(0-0)         | 505*                   | -119                       | 95                        | 20         |
| <i>MAZ</i>   | miR-4706(FNTB)        | 605*                   | -123                       | 87                        | 25         |
| <i>MAZ</i>   | miR-3960(0-0)         | 614*                   | -117                       | 93                        | 20         |
| <i>MAZ</i>   | miR-1247-3p(DIO3OS)   | 664*                   | -119                       | 86                        | 24         |
| <i>MAZ</i>   | miR-1343-5p(0-0)      | 1609                   | -115                       | 86                        | 22         |
| <i>MAZ</i>   | miR-6805-3p(ig)       | 2552                   | -115                       | 86                        | 23         |
| <i>NISCH</i> | miR-762(RP11)         | 3282*                  | -117                       | 86                        | 22         |
| <i>NISCH</i> | miR-6756-5p(MCAM)     | 3419*                  | -115                       | 86                        | 23         |
| <i>TIMP3</i> | miR-4449(KIAA0114)    | 1072*                  | -115                       | 87                        | 22         |
| <i>TIMP3</i> | miR-197-5p(MIR197)    | 1838                   | -115                       | 87                        | 23         |
| <i>TIMP3</i> | miR-1224-5p(VWA5B2)   | 3268                   | -104                       | 96                        | 19         |

Note. Without an asterisk – 3'UTR, \* – CDS, \*\* – 5'UTR. The host gene or the intergenic origin of ig miRNA is in parentheses.

Considering the free binding energy of -121 kJ/mole, the association of miR-619-5p with mRNA of *ADAM17* is a good marker of the disease. miR-619-5p, in combination with the genes *AURKA* (Golmohammadi, 2017: e7933) and *BRCA2* (Couch, 2007:

1416-21; Pan, 2014: 1-8), on the same bases can serve as markers of the subtype her2. The mRNA of *BRIP1* gene can bind to unique miRNAs of group miR-1285-5p, miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p and family miR-1273a, miR-1273g-3p. These

miRNAs, with a high level of complementarity, bind to mRNA of *BRIPI* gene ( $\Delta G/\Delta G_m$  reached 98%) and with a high free interaction energy, so they can be used as markers for the subtype her2.

The mRNA of *CDK6* gene (Johnson, 2016: 4829-35) had binding sites for miR-548 family and multiple binding sites for miR-466. The presence in mRNA of *CDK6* gene of multiple binding sites several times increases the probability of its interaction with these miRNAs.

The key member of candidate genes of the subtype her2 is the *ERBB3* gene (Grabinski, 2014: 1021-9; Koutras, 2010: 73-8; Wu, 2013: 427-37). Two binding sites in mRNA of *ERBB3* gene for the unique miR-619-5p are characterized by high complementarity and high free energy, which is the basis for suggesting this association as a marker for identifying the development of the subtype her2 (Table 4).

Four miRNAs that bind to mRNA of *MAPK3* gene can strongly affect on its expression. Binding sites of three miRNAs are located in the CDS, which indicates their early occurrence. 12 miRNAs can bind to mRNA of *MAZ* gene, binding sites are located in 5'UTR and CDS, with the  $\Delta G$  value of

-110 kJ/mole to -123 kJ/mole, and  $\Delta G/\Delta G_m$  value of 86% to 97%. Since miR-1470, miR-762, and miR-4706 bind with mRNA of *MAZ* gene with  $\Delta G$  value of -123 kJ/mole, first of all it is necessary to use these miRNAs as markers for subtype her2 subtype diagnostics. Several arranged located miR-3960 binding sites encode the polyAla oligopeptide. This number of miR-3960 binding sites significantly increases the efficiency of controlling the expression of *MAZ* gene by this miRNA. *MAZ* is a Myc associated transcription factor and therefore it can influence on the transcription of several genes involved in oncogenesis. The mRNA of *NISCH* gene can bind two miRNA with a  $\Delta G$  value varying from -115 kJ/mole to -117 kJ/mol, what is the basis for characterising the *NISCH* gene with miR-762 and miR-6756-5p as markers for the subtype her2. The mRNA of *TIMP3* gene had three binding sites for three miRNAs, which gives reason to control the level of these miRNAs during the development of the subtype her2. Table 5 shows examples of the interaction of some miRNA with mRNA of their target genes, offered as associations for use as markers of the subtype her2 of breast cancer.

**Table 5** – Schemes and characteristics of the interaction of miRNA with mRNA of candidate genes subtype her2 BC

|  |   |
|--|---|
| <i>ERBB3</i> ; miR-619-5p; 3'UTR; 4950; -117; 96<br>5' - GGCUCAU GCCUGUAUACUCAGC - 3'<br>                   <br>3' - CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG - 5' | <i>MAZ</i> ; miR-3960; CDS; 614; -117; 93<br>5' - CCCCCGCCUCCGCCACU - 3'<br>                   <br>3' - GGGGGCGGAGGC GGCGCGG - 5'                 |
| <i>ADAM17</i> ; miR-619-5p; 3'UTR; 3466; -121; 100<br>5' - CCCAGGCUGGAGUGCAGUGGU - 3'<br>                   <br>3' - GAGUCCGACCUCACGUCACCA - 5'  | <i>AURKA</i> ; miR-619-5p; 5UTR; 426; -119; 98<br>5' - GGCUCAU GCCGUAAUCCAGC - 3'<br>                   <br>3' - CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG - 5'      |
| <i>BRIPI</i> ; miR-5095; 3'UTR; 6851; -115; 98<br>5' - CGCGGUGGCUCACGCCUGUAA - 3'<br>                   <br>3' - GCGCCACCAAGUGCGGACAUU - 5'      | <i>BRIPI</i> ; miR-1273g-3p; 3'UTR; 4244; -110; 95<br>5' - CCCAGGCUGGAAUGCAGUGGU - 3'<br>                   <br>3' - GAGUCCGACCUCACGUCACCA - 5'   |
| <i>ERBB3</i> ; miR-619-5p; 3'UTR; 5104; -121; 100<br>5' - GGCUCAU GCCUGUAUCCCAGC - 3'<br>                   <br>3' - CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG - 5' | <i>AURKA</i> ; miR-5095; 5UTR; 420; -108; 93<br>5' - CGCGGUGGCUCAU GCCGUAA - 3'<br>                   <br>3' - GCGCCACCAAGUGCGGACAUU - 5'         |
| <i>BRCA2</i> ; miR-619-5p; 3'UTR; 10746; -117; 96<br>5' - GGCUCAU GCCUGUAUCCCAAC - 3'<br>                   <br>3' - CCGAGUACGGACAUUAGGGUCG - 5' | <i>BRIPI</i> ; miR-5585-3p; 3'UTR; 6728; -113; 96<br>5' - GCCUGUAGUCCCAGCUACUCAG - 3'<br>                   <br>3' - UGGACAUCAAGGGUCGAUAAGUC - 5' |
| <i>CDK6</i> ; miR-548av; 3'UTR; 1677; -98; 85<br>5' - UGCAAGAGUGAUUGCAGCUUUA - 3'<br>                   <br>3' - ACGUUCUCAAUAGCGCCAAAAC - 5'     | <i>MAZ</i> ; miR-877-3p; 3'UTR; 2273; -106; 91<br>5' - CCAGGGGGAGGGAGGAGAGGA - 3'<br>                   <br>3' - GACCCUCCUCCUCUUCUCCU - 5'        |

The given data demonstrate the important role of non-canonical pairs of nucleotides in the interaction of miRNA with mRNA of candidate genes involved in the development of the subtype her2 BC. For example, in the interaction of miR-548av with mRNA of *CDK6* gene, three pairs of A-C and two pairs of G-U are formed. miR-877-3p binding to mRNA of *MAZ* gene forms two pairs of A-C and two pairs of G-U.

Characteristics of the interaction of miRNA with mRNA of candidate genes of subtype luminal A, B

Ten candidate genes of the subtype luminal A, B were determined as targets for miRNAs. Five miRNAs were associated with mRNA of *HMG42* gene, six mRNAs with mRNA of *MAPT* gene, four miRNAs with mRNA of *SMAD3* gene, six miRNAs with mRNA of *TGFB1* gene (Table 6).

Consequently, these genes strongly depend on miRNAs. The mRNA of *TGFB1* gene had four binding sites of miR-6089 and mRNA of *SMAD3* gene three miR-6089 binding sites with a  $\Delta G$  value

varying from -127 kJ/mole to -136 kJ/mole. Such large free energy of miRNA interaction with mRNA is very rare characteristic for binding sites located in the 3'UTR, which determines their high functional significance.

The feature of candidate genes of the subtype luminal A, B is the absence in their mRNA binding sites of unique miRNA of family miR-1273 and group of miR-5095, miR-619-5p, miR-5585-3p, miR-5096, miR-1285-5p. This feature will be taken into account in the analysis of miRNA expression in the subtype luminal A, B.

The results of the interaction of some miRNAs with mRNA of candidate genes are shown in Table 7. Note that even with a  $\Delta G/\Delta G_m$  of 86%, the structure of the double-stranded RNA is preserved, despite the presence of one pair of A-C and three G-U pairs in the interaction of miR-670-3p with mRNA of *MCM7* gene. When miR-4433b-5p binds to mRNA of *MCM7* gene, two pairs of A-C and three pairs of G-U are formed.

**Table 6** – Characteristics of the interaction of miRNA with mRNA candidate genes of the subtype luminal

| Gene            | miRNA                | Beginning of sites, nt | $\Delta G, \text{kJ/mole}$ | $\Delta G/\Delta G_m, \%$ | Lenght, nt |
|-----------------|----------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|------------|
| <i>I</i>        | 2                    | 3                      | 4                          | 5                         | 6          |
| <i>EZH1</i>     | miR-6127(ig)         | 2497                   | -102                       | 94                        | 19         |
| <i>FOXA1</i>    | miR-3960(0-0)        | 120**                  | -115                       | 92                        | 20         |
| <i>FOXA1</i>    | miR-6848-5p(ig)      | 1287*                  | -115                       | 87                        | 23         |
| <i>GTF2IRD1</i> | miR-4734(ig)         | 138**                  | -115                       | 87                        | 22         |
| <i>GTF2IRD1</i> | miR-6729-5p(MIIP)    | 245**                  | -115                       | 87                        | 22         |
| <i>HMG42</i>    | miR-6894-5p(ig)      | 189**                  | -115                       | 86                        | 24         |
| <i>HMG42</i>    | miR-3960(0-0)        | 512**                  | -108                       | 86                        | 20         |
| <i>HMG42</i>    | miR-6756-5p(MCAM)    | 529**                  | -117                       | 87                        | 23         |
| <i>HMG42</i>    | miR-3960(0-0)        | 549**                  | -117                       | 93                        | 20         |
| <i>HMG42</i>    | miR-4739(ig)         | 573**                  | -123                       | 85                        | 25         |
| <i>ITGB1</i>    | miR-4787-5p(ig)      | 92*                    | -123                       | 92                        | 22         |
| <i>MAPT</i>     | miR-4665-5p(RP11)    | 112**                  | -117                       | 86                        | 23         |
| <i>MAPT</i>     | miR-7106-5p(ig)      | 1008*                  | -106                       | 94                        | 20         |
| <i>MAPT</i>     | miR-5088-5p(0-0)     | 1586*                  | -115                       | 86                        | 24         |
| <i>MAPT</i>     | miR-762(RP11)        | 2725                   | -119                       | 87                        | 22         |
| <i>MAPT</i>     | miR-6756-3p(MCAM)    | 3207                   | -98                        | 85                        | 20         |
| <i>MAPT</i>     | miR-650(IGLV2)       | 3495                   | -110                       | 93                        | 21         |
| <i>MCM7</i>     | miR-4433b-5p(0-0)    | 248**                  | -100                       | 85                        | 21         |
| <i>MCM7</i>     | miR-670-3p(AC023085) | 2679                   | -89                        | 86                        | 21         |
| <i>SMAD3</i>    | miR-6848-5p(ig)      | 138                    | -115                       | 87                        | 23         |
| <i>SMAD3</i>    | miR-4690-5p(PCNXL3)  | 2066                   | -115                       | 92                        | 22         |
| <i>SMAD3</i>    | miR-3620-5p(ARF10)   | 2069                   | -117                       | 89                        | 22         |

Continuation of table 6

| Gene         | miRNA                 | Beginning of sites, nt | $\Delta G, \text{kJ/mole}$ | $\Delta G/\Delta G_m, \%$ | Lenght, nt |
|--------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|------------|
| <i>I</i>     | 2                     | 3                      | 4                          | 5                         | 6          |
| <i>SMAD3</i> | miR-6089(ig)          | 2072                   | -127                       | 86                        | 24         |
| <i>SMAD3</i> | miR-6089(ig)          | 2073                   | -132                       | 89                        | 24         |
| <i>SMAD3</i> | miR-3620-5p(ARF1)     | 2074                   | -115                       | 87                        | 22         |
| <i>SMAD3</i> | miR-6089(ig)          | 2078                   | -136                       | 91                        | 24         |
| <i>SOX4</i>  | miR-935(CACNG8)       | 1303*                  | -115                       | 89                        | 23         |
| <i>SOX4</i>  | miR-6765-5p(JAG2)     | 1924*                  | -125                       | 87                        | 25         |
| <i>TGFB1</i> | miR-4787-5p(ig)       | 205**                  | -117                       | 87                        | 22         |
| <i>TGFB1</i> | miR-877-3p(ABCF1)     | 233**                  | -108                       | 93                        | 21         |
| <i>TGFB1</i> | miR-4632-5p(TNFRSF1B) | 871**                  | -115                       | 86                        | 23         |
| <i>TGFB1</i> | miR-6089(ig)          | 2060                   | -132                       | 89                        | 24         |
| <i>TGFB1</i> | miR-6089(ig)          | 2065                   | -136                       | 91                        | 24         |
| <i>TGFB1</i> | miR-3620-5p(ARF10)    | 2086                   | -115                       | 87                        | 22         |
| <i>TGFB1</i> | miR-6089(ig)          | 2089                   | -127                       | 86                        | 24         |
| <i>TGFB1</i> | miR-6089(ig)          | 2095                   | -127                       | 86                        | 24         |

Note. Without an asterisk – 3'UTR, \* – CDS, \*\* – 5'UTR. The host gene or the intergenic origin of ig miRNA is in parentheses.

**Table 7** – Schemes and characteristics of the interaction of miRNA with mRNA of candidate genes of the subtype luminal A, B of BC

|   |   |
|---|---|
| <i>HMGA2</i> ; miR-3960; 5'UTR; 512; -108; 86<br>5' – CCUCCACCUCCACCAGGCCACC – 3'<br>                   <br>3' – GGGGGCGGAGGCAGGCGGGCGG – 5'  | <i>MAPT</i> ; miR-6756-3p; 3'UTR; 3207; -98; 85<br>5' – CUGGGCAGAGGGAGAGGAA – 3'<br>                   <br>3' – GACCCGUCCCCUUCUCCCCU – 5' |
| <i>MCM7</i> ; miR-4433b-5p; 5'UTR; 248; -100; 85<br>5' – GCGGGAGCGGGGGUGGGUGC – 3'<br>                   <br>3' – UGUCCUCACCCCCACCCUGUA – 5'  | <i>MCM7</i> ; miR-670-3p; CDS; 2769;-89; 86<br>5' – CUCUGGAUGAAUAUGAGGAGC – 3'<br>                   <br>3' – AGGACUUACUUUAACUCCUUU – 5'  |
| <i>EZNH</i> ; miR-4290; 3'UTR; 3705; -89; 86<br>5' – GGGGAAGAAGAGAGGGUG – 3'<br>                   <br>3' – CUCCCCUUCUUUCCUCCGU – 5'          | <i>GTF21RD1</i> ; miR-4271; 5'UTR; 268; -91; 86<br>5' – CUCUGCCUCUCCUCCCCC – 3'<br>                   <br>3' – GGGGUGGAAAAGAAGGGGG – 5'   |
| <i>HMGA2</i> ; miR-329-5p; 5'UTR; 11; -102; 86<br>5' – GGGGCAGGAACUCAGAAAACUUC- 3'<br>                   <br>3' – CUUUGUCUUUGGGUCUUUUGGAG- 5' | <i>SMAD3</i> ; miR-7977; 3'UTR; 2601; -85; 85<br>5' – UGGCACAUUGACUGGGAA – 3'<br>                   <br>3' – ACCACGCAACCGACCCUU – 5'      |

## Conclusion

Establishing associations of miRNAs with mRNAs suggests using them to develop methods for early detection of subtypes of breast cancer. The material for analysis can be the blood of patients in which miRNA circulates in the free state and in the composition of exosomes. Using all associations of miRNAs with mRNAs of candidate genes requires

relatively large material costs, therefore in the Tables 2, 4 and 6 are shown those associations which include the most probable candidate genes and miRNAs that interact strongly with their mRNAs. We note that the associations we have identified can be used to establish subtypes on the biopsy material and in postoperative tumor samples. Such analysis is necessary for the application of specific therapy of the disease, which should be targeted to genes that

are the main cause of the development of subtypes of the disease.

The work was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science

of the Republic of Kazakhstan within the framework of the grant. We are grateful to Pyrkova A.Yu. for performing calculations on the program MirTarget.

### References

- 1 Atambayeva S., Niyazova R., Ivashchenko A., Pyrkova A., Pinsky I., Akimniyazova A., Labeit S. (2017) The Binding Sites of miR-619-5p in the mRNAs of Human and Orthologous Genes, *BMC Genomics*, vol. 18, no. 1, p. 428. doi: 10.1186/s12864-017-3811-6.
- 2 Balz L.M., Bartkowiak K., Andreas A., Pantel K., Niggemann B., et al. (2012) The interplay of HER2/HER3/PI3K and EGFR/HER2/PLC-γ1 signalling in breast cancer cell migration and dissemination, *J Pathol*, vol. 227, no. 2, pp. 234-44. doi: 10.1002/path.3991.
- 3 Blakeman V., Williams J.L., Meng Q.J., Streuli C.H. (2016) Circadian clocks and breast cancer, *Breast Cancer Research*, vol. 18, p. 89. doi: 10.1186/s13058-016-0743-
- 4 Bonora M., Wieckowsk M.R., Chinopoulos C., Kepp O., Kroemer G., et al. (2015) Molecular mechanisms of cell death: central implication of ATP synthase in mitochondrial permeability transition, *Oncogene*, vol. 34, no. 12, p. 1608. doi: 10.1038/onc.2014.462.
- 5 Boudreau A., Tanner K., Wang D., Geyer F.C., Reis-Filho J.S., et al. (2013) 14-3-3σ stabilizes a complex of soluble actin and intermediate filament to enable breast tumor invasion, *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 110, no. 41, pp. e3937-44. doi: 10.1073/pnas.1315022110.
- 6 Chistiakov D.A., Orekhov A.N., Bobryshev Y.V. (2016) MicroRNA regulation of macrophages in human pathologies, *J Mol Cell Cardiol*, vol. 94, pp. 107-121. doi: 10.1016/j.yjmcc.2016.03.015
- 7 Couch F.J., Sinilnikova O., Vierkant R.A. (2007) AURKA F31I polymorphism and breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a consortium of investigators of modifiers of BRCA1/2 study, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, vol. 16, no. 7, pp. 1416-21.
- 8 Ergün S., Ulasli M., Igci Y.Z., Igci M., Kirkbes S., et al. (2015) The association of the expression of miR-122-5p and its target ADAM10 with human breast cancer, *Mol Biol Rep*, vol. 42, no. 2, pp. 497-505. doi: 10.1007/s11033-014-3793-2.
- 9 Golmohammadi R., Namazi M.J., Going J.J., Derakhshan M.H. (2017) A single nucleotide polymorphism in codon F31I and V57I of the AURKA gene in invasive ductal breast carcinoma in Middle East, *Medicine (Baltimore)*, vol. 96, no. 37. p:e7933. doi: 10.1097/MD.0000000000007933.
- 10 Grabinski N., Möllmann K., Milde-Langosch K., Müller V., Schumacher U., et al. (2014) AKT3 regulates ErbB2, ErbB3 and estrogen receptor α expression and contributes to endocrine therapy resistance of ErbB2(+) breast tumor cells from Balb-neuT mice, *Cell Signal*, vol. 26, no. 5, pp. 1021-9. doi: 10.1016/j.cellsig.2014.01.018.
- 11 Hannafon B.N., Trigoso Y.D., Calloway C.L., Zhao Y.D., Lum D.H., et al. (2016) Plasma exosome microRNAs are indicative of breast cancer, *Breast Cancer Research*, vol. 18, p. 90. doi: 10.1186/s13058-016-0753-x.
- 12 Hayes D.A., Kunde D.A., Taylor R.L., Pyecroft S.B., Sohal S.S., Snow E.T. (2017) ERBB3: A potential serum biomarker for early detection and therapeutic target for devil facial tumour 1 (DFT1), *PLoS One*, vol. 12, no. 6, p. e0177919. doi: 10.1371/journal.pone.0177919.
- 13 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva S. (2014a) MiR-3960 binding sites with mRNA of human genes, *Bioinformation*, vol. 10, no. 7, pp. 423-427. doi: 10.6026/97320630010423.
- 14 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva Sh. (2014) The properties of binding sites of miR-619-5p, miR-5095, miR-5096 and miR-5585-3p in the mRNAs of human genes, *Biomed Research International*, vol. 2014, pp. e8.
- 15 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R. (2014) Binding Sites of miR-1273 Family on the mRNA of Target Genes , *Biomed Research International*, vol. 2014, pp. e11.
- 16 Jo S.J., Park P.G., Cha H.R., Ahn S.G., Kim M.J., et al. (2017) Cellular inhibitor of apoptosis protein 2 promotes the epithelial-mesenchymal transition in triple-negative breast cancer cells through activation of the AKT signaling pathway, *Oncotarget*, vol. 8, no. 45, pp. 78781-78795. doi: 10.18632/oncotarget.20227.
- 17 Johnson J., Thijssen B., McDermott U., Garnett M., Wessels L.F., Bernards R. (2016) Targeting the RB-E2F pathway in breast cancer, *Oncogene*, vol. 35, no. 37, pp. 4829-35. doi: 10.1038/onc.2016.32.
- 18 Koutras A.K., Fountzilas G., Kalogerias K.T., Starakis I., Iconomou G., Kalofonos H.P. (2010) The upgraded role of HER3 and HER4 receptors in breast cancer, *Crit Rev Oncol Hematol.*, vol. 74, no. 2, pp. 73-8. doi: 10.1016/j.critrevonc.2009.04.011.
- 19 Krishnan P., Ghosh S., Wang B., Li D., Narasimhan A., et al. (2015) Next generation sequencing profiling identifies miR-574-3p and miR-660-5p as potential novel prognostic markers for breast cancer, *BMC Genomics*, vol. 16, p. 735. doi: 10.1186/s12864-015-1899-0.
- 20 Lee S.T., Feng M., Wei Y., Li Z., Qiao Y., et al. (2013) Protein tyrosine phosphatase UBASH3B is overexpressed in triple-negative breast cancer and promotes invasion and metastasis, *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 110, no. 27, pp. 11121-6.
- 21 Li H.Y., Liang J.L., Kuo Y.L., Lee H.H., Calkins M.J., et al. (2017) miR-105/93-3p promotes chemoresistance and circulating miR-105/93-3p acts as a diagnostic biomarker for triple negative breast cancer, *Breast Cancer Research*, vol. 19, p. 133. doi: 10.1186/s13058-017-0918-2

- 22 MacFarlane L.A., Murphy P.R. (2010) MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer, *Curr Genomics*, vol. 11, no. 7, pp. 537-561. doi: 10.2174/138920210793175895
- 23 Mota J.M., Collier K.A., Barros Costa R.L., Taxter T., Kalyan A., et al. (2017) A comprehensive review of heregulins, HER3, and HER4 as potential therapeutic targets in cancer, *Oncotarget*, vol. 8, no. 51, pp. 89284-89306. doi: 10.18632/oncotarget.18467.
- 24 Pan H., He Z., Ling L., Ding Q., Chen L., Zha X., et al. (2014) Reproductive factors and breast cancer risk among BRCA1 or BRCA2 mutation carriers: results from ten studies, *Cancer Epidemiol*, vol. 38, no. 1, pp. 1-8. doi: 10.1016/j.canep.2013.11.004.
- 25 Pham D.H., Kim J.S., Kim S.K., Shin D.J., Uong N.T., et al. (2017) Effects of ADAM10 and ADAM17 Inhibitors on Natural Killer Cell Expansion and Antibody-dependent Cellular Cytotoxicity Against Breast Cancer Cells In Vitro, *Anticancer Res*, vol. 37, no. 10, pp. 5507-5513.
- 26 Yu Z.H., Lun S.M., He R., Tian H.P., Huang H.J., et al. (2017) Dual function of MAZ mediated by FOXF2 in basal-like breast cancer: Promotion of proliferation and suppression of progression, *Cancer Lett*, vol. 402, pp. 142-152. doi: 10.1016/j.canlet.2017.05.020.
- 27 Wang J., Song C., Tang H., Zhang C., Tang J., et al. (2017) miR-629-3p may serve as a novel biomarker and potential therapeutic target for lung metastases of triple-negative breast cancer, *Breast Cancer Research*, vol. 19, p. 72. doi: 10.1186/s13058-017-0865-y
- 28 Wang W., Xu X., Tian B., Wang Y., Du L., et al. (2017) The diagnostic value of serum tumor markers CEA, CA19-9, CA125, CA15-3, and TPS in metastatic breast cancer, *Clin Chim Acta*, vol. 470, pp. 51-55. doi: 10.1016/j.cca.2017.04.023.
- 29 Wu Y., Zhang Y., Wang M., Li Q., Qu Z., et al. (2013) Downregulation of HER3 by a novel antisense oligonucleotide, EZN-3920, improves the antitumor activity of EGFR and HER2 tyrosine kinase inhibitors in animal models, *Mol Cancer Ther.*, vol. 12, no. 4, pp. 427-37. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0838.
- 30 Zhang X., Li Q., Zhao H., Ma L., Meng T., et al. (2017) Pathological expression of tissue factor confers promising antitumor response to a novel therapeutic antibody SC1 in triple negative breast cancer and pancreatic adenocarcinoma, *Oncotarget*, vol. 8, no. 35, pp. 59086-59102. doi: 10.18632/oncotarget.19175

## References

- 1 Chistiakov D.A., Orekhov A.N., Bobryshev Y.V. MicroRNA regulation of macrophages in human pathologies // *J Mol Cell Cardiol.* - 2016. - Vol. 94. - P. 107-121. doi: 10.1016/j.yjmcc.2016.03.015
- 2 Yu Z.H., Lun S.M., He R., Tian H.P., Huang H.J., et al. Dual function of MAZ mediated by FOXF2 in basal-like breast cancer: Promotion of proliferation and suppression of progression // *Cancer Lett.* - 2017. - Vol. 402. - P. 142-152. doi: 10.1016/j.canlet.2017.05.020.
- 3 Ergün S., Ulasli M., Igeci Y.Z., Igeci M., Kirkbes S., et al. The association of the expression of miR-122-5p and its target ADAM10 with human breast cancer // *Mol Biol Rep.* - 2015 - Vol. 42, No 2. - P. 497-505. doi: 10.1007/s11033-014-3793-2.
- 4 Hannafon B.N., Trigoso Y.D., Calloway C.L., Zhao Y.D., Lum D.H., et al. Plasma exosome microRNAs are indicative of breast cancer // *Breast Cancer Research.* - 2016. - Vol. 18. - P. 90. doi: 10.1186/s13058-016-0753-x.
- 5 Krishnan P., Ghosh S., Wang B., Li D., Narasimhan A., et al. Next generation sequencing profiling identifies miR-574-3p and miR-660-5p as potential novel prognostic markers for breast cancer // *BMC Genomics.* - 2015. - Vol. 16. - P. 735. doi: 10.1186/s12864-015-1899-0.
- 6 MacFarlane L.A., Murphy P.R. MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer // *Curr Genomics.* 2010. - Vol. 11, No 7. - P. 537-561. doi: 10.2174/138920210793175895
- 7 Wang J., Song C., Tang H., Zhang C., Tang J., et al. miR-629-3p may serve as a novel biomarker and potential therapeutic target for lung metastases of triple-negative breast cancer // *Breast Cancer Research.* - 2017. - Vol. 19. - P. 72. doi: 10.1186/s13058-017-0865-y
- 8 Atambayeva S., Niyazova R., Ivashchenko A., Pyrkova A., Pinsky I., Akimniyazova A., Labeit S. The Binding Sites of miR-619-5p in the mRNAs of Human and Orthologous Genes // *BMC Genomics.* - 2017. - Vol. 18, No 1. - P. 428. doi: 10.1186/s12864-017-3811-6.
- 9 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva Sh. The properties of binding sites of miR-619-5p, miR-5095, miR-5096 and miR-5585-3p in the mRNAs of human genes // *Biomed Research International.* - 2014. - Vol. 2014. - P. e8.
- 10 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R. Binding Sites of miR-1273 Family on the mRNA of Target Genes // *Biomed Research International.* - 2014. - Vol. 2014, P. e11.
- 11 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva S. MiR-3960 binding sites with mRNA of human genes // *Bioinformation.* - 2014. - Vol. 10, No 7. - P. 423-427. doi: 10.6026/97320630010423
- 12 Bonora M., Wieckowsk M.R., Chinopoulos C., Kepp O., Kroemer G., et al. Molecular mechanisms of cell death: central implication of ATP synthase in mitochondrial permeability transition // *Oncogene.* - 2015. - Vol. 34, No 12. - P. 1608. doi: 10.1038/onc.2014.462.
- 13 Lee S.T., Feng M., Wei Y., Li Z., Qiao Y., et al. Protein tyrosine phosphatase UBASH3B is overexpressed in triple-negative breast cancer and promotes invasion and metastasis // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 2013. - Vol. 110, No 27. - P. 11121-6.
- 14 Wang W., Xu X., Tian B., Wang Y., Du L., et al. The diagnostic value of serum tumor markers CEA, CA19-9, CA125, CA15-3, and TPS in metastatic breast cancer // *Clin Chim Acta.* - 2017. - Vol. 470. - P. 51-55. doi: 10.1016/j.cca.2017.04.023.

- 15 Zhang X., Li Q., Zhao H., Ma L., Meng T., et al. Pathological expression of tissue factor confers promising antitumor response to a novel therapeutic antibody SC1 in triple negative breast cancer and pancreatic adenocarcinoma // Oncotarget. - 2017. - Vol. 8, No 35. - P. 59086-59102. doi: 10.18632/oncotarget.19175.
- 16 Jo S.J., Park P.G., Cha H.R., Ahn S.G., Kim M.J., et al. Cellular inhibitor of apoptosis protein 2 promotes the epithelial-mesenchymal transition in triple-negative breast cancer cells through activation of the AKT signaling pathway // Oncotarget. - 2017. - Vol. 8, No 45. - P. 78781-78795. doi: 10.18632/oncotarget.20227.
- 17 Boudreau A., Tanner K., Wang D., Geyer F.C., Reis-Filho J.S., et al. 14-3-3 $\sigma$  stabilizes a complex of soluble actin and intermediate filament to enable breast tumor invasion // Proc Natl Acad Sci U S A. - 2013. - Vol. 110, No 41. - P. e3937-44. doi: 10.1073/pnas.1315022110.
- 18 Hayes D.A., Kunde D.A., Taylor R.L., Pyecroft S.B., Sohal S.S., Snow E.T. ERBB3: A potential serum biomarker for early detection and therapeutic target for devil facial tumour 1 (DFT1) // PLoS One. - 2017 - Vol. 12, No 6. - P. e0177919. doi: 10.1371/journal.pone.0177919.
- 19 Mota J.M., Collier K.A., Barros Costa R.L., Taxter T., Kalyan A., et al. A comprehensive review of heregulins, HER3, and HER4 as potential therapeutic targets in cancer // Oncotarget. - 2017. - Vol. 8, No 51. - P. 89284-89306. doi: 10.18632/oncotarget.18467.
- 20 Pham D.H., Kim J.S., Kim S.K., Shin D.J., Uong N.T., et al. Effects of ADAM10 and ADAM17 Inhibitors on Natural Killer Cell Expansion and Antibody-dependent Cellular Cytotoxicity Against Breast Cancer Cells In Vitro // Anticancer Res. - 2017. - Vol. 37, No 10. - P. 5507-5513.
- 21 Golmohammadi R., Namazi M.J., Going J.J., Derakhshan M.H. A single nucleotide polymorphism in codon F31I and V57I of the AURKA gene in invasive ductal breast carcinoma in Middle East // Medicine (Baltimore). - 2017. - Vol. 96, No 37. - P. e7933. doi: 10.1097/MD.00000000000007933.
- 22 Couch F.J., Sinilnikova O., Vierkant R.A. AURKA F31I polymorphism and breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a consortium of investigators of modifiers of BRCA1/2 study // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. - 2007. - Vol. 16, No 7. - P. 1416-21.
- 23 Pan H., He Z., Ling L., Ding Q., Chen L., Zha X., et al. Reproductive factors and breast cancer risk among BRCA1 or BRCA2 mutation carriers: results from ten studies // Cancer Epidemiol. - 2014. - Vol. 38, No 1. - P. 1-8. doi: 10.1016/j.canep.2013.11.004.
- 24 Johnson J., Thijssen B., McDermott U., Garnett M., Wessels L.F., Bernards R. Targeting the RB-E2F pathway in breast cancer // Oncogene. - 2016. - Vol. 35, No 37. - P. 4829-35. doi: 10.1038/onc.2016.32.
- 25 Grabinski N., Möllmann K., Milde-Langosch K., Müller V., Schumacher U., et al. AKT3 regulates ErbB2, ErbB3 and estrogen receptor  $\alpha$  expression and contributes to endocrine therapy resistance of ErbB2(+) breast tumor cells from Balb-neuT mice // Cell Signal. - 2014. - Vol. 26, No 5. - P. 1021-9. doi: 10.1016/j.cellsig.2014.01.018.
- 26 Koutras A.K., Fountzilas G., Kalogerias K.T., Starakis I., Iconomou G., Kalofonos H.P. The upgraded role of HER3 and HER4 receptors in breast cancer // Crit Rev Oncol Hematol. - 2010. - Vol. 74, No 2. - P. 73-8. doi: 10.1016/j.critrevonc.2009.04.011.
- 27 Wu Y., Zhang Y., Wang M., Li Q., Qu Z., et al. Downregulation of HER3 by a novel antisense oligonucleotide, EZN-3920, improves the antitumor activity of EGFR and HER2 tyrosine kinase inhibitors in animal models // Mol Cancer Ther. - 2013. - Vol. 12, No 4. - P. 427-37. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0838.
- 28 Balz L.M., Bartkowiak K., Andreas A., Pantel K., Niggemann B., et al. The interplay of HER2/HER3/PI3K and EGFR/HER2/PLC- $\gamma$ 1 signalling in breast cancer cell migration and dissemination // J Pathol. - 2012. - Vol. 227, No 2. - P. 234-44. doi: 10.1002/path.3991.
- 29 Blakeman V., Williams J.L., Meng Q.J., Streuli C.H. Circadian clocks and breast cancer // Breast Cancer Research. - 2016. - Vol. 18. - P. 89. doi: 10.1186/s13058-016-0743-
- 30 Li H.Y., Liang J.L., Kuo Y.L., Lee H.H., Calkins M.J., et al. miR-105/93-3p promotes chemoresistance and circulating miR-105/93-3p acts as a diagnostic biomarker for triple negative breast cancer // Breast Cancer Research. - 2017. - Vol. 19. - P. 133. doi: 10.1186/s13058-017-0918-2

IRSTI 34.15.25; 34.03.23

**Yurikova O.<sup>1</sup>, Atambaeva Sh.<sup>2</sup>, Bolshoy A.<sup>3</sup>, Ivashchenko A.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>PhD-student, research assistant, e-mail: oksanayurikova@mail.ru

<sup>2</sup>candidate of biological sciences, associate professor, lead researcher, e-mail: atambayevashara@gmail.com

<sup>3</sup>doctor of biological sciences, professor, chief researcher, e-mail: a\_ivashchenko@mail.ru

Scientific Research Institute of Biology and Biotechnology Problems,  
al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>PhD, associate professor, Department of Evolutionary and Environmental Biology,  
University of Haifa, Israel, Haifa, e-mail: bolshoy@research.haifa.ac.il

## **MIR-1322 BINDING SITES IN MRNAS OF GENES INVOLVED IN THE DEVELOPMENT OF NEURODEGENERATIVE AND ONCOLOGICAL DISEASES**

Existence of miRNA binding sites in 3'-UTR, 5'-UTR and CDS regions of the mRNA of animal genes is confirmed. The efficiency of miRNA-induced repression increases with the number of sites. The binding of miRNA can be significant if the gene contains repeats of the site sequences in the coding region. It is shown that miR-1322 has polysites in CDS region of mRNAs of dozens of human genes. Experimental verification of functionality of the large number of sites is time-consuming and labor intensive. One of the ways to predict miRNA binding sites is to check the existence of these sites in mRNA of orthologous genes and to analyze their divergence during evolution. The analysis of conservation of miR-1322 poly-sites in CDS of mRNAs of ATN1, BCL6B, HTT, MAGI1, MLLT3, MN1, THAP11, TBP human genes and their orthologues was carried out. The studied genes are involved in development of neurodegenerative and oncological diseases. The obtained results show that polysites for binding miR-1322 are found in mRNAs of orthologous genes of many animal species. In the process of evolution, the number of binding sites changes, that indicates species dependence of efficiency of regulation of these genes expression by miR-1322. In addition to general contribution to the study of pathogenesis mechanisms caused by participation of ATN1, BCL6B, HTT, MAGI1, MLLT3, MN1, THAP11 and TBP genes our analysis allows to propose an adequate experimental animal model for further study of regulation of described genes expression by miR-1322.

**Key words:** miR-1322, mRNA, orthologous genes, socially significant diseases.

**Юрикова О.<sup>1</sup>, Атамбаева Ш.<sup>2</sup>, Большой А.<sup>3</sup>, Иващенко А.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>PhD-докторантураның студенті, тәжірибе-жинақтаушы, e-mail: oksanayurikova@mail.ru

<sup>2</sup>биология ғылымдарының кандидаты, доцент, жетекші ғылыми қызметкер, e-mail: atambayevashara@gmail.com

<sup>4</sup>биология ғылымдарының докторы, профессор, бас ғылыми қызметкер, e-mail: a\_ivashchenko@mail.ru

Биология және биотехнология мәселелерін ғылыми-зерттеу институты,  
әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>PhD, қауымдастырылған профессор, эволюциялық, және экологиялық кафедрасы,  
Хайфа университеті, Израиль, Хайфа қ., e-mail: bolshoy@research.haifa.ac.il

### **Нейродегенеративті және онкологиялық аурулардың дамуына қатысатын гендерінің mRNA-мен miR-1322 байланысу сайттары**

Жаңуарлар гендерінің mRNA-ғы 3'-UTR-де ғана емес, сонымен қатар 5'-UTR және CDS аймақтарында miRNA байланысу сайттары болуы анықталды. miRNA-ның әсерінен болған репрессиясының тиімділігі байланысу сайттардың санымен көбөюде. Геннің кодтау аймағындағы қайталайтын тізбектері бар болса, miRNA-ның байланысы жоғары болу мүмкін. Ондаған адам гендердің mRNA-ғы CDS аймақтарында miR-1322-ның полисайттары бар болуы көрсетілген. Қөптеген сайттардың функционалдығын эксперименттік тексерісі көп еңбекті болып табылады. miRNA үшін сенімді сайттарын анықтаудың бір жолы – ортологиялық гендердің mRNA-сында

бұл сайттардың бар екендігін дәлеңдеу және эволюция барысында олардың алшақтықтарын талдау. ATN1, BCL6B, HTT, MAGI1, MLLT3, MN1, THAP11, TBP адам гендердің және олардың ортологтардың mRNA-ғы CDS аймактарында miR-1322 полисайттардың консервативтілігінің талдауы жүргізілді. Зерттелген гендер нейродегенеративті және онкологиялық аурулардың дамуына қатысады. Зерттеу нәтижелері көптеген жануарлар түрлерінің ортологиялық гендердің mRNA-да miR-1322 байланысу сайттары бар екендігін көрсетті. Эволюция барысында, байланысу сайттардың саны өзгереді, бұл өзгерістер осы гендердің miR-1322-мен жүргізілетін экспрессиялық реттеу тиімділігі түрге тәуелді екенін көрсетеді. Алынған нәтижелер ATN1, BCL6B, HTT, MAGI1, MLLT3, MN1, THAP11 және TBP гендердің қатысуымен пайда болған патогенез механизмдерін зерттеуіне жалпы үлес береді, сонымен қатар, біздің талдау сипатталған гендердің экспрессиясын miR-1322 арқылы реттеуді одан әрі зерттеу үшін тәжірибелік жануарлардың моделін ұсынуға мүмкіндік береді.

**Түйін сөздер:** miR-1322, mRNA, ортологиялық гендер, әлеуметтік маңызды аурулар.

Юрикова О.<sup>1</sup>, Атамбаева Ш.<sup>2</sup>, Большой А.<sup>3</sup>, Иващенко А.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>студент PhD-докторантury, стажер-исследователь, e-mail: oksanayurikova@mail.ru

<sup>2</sup>кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, e-mail: atambayevashara@gmail.com

<sup>3</sup>доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, e-mail: a\_ivashchenko@mail.ru

Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии,

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

<sup>4</sup>PhD, ассоциированный профессор, кафедра эволюционной и экологической биологии,

Хайфский университет, Израиль, г. Хайфа, e-mail: bolshoy@research.haifa.ac.il

### Сайты связывания miR-1322 в mRNA генов, участвующих в развитии нейродегенеративных и онкологических заболеваний

Установлено существование сайтов связывания miRNA не только в 3'-UTR, но и в 5'-UTR и CDS областях mRNA генов животных. Эффективность miRNA-индуцированной репрессии возрастает с увеличением числа сайтов связывания. Предполагается, что связывание miRNA может быть значительным, если ген содержит повторы последовательностей сайтов в кодирующей области. Было показано, что miR-1322 имеет полисайты в CDS областях mRNA десятков человеческих генов. Экспериментальная верификация функциональности большого числа сайтов является трудоемкой. Одним из способов определения достоверности сайтов для miRNA является доказательство существования данных сайтов в mRNA ортологичных генов и анализ их дивергенции в течение эволюции. Проведен анализ консервативности полисайтов miR-1322 в CDS mRNA ATN1, BCL6B, HTT, MAGI1, MLLT3, MN1, THAP11, TBP генов человека и их ортологов. Рассмотренные гены вовлечены в развитие нейродегенеративных и онкологических заболеваний. Результаты исследования показали, что полисайты для связывания miR-1322 обнаруживаются в mRNA ортологичных генов многих видов животных. В процессе эволюции число сайтов связывания изменяется, что указывает на видовую зависимость эффективности регуляции экспрессии данных генов, осуществляющейся miR-1322. Помимо общего вклада в изучение механизмов патогенеза, вызванного участием ATN1, BCL6B, HTT, MAGI1, MLLT3, MN1, THAP11, TBP генов, проведенный нами анализ позволяет предложить адекватную экспериментальную модель животного для дальнейшего изучения регуляции экспрессии описанных генов посредством miR-1322.

**Ключевые слова:** miR-1322, mRNA, ортологичные гены, социально значимые заболевания.

## Introduction

miRNAs are short non-coding RNAs (with 18-25 nucleotides in length) capable of binding to mRNA and repressing protein synthesis (Bartel, 2004: 281-297). It is assumed that in animals, interaction of miRNA with the 3'-UTR region of mRNA genes is predominant. To date, most scientific papers are devoted to miRNA interaction with 3'-UTR region of mRNAs. However, in recent years, the existence of sites for miRNA in 5'-UTR and CDS regions of animal mRNAs has been established (Tay, 2008: 1124-1128; Lytle, 2007: 9667-9672; Berillo, 2013:

1016-1024). It is seemed that sites localized in CDS effectively inhibit translation, while sites located in 3'-UTR are more effective in initiating mRNA degradation (Hausser, 2013: 604-615). In a number of studies using Ago-RNA immunoprecipitation and reporter assays, miRNAs have been found to bind to the 5'UTR, CDS and inhibit translation (Tay, 2008: 1124-1128; Lytle, 2007: 9667- 9672; Schnall-Levin, 2010: 15751-6; Hafner, 2010: 129-141). The efficacy of miRNA-mediated repression increases with the number of sites (Schnall-Levin, 2011: 1395-1403).

It is assumed that miRNA binding to mRNA can be significant if the gene contains repeats of site

sequences in coding region. It was shown that miR-1322 has multiple sites in CDS region of mRNAs of dozens of human genes. The presence of multiple binding sites in close proximity significantly increases the probability of interactions between miRNAs and mRNAs, even if mutations occur (Niyazova, 2015: 962637). Moreover, miR-1322 miRNAs has binding sites in 5' UTRs, CDSs, and 3' UTRs most of them are located in CDSs. One way to determine the reliability of sites for miRNAs is to prove the existence of these sites in mRNAs of orthologous genes and to analyze their divergence during evolution (Hafner, 2010: 129-141; Gaidatzis, 2007: 69; Atambayeva, 2017: 428). *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGII*, *MLLT3*, *MNI*, *THAP11*, *TBP* genes are involved in the development of neurodegenerative and oncological diseases (Matilla-Dueñas, 2012: 172-188; Wang, 2014: 192-200; Wang: 2015: 20252-20265; Thion, 2016: 1310-1315; Harjes, 2003: 425-433; Zhang, 2011: 381-385; Bergeron, 2012: 4512-4523; Dejosez, 2008: 1162-1174). To determine possibility of regulation of *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGII*, *MLLT3*, *MNI*, *THAP11* and *TBP* genes expression by miR-1322 we studied the arrangement and evolution of miR-1322 binding sites in mRNAs of these genes. Detection of effective miRNA binding sites is a promising direction for diagnosis and therapy of many diseases.

## Materials and Methods

The nucleotide sequences of mRNAs of *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGII*, *MLLT3*, *MNI*, *THAP11*, *TBP* human genes (*Homo sapience - Hsa*) and their orthologous genes (*Ailuropoda melanoleuca - Ame*, *Balaenoptera acutorostrata scammoni - Bac*, *Bos mutus - Bmu*, *Bos taurus - Bta*, *Callithrix jacchus - Cja*, *Camelus ferus - Cfe*, *Canis familiaris - Cfa*, *Capra hircus - Chi*, *Chlorocebus sabaeus - Csa*, *Cricetulus griseus - Cgr*, *Equus caballus - Eca*, *Felis catus - Fca*, *Gorilla gorilla - Ggo*, *Heterocephalus glaber - Hgl*, *Loxodontaa fricana - Laf*, *Lipotes vexillifer - Lve*, *Macaca fascicularis - Mfa*, *Macaca mulatta - Mml*, *Monodelphis domestica - Mdo*, *Mus musculus - Mmu*, *Nannospalax galili - Nga*, *Nomascus leucogenys - Nle*, *Oryctolagus cuniculus - Ocu*, *Ovis aries - Oar*, *Pan paniscus - Ppa*, *Pan troglodytes - Ptr*, *Panthera tigrisaltaica - Pti*, *Pteropus alecto - Pal*, *Pongo abelii - Pab*, *Pantholops hodgsonii - Pho*, *Rhinopithecus roxellana - Rro*, *Rattus norvegicus - Rno*, *Saimiri boliviensis boliviensis - Sbo*, *Sus scrofa - Ssc*, *Tupaia chinensis - Tch*, *Ursus maritimus - Uma*) were downloaded from NCBI GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Nucleotide sequences of human mature miR-1322 (GAUGAUGCUGCUGAUGCUG) were downloaded from the miRBase database (<http://mirbase.org>).

The miR-1322 binding sites in CDS region of mRNAs of *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGII*, *MLLT3*, *MNI*, *THAP11*, *TBP* genes were predicted using the MirTarget program. This program defines the features of binding: a) the localization of miRNA binding sites in 5'UTR, CDS and 3'UTR of mRNAs; b) the free energy of hybridization ( $\Delta G$ , kJ/mole); c) schemes of nucleotide interactions between miRNAs and mRNA. The ratio  $\Delta G/\Delta G_m (\%)$  was determined for each site ( $\Delta G_m$  equals the free energy of miRNA binding with its perfect complementary nucleotide sequence). The miRNA binding sites located on the mRNA with a ratio of  $\Delta G/\Delta G_m$  of 80% or more were considered. Described binding sites are polysites arranged in series. The program determines position of binding sites beginning from the first nucleotide of 5'UTR mRNA. The MirTarget program also takes into account the hydrogen bonds between adenine (A) and uracil (U), guanine (G) and cytosine (C), G and U; A and C (Ivashchenko, 2014: e620530)

## Results and Discussion

Using MirTarget program, miR-1322 binding polysites in CDS region of mRNAs of *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGII*, *MLLT3*, *MNI*, *THAP11*, *TBP* genes were detected. mRNAs and miR-1322 interaction characteristics are shown in the table 1. Free energy of hybridization ( $\Delta G$ ) of miR-1322 with mRNAs of *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGII*, *MLLT3*, *MNI*, *THAP11*, *TBP* genes is within -83 ÷ -93 kJ/mole. With the increase in length of polysites, probability of their interaction with miRNAs also increases.  $\Delta G/\Delta G_m$  of miR-1322 binding polysites ranged from 84 to 93%.

The function of Atrophin-1 protein, encoded by *ATN1* gene, is not yet fully understood (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). *ATN1* gene contains CAG repeats that encode polyglutamine sequence in the protein. In a healthy person, the number of CAG repeats varies from 6 to 35. The presence of more trinucleotide repeats of CAG is the cause of a rare neurodegenerative disorder – Dentato-rubro-pallido-Lewis atrophy (DRPLA). DRPLA is characterized by cerebral ataxia, myoclonic epilepsy, choreoathetosis and dementia (Matilla-Dueñas, 2012: 172-188). Inhibition of expression of mutant ATN1 protein is considered as a promising strategy for the treatment of DRPLA. In CDS region of mRNA of *ATN1* gene 15 sites for

miR-1322 binding at the position from 1687 to 1751 nucleotides were found. The region of *ATN1* gene, which contains miR-1322 binding sites in CDS of mRNA, encodes a polyglutamine sequence that is flanked by conserved oligopeptides in a number of orthologs (Table 2).  $\Delta G/\Delta G_m$  value of miR-1322 interaction with the mRNA binding sites of *ATN1* gene is in the range of 83 to 92%. Most orthologs in mRNA of *ATN1* gene have a decrease in the num-

ber of miR-1322 binding sites. However, increase in the number of binding sites was found in *Ursus maritimus*, *Equus caballus* and *Felis catus* and is equal to 28, 23 and 17, respectively. Based on the analysis of miR-1322 binding sites number and their physicochemical characteristics, *Felis catus* (17 miR-1322 binding sites) can be proposed as a model object for studying the regulation of *ATN1* gene expression.

**Table 1** – Characteristics of miR-1322 polysites in mRNAs of *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGI1*, *MLLT3*, *MN1*, *THAP11*, *TBP* genes

| Gene (number of binding sites) | The position of the beginning of binding site, nt | The free energy of interaction, $\Delta G$ , kJ/mole | $\Delta G/\Delta G_m$ , % |
|--------------------------------|---|--|---------------------------|
| <i>Hsa-ATN1</i> (15)           | 1687 ÷ 1732                                       | -84 ÷ -93  | 83 ÷ 92                   |
| <i>Hsa-BCL6B</i> (6)           | 764 ÷ 779   | -87 ÷ -89  | 85 ÷ 88                   |
| <i>Hsa-HTT</i> (18)            | 197 ÷ 248   | -89 ÷ -91  | 88 ÷ 90                   |
| <i>Hsa-MAGI1</i> (15)          | 1730 ÷ 1772                                       | -85 ÷ -89  | 83 ÷ 88                   |
| <i>Hsa-MLLT3</i> (34)          | 731 ÷ 836   | -83 ÷ -89  | 81 ÷ 88                   |
| <i>Hsa-MN1</i> (23)            | 2519 ÷ 2591                                       | -85 ÷ -89  | 83 ÷ 88                   |
| <i>Hsa-THAP11</i> (27)         | 548 ÷ 630   | -85 ÷ -93  | 83 ÷ 92                   |
| <i>Hsa-TBP</i> (29)            | 451 ÷ 547   | -85 ÷ -89  | 83 ÷ 87                   |

Note: In parentheses the number of miR-1322 binding sites

**Table 2** – Oligopeptides of orthologous *ATN1* proteins encoded by miR-1322 binding sites

| Region of ATN protein containing the oligopeptide encoded by miR-1322 binding sites | Object          |
|---|-----------------|
| STGHPPAPT.HHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH</b> GSSGPPPPGA                   | <i>Uma</i>      |
| STAHPAPTHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GSSGPPPPGA                      | <i>Eca</i>      |
| STGHPPAPTHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GSSGPPPPGA                           | <i>Fca</i>      |
| STAHPVSTHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GNSGPPPPGA                              | <i>Hsa</i>      |
| STGHPPAPTHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GSSGPPPPGA                               | <i>Ame</i>      |
| STAHPAPAHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GSSGPPPPGA                                | <i>Cfe, Pal</i> |
| STAHPVSTHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GNSGPPPPGA                                | <i>Ptr</i>      |
| STAHPAPTHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GSSGPPAPGA                                | <i>Laf</i>      |
| STAHPVSTHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GNSGPPPPGA                                | <i>Ppa</i>      |
| SAAHPASTHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GSSGPPPPGA                                | <i>Pab</i>      |
| STAHPAPAHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GSSGPPPPGA                                | <i>Ssc</i>      |
| STAHPAPAHHHH <b>QQQQQQQQQQQQQQHH.....</b> GSSGPPPPGA                                | <i>Ocu</i>      |
| STAHPASTHHHH <b>QQQQQQQQQQQQHH.....</b> GSSGPP.PGA                                  | <i>Csa, Rro</i> |
| STAHPASTHHHH <b>QQQQQQQQQQHH.....</b> GSSGPPP.GA                                    | <i>Mml, Mfa</i> |
| STAHPASTHHHH <b>QQQQQQQQQQHH.....</b> GNSAPPNGA                                     | <i>Sbo</i>      |

Note: oligopeptides encoded by miR-1322 binding polysites are indicated in bold type

*BCL6B* gene is a homologue of the proto-oncogene of 6 B-cell lymphoma (BCL6). BCL6B inhibits hepatocellular carcinoma metastases in vitro and in mice (Wang, 2014: 192-200). It is suggested that BCL6B suppresses the growth of colon cancer cells, activating the signal system involving P53 (Hu, 2015: 651-662). In CDS mRNA of BCL6B gene, 6 miR-1322 binding sites were identified

in the region from 764 to 779 nucleotides of mRNA with an interaction value of 85-88% of the maximum value of  $\Delta G/\Delta G_m$  ratio. The region of mRNA of *BCL6B* gene, which contains miR-1322 binding sites in CDS, encodes polyserine. For the group of 23 mammalian species, polyserine in BCL6B protein is flanked by conservative octapeptides (Table 3).

**Table 3** – Oligopeptides of orthologous BCL6B proteins encoded by miR-1322 binding sites

| Region of BCL6B protein containing the oligopeptide encoded by miR-1322 binding sites | Object                        |
|---|-------------------------------|
| RLPSGDEA <b>SSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS</b> EEGPIPGL                                   | <i>Ptr</i>                    |
| RLPSGDEA <b>SSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS</b> .EEGPIPGL                                  | <i>Ppa</i>                    |
| QLPSADEA <b>SSSSSSSSSSSSSSGS.....</b> EEGPIPGL  | <i>Ssc</i>                    |
| RLPSGDEA <b>SSSSSSSSSSSSS.....</b> EEGPIPGL   | <i>Hsa, Ggo</i>               |
| GLPSGDEA <b>SSSSSSSSSGS.....</b> EEGPIPGL   | <i>Pal</i>                    |
| RLPSGDEA <b>SSSSSSSSSS.....</b> EEGPIPGL  | <i>Nle</i>                    |
| RLPSGDEA <b>SSSSSSSSS.....</b> EEGPIPGL   | <i>Pab</i>                    |
| QLPSGDEA <b>SSSSSSSSS.....</b> EEGPISSP   | <i>Chi</i>                    |
| RLPSGDEAC <b>SSSSSSSS.....</b> EEGATPGL   | <i>Rno</i>                    |
| RLPSGDEA <b>SSSSSSSS.....</b> EEGPILGP  | <i>Cja</i>                    |
| RLPSGDEA <b>SSSSSSSS.....</b> EEGPISGP  | <i>Bac</i>                    |
| QLPSGDEA <b>SSSSSSSS.....</b> EEGPISSP  | <i>Oar, Pho</i>               |
| RLPSGDEA <b>SSSSSSSS.....</b> EEGPIPGL  | <i>Csa, Laf</i>               |
| RLPSGDEA <b>SSSSSSSS.....</b> EEGPISGP  | <i>Lve</i>                    |
| GLPSGDEA <b>SSSSSSSS.....</b> EEGPIPGL  | <i>Eca</i>                    |
| RLPSGDEAC <b>SSSSSSSS.....</b> EEGTTPGL   | <i>Mmu</i>                    |
| RLPSGDEA <b>SSSSSSSS.....</b> EEGPIPGL  | <i>Rro, Mml,<br/>Mfa, Tch</i> |

Note: oligopeptides encoded by miR-1322 binding polysites are indicated in bold type

Most species of *BCL6B* gene orthologs in mRNA contains decrease in the number of miR-1322 binding sites. However, *BCL6B* mRNAs of *Pan troglodytes*, *Pan paniscus* and *Sus scrofa* contain 17, 16 and 9 miR-1322 binding sites, respectively. In mRNA of *Rattus norvegicus*, there are 4 binding sites for miR-1322 with an interaction energy  $\Delta G$  of -85 kJ/m and -89 kJ/m. mRNA of *BCL6B* gene of *Mus musculus* contains only 1 miR-1322 binding site with an interaction value of 81% of the maximum value of  $\Delta G/\Delta G_m$  ratio. When studying the possibility of regulation of *BCL6B* gene expression by miR-1322 molecule in mammals, difference in the number of miR-1322 polysites in mRNA of *BCL6B* gene orthologs should be taken into account, as well as the value of miR-1322 – mRNA interaction.

mRNA of *HTT* gene also contains miR-1322 binding polysites and encodes a huntingtin HTT protein containing a polyglutamine tract. Wild types of *HTT* gene of different people have different amounts of CAG repeats (9-35). Huntington's syndrome develops when the number of trinucleotide repeats increases to 36-40 or more (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). HTT is expressed in all mammalian cells (the highest concentration is in brain and testes). HTT, interacting with proteins involved in processes of endocytosis, apoptosis, morphogenesis and transcription, can also be involved in the regulation of all these processes (Harjes, 2003: 425-433). It is found that mRNA region of *HTT* gene with CAG repeats (197-248 nucleotides) contains 18 miR-1322 binding sites with  $\Delta G/\Delta G_m$  ratio of 85 to 90%. miR-1322

binding sites are found in 15 mammalian species mRNAs of HTT gene orthologous (Table 4). mRNA of human *HTT* gene contains the greatest number of miR-1322 binding sites. A decrease in the number of miR-1322 binding sites in mRNAs of *HTT* gene orthologs is observed. So, there are 13 miR-1322 binding sites in mRNA of *Sus scrofa*, 10 miR-1322 binding sites in mRNA of *Bos taurus*, 8 miR-1322 binding sites in mRNA of *Cricetulus griseus*, 6 miR-1322 binding sites in mRNA of *Pan troglodytes* and *Pan paniscus*, 5 miR-1322 binding

sites in mRNA of *Chlorocebus sabaeus*, *Macaca mulatta*, *Nomascus leucogenys*, *Canis familiaris* and *Ovis aries*. Decapeptide flanking polyglutamine from the N-terminal in HTT protein is highly conserved. The polyproline amino acid sequence flanking the binding sites from C-terminus of HTT is variable in orthologous proteins. When studying the regulation of *HTT* gene expression by miR-1322 molecule in mammals, the difference in the number of miR-1322 binding polysites in mRNA of *HTT* gene in orthologs should be considered.

**Table 4** – Oligopeptides of orthologous HTT proteins encoded by miR-1322 binding sites

MAGI1 is a family of membrane-bound guanilatkinase (MAGUK), involved in the formation of multiprotein complexes on the inner surface of plasma membrane required for intercellular contacts (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). It is shown that MAGI1 can inhibit cellular migration and invasiveness in hepatocellular carcinoma (Zhang, 2011: 381-385). The decrease in MAGI1 expression correlates with an unfavorable prognosis for hepatocellular carcinoma and can serve as a prognostic marker (Zhang, 2012: 93-99). In CDS of mRNA of *MAGI1* gene, 15 sites for binding miR-1322 in region from 1730 to 1772 nucleotide of mRNA were detected. The value of *MAGI1* mRNA and miR-1322 interaction is 83 – 88% of the maximum value of  $\Delta G/\Delta G_m$ . Region of MAGI1, which contains miR-1322 binding sites in CDS of mRNA, encodes polyglutamine sequence. Octapeptides flanking polyglutamine in MAGI1 protein are highly con-

served in many mammalian species (Table 5). In the sequence of polyglutamine encoded by binding sites, proline inserts are found. The largest number of miR-1322 binding sites in mRNA of *MAGII* gene was detected in *Pteropus alecto*, *Pan paniscus* and *Macaca fascicularis* – 22 sites ( $\Delta G/\Delta G_m$  is equal to 83 – 88%).

MLLT3 is a subunit of transcription elongation complex. MLLT3 is involved in the early regulation of erythroid and megakaryocytic cells (Pina, 2008: 264-273). t(9;11) translocation in *MLL* is the cause of acute myeloid leukemia (Bergerson, 2012: 4512-4523). In CDS region of mRNA of *MLLT3*, 34 miR-1322 binding sites were identified at region from 731 to 836 nucleotides with an interaction value of 83.3 to 88% of the maximum value of  $\Delta G/\Delta G_m$ . Region of MLLT3, which contains miR-1322 binding sites in CDS mRNA, encodes polyserin sequence. Polyserin in orthologues MLLT3 proteins is flanked by

conservative amino acids (Table 6). There are identical number of miR-1322 binding sites and flanking regions in mRNA of *MLLT3* of *Mus musculus* and *Homo sapiens*. Therefore to study the regulation of *MLLT3* gene expression by miR-1322 molecule, the choice of *Mus musculus* as an animal model object

will be adequate. An increase in the number of binding sites was found in *Macaca mulatta*, *Macaca fascicularis*, *Chlorocebus sabaeus*, *Pan troglodytes* (36); *Pan paniscus*, *Gorilla gorilla gorilla* (35). The maximum number of binding sites was found in *Nannospalax galili* - 46.

**Table 5** – Oligopeptides of orthologous MAGI1 proteins encoded by miR-1322 binding sites

**Table 6** – Oligopeptides of orthologous MLLT3 proteins encoded by miR-1322 binding sites

*continuation of table 6*

|   |            |
|---|------------|
| Region of MLLT3 protein containing the oligopeptide encoded by miR-1322 binding sites | Object     |
| DPNRSIHT <b>ZSCSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS</b> .....TSFSKPHK                       | <i>Ssc</i> |
| DPNRSVHT <b>ZSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS</b> .....TSFSKPHK                             | <i>Pal</i> |
| DPNRSIHT <b>ZSSSSSSSSSSSSSSSSSS</b> .....TSFSKPHK                                     | <i>Rro</i> |
| DPNRSIHT <b>ZSCSSSSSSSSSSSSSSSS</b> .....TSFSKPHK                                     | <i>Pho</i> |
| DPNRSIHT <b>ZSSSSSSSSSSSS</b> .....TSFSKPHK   | <i>Cfe</i> |
| DPNRSIHT <b>ZSSSSSSSSSS</b> .....TSFSKPHK   | <i>Oar</i> |
| DPNRSIHT <b>ZSSSSSSSSS</b> .....TSFSKPHK  | <i>Sbo</i> |
| Note: oligopeptides encoded by miR-1322 binding polysites are indicated in bold type; |            |
| Z = 7S  |            |

The product of meningioma 1 gene (*MNI*) is a transcriptional coactivator, participates in the development of meningiomas (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Increased MN1 expression is observed in some types of acute myeloid leukemia (Grosveld, 2007: 336-339). Overexpression of MN1 accelerates the development of aggressive leukemia

by suppressing p53, which leads to a decrease in apoptosis and resistance to chemotherapy (Pardee, 2012: e4318). In CDS region of mRNA gene of *MNI* gene, 23 binding sites for miR-1322 with interaction energy of 83-87.5%, located from 2519 to 2610 nucleotides were found. The region with polysites encodes polyglutamine sequence (Table 7).

**Table 7** – Oligopeptides of orthologous MN1 proteins encoded by miR-1322 binding sites

Octapeptides flanking oligopeptides encoded by miR-1322 binding sites in MN1 protein are highly conserved. The number of binding sites for miR-1322 varies among mammalian species. Thus, increase in the number of binding sites occurs in *Pan troglodytes* – 24, in *Rattus norvegicus* and *Pongo abelii* – 25 and *Heterocephalus glaber* – 37. In *Gorilla gorilla gorilla*, the number of binding sites and sequences of polyglutamine-flanking amino acids are identical to those in human MN1. As a model object, in the study of regulation of *MN1* gene expression by miR-1322, *Gorilla gorilla gorilla* (23 binding sites) and *Rattus norvegicus* (25 binding sites) can be chosen. However, the difference in the number of binding sites can influence degree of suppression of MN1 protein translation, which should be taken into account when interpreting experimentally obtained results.

Another target gene of miR-1322 is *THAP11* (THAP domain containing 11), a gene that contains THAP domain. THAP family proteins act as

transcription factors that control cell proliferation, apoptosis and epigenetic silencing (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). It has been shown that *THAP11* is involved in the regulation of cell proliferation, embryogenesis, and pluripotency of embryonic stem cells (Dejosez, 2008: 1162-1174). Knockdown of *THAP11* in colon cancer SW620 cell line led to a significant decrease in proliferation (Parker, 2012: 1654-1670). Overexpression of *THAP11* changes the expression levels of such transcription factors as c-Myc, c-Myb, GATA-2 and Fli1 (Kong, 2014: e91557). In CDS region of mRNA of *THAP11* gene, 27 miR-1322 binding sites were detected in mRNA region from 548 to 630 nucleotides. *THAP11* gene region, which contains the miR-1322 binding sites in CDS mRNA, encodes polyglutamine. The value of miR-1322 – mRNA of *THAP11* interaction is 83 – 92% of the maximum value of ratio  $\Delta G/\Delta G_m$ . Octapeptides flanking polyglutamine in the *THAP11* protein of orthologs are highly conserved (Table 8).

**Table 8** – Oligopeptides of orthologous *THAP11* proteins encoded by miR-1322 binding sites

| Region of <i>THAP11</i> protein containing the oligopeptide encoded by miR-1322 binding sites | Object          |
|---|-----------------|
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQAS</b> PSASTAQT                           | <i>Ocu</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQSS</b> .....PSASTAQT                              | <i>Hsa</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS</b> .....PSASTAQT                                | <i>Csa</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQPPPPQQQQQPS</b> .....PSASTAQQA                                | <i>Ame</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS</b> .....PSASTAQT                                   | <i>Lve</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS</b> .....PSASTAQQA                                  | <i>Cfa</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQPS</b> .....PSASTAQT                                   | <i>Mml, Mfa</i> |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQQSS</b> .....PSSSTAQT                                   | <i>Rro, Rno</i> |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQQQSS</b> .....PSASTAQT  | <i>Ptr</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQPQPQQQSS</b> .....PSASTAQT                                      | <i>Eca</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQSS</b> .....PSSSTAQT  | <i>Cja</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQPPPQQQSS</b> .....PSASTAQQA                                       | <i>Fca, Pti</i> |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQQPS</b> .....PSASTAQT  | <i>Bac</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQLQQQPS</b> .....PSSSTAQT   | <i>Mmu</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQAS</b> .....QSSTAQT  | <i>Cgr</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQSS</b> .....PSASTAQT   | <i>Ggo</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQPS</b> .....PSASTAQT   | <i>Chi, Bta</i> |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQPQOPS</b> .....PSASTAQT   | <i>Pal</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQQQPS</b> .....PSASTAQT   | <i>Bmu</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQSS</b> .....PSASTAQT   | <i>Pab</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQSS</b> .....PSTSTAQT  | <i>Nga</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQQPS</b> .....PSVSATQT   | <i>Hgl</i>      |
| PAGAAAAR <b>RRQQQQQQQQQQQQPS</b> .....PSASTAQL  | <i>Laf</i>      |

Note: oligopeptides encoded by miR-1322 binding polysites are indicated in bold type

Most species of orthologs in mRNA of *THAP11* gene have a decrease in the number of miR-1322 binding sites. So, 26 miR-1322 binding sites in mRNA of *Chlorocebus sabaeus*, 24 in mRNA of *Lipotes vexillifer*, 23 in mRNA of *Canis familiaris*, 22 in mRNA of *Macaca mulatta* and *Macaca fascicularis*, 21 in mRNA of *Pan troglodytes* and *Pan paniscus*, 18 in mRNA of *Mus musculus*. The maximum number of binding sites was found in *Oryctolagus cuniculus* – 33, which makes it possible to choose it as an animal model for study of pathologies caused by *THAP11*-miR-1322 association.

TBP is a TATA-binding protein and a group of evolutionarily conserved proteins TBP-associated factors or TAFs are part of the TFIID transcription factor. TBP is required for transcription of RNA polymerase II. The TBP contains a sequence of 25-

42 glutamine residues. The expansion of the number of repeats of glutamine to 45-66 is associated with development of a neurodegenerative disease – spinal cerebellar atrophy 17 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). In CDS region of mRNA of *TBP* gene, 29 sites for miR-1322 binding are identified in region from 451 to 547 mRNA nucleotides. Part of mRNA of *TBP* gene containing miR-1322 binding sites encodes polyglutamine (Table 9). The interaction value of miR-1322 and mRNA of *TBP* gene is 83 – 87% of the maximum values of  $\Delta G/\Delta G_m$ . Decapeptides flanking polyglutamine in TBP protein from N-terminal side are highly conserved. In mRNAs of orthologues *TBP* genes, a decrease in the number of miR-1322 binding sites is observed. So, 26 miR-1322 binding sites in mRNA of *Pan troglodytes*, 23 – in mRNA of *Rhinopithecus roxellana*.

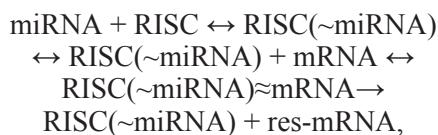
**Table 9** – Oligopeptides of orthologous TBP proteins encoded by miR-1322 binding sites

We assume that miRNA targeting can be significant if the gene contains repeats of binding site sequences. We have shown that miR-1322 has polysites in CDS regions of mRNA of dozens of human genes. Experimental verification of functionality of such a large number of sites is laborious. One way to determine the reliability of sites for miRNA is to prove the existence of these sites in mRNA of orthologous genes and to analyze their divergence during evolution. We analyzed the conservation of miR-1322 polysites in CDS mRNAs of *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGII*, *MLLT3*, *MN1*,

*THAP11*, *TBP* human genes and their orthologues. The results of the study of the conservation of miR-1322 polysites in CDSs of *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGII*, *MLLT3*, *MNI*, *THAP11*, *TBP* human genes and their orthologues showed that nucleotide sequences of miRNA binding sites in mRNA can be translated in different reading frames with the synthesis of polyQ or polyS. Oligopeptides flanking polyglutamine or polyserin encoded by miR-1322 binding sites are highly conserved. During evolution, the number of miR-1322 binding sites changes, which indicates species dependence of the

efficiency of regulation of these genes expression by miR-1322.

An increase in the number of binding sites for miR-1322 in mRNAs of *ATN1* and *HTT* genes can lead to development of neurodegenerative diseases. Normally, the CAG segment is repeated up to 35 times within these gene, mutant *ATN1* gene contains from 48 to 93 CAG repeats, mutant *HTT* gene contains to 39-75 copies of a trinucleotide repeat (Matilla-Dueñas, 2012: 172-188; Bobori, 2015: 59-65). It can be assumed that trinucleotide repeats in mRNAs can participate in the development of diseases as targets for miR-1322. The energy of interaction between miR-1322 and mRNAs of *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGII*, *MLLT3*, *MN1*, *THAP11*, *TBP* genes is between -84 kJ/mole and -93 kJ/mole. However, when predicting the probability of inhibition degree of gene expression by miRNAs, it is not enough to know only their affinity to mRNAs. Effect of suppression of genes expression directly depends on the ratio of mRNAs and miRNAs molecules concentrations, which must be taken into account when planning experiments and processing data. This can be explained by the scheme:



where RISC (RNA-induced silencing complex) – association of proteins contained in RISC complex without miRNA; RISC( $\sim$ miRNA) – association of proteins contained in RISC complex without miRNA with miRNA; RISC( $\sim$ miRNA) $\approx$ mRNA – RISC complex with miRNA and mRNA, formed by hydrogen bonds; res-mRNA – restricted mRNA.

The scheme shows following processes: miRNA binds to a group of RISC proteins, forming RISC( $\sim$ miRNA). Further, RISC( $\sim$ miRNA) binds to mRNA via hydrogen bonds ( $\approx$ ) and inhibits protein synthesis, or RISC cleaves mRNA, which is further degraded by cytoplasmic restriction enzymes. The stage of binding RISC( $\sim$ miRNA) to mRNA is reversible and in the absence of their interaction, mRNA can be used for translation. It follows from this scheme that different effects can be observed depending on the ratio of concentrations of miRNAs and mRNAs. Assume that miRNA is completely complementary to binding site in mRNA, that is, it has a high affinity to mRNA. Despite this, at low concentrations of miRNAs compared to mRNAs, the complex will have little effect on inhibition of translation, since miRNAs will bind with a small part of synthesized mRNAs. If concentration of

miRNAs is comparable or greater than concentration of mRNAs, protein synthesis will be slowed down or completely inhibited. For example, with an average affinity of miRNA-mRNA interaction, the effect of complete inhibition of protein synthesis can be achieved at miRNA concentrations much greater than mRNAs.

## Conclusion

In the mRNAs of orthologous genes of studied animal species, miR-1322 binding sites are identified that encode polyamino acids of glutamine and serine. The number of polyamino acids varies during the evolution of species and there is a tendency to increase the length of polyamino acids in proteins during evolution. Revealed changes in the number of miR-1322 polysites can influence the susceptibility of various species to diseases caused by involvement of described genes. Our analysis allows us to supplement existing knowledge about the role of miR-1322 in key biological processes and to make general contribution to study of diseases associated with *ATN1*, *BCL6B*, *HTT*, *MAGII*, *MLLT3*, *MN1*, *THAP11*, *TBP* genes. Moreover, it is possible to propose an adequate experimental animal model for further study of regulation of described genes expression by miR-1322. Based on the analysis of the number of miR-1322-3p binding sites and their physicochemical properties as a model object for studying the regulation of the expression of the described genes, the following can be proposed: for *ATN1*-*Felis catus* (17 binding sites); for *BCL6B*-*Gorilla gorilla* (6 binding sites); for *HTT* – *Sus scrofa* (13 binding sites), for *MAGII* – *Saimiri boliviensis* and *Callithrix jacchus* (15 binding sites); for *MLLT3* – *Mus musculus* (34 binding sites), *MN1* – *Gorilla gorilla gorilla* (23 binding sites) and *Rattus norvegicus* (25 binding sites), for *THAP11* – *Chlorocebus sabaeus* (26 binding sites) and *Oryctolagus cuniculus* (33 binding sites), for *TBP* – *Pan troglodytes* (26 binding sites).

Assosiation of miR-1322 with its target genes can serve as markers for some neurodegenerative disorders and types of cancer. For adequate choice of experimental animals, it is necessary to take into account the number of binding sites and interaction characteristics between miRNAs and mRNAs of target genes.

*The study was carried out with financial support of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan within the framework of grant. We are grateful to Pyrkova A.Yu. for conducting calculations on MirTarget program.*

## References

- 1 Atambayeva S, Niyazova R, Ivashchenko A, Pyrkova A, Pinsky I, Akimniyazova A, Labeit S. (2017) The Binding sites of miR-619-5p in the mRNAs of human and orthologous genes, *BMC Genomics*, vol. 18, no. 428. DOI:10.1186/s12864-017-3811-6.
- 2 Bartel DP. (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function, *Cell*, vol. 116, no. 2, pp. 281-297. DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5.
- 3 Berillo OA, Issabekova AS, Régnier M, Ivashchenko AT. (2013) Characteristics of binding sites of intergenic, intronic and exonic miRNAs with mRNAs of oncogenes coding intronic miRNAs, *African Journal of Biotechnology*, vol. 12, no. 11, pp. 1016-1024
- 4 Bergerson RJ, Collier LS, Sarver AL, Been RA, Lugthart S, Diers, MD et al. (2012). An insertional mutagenesis screen identifies genes that cooperate with Mll-AF9 in a murine leukemogenesis model, *Blood*, vol. 119, no. 19, pp. 4512–4523. DOI:10.1182/blood-2010-04-281428
- 5 Bobor C. (2014) Molecular Genetics of Huntington's Disease, *Adv Exp Med Biol*, vol. 822, pp. 59-65. DOI: 10.1007/978-3-319-08927-0\_9
- 6 Dejosez M, Krumenacker JS., Zitur LJ, Passeri M, Chu LF, Songyang, Z et.al. (2008). Ronin is essential for embryogenesis and the pluripotency of mouse ES cells, *Cell*, vol. 133, no. 7, pp. 1162–1174. DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.047.
- 7 Gaidatzis D, van Nimwegen E, Hausser J, Zavolan M. (2007) Inference of miRNA targets using evolutionary conservation and pathway analysis, *BMC Bioinformatics*, no. 8, p. 69. DOI:10.1186/1471-2105-8-69
- 8 Grosfeld GC. (2007) MN1, a novel player in human AML, *Blood Cells Mol Dis*, vol. 39, no. 3, pp. 336-9. DOI:10.1016/j.bcmd.2007.06.009.
- 9 Hafner M, Landthaler M, Burger L, Khorshid M, Hausser J, Berninger P, Rothbauer A, Ascano M Jr, Jungkamp AC, Munschauer M, Ulrich A, Wardle GS, Dewell S, Zavolan M, Tuschl T (2010) Transcriptome-wide identification of RNA-binding protein and microRNA target sites by PAR-CLIP, *Cell*, vol. 141, no. 1, pp. 129-41. DOI:10.1016/j.cell.2010.03.009
- 10 Harjes P, Wanker EE. (2003) The hunt for huntingtin function: interaction partners tell many different stories, *Trends in Biochem Sci*, vol. 28, no. 8, pp. 425 – 433. DOI: 10.1016/S0968-0004(03)00168-3
- 11 Hausser J, Syed AP, Bilen B, Zavolan M. (2013) Analysis of CDS-located miRNA target sites suggests that they can effectively inhibit translation, *Genome Res*, vol. 23, no. 4, pp.604–615. DOI: 10.1101/gr.139758.112.
- 12 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- 13 <http://mirbase.org>
- 14 Hu S, Cao B, Zhang M, et al. (2015) Epigenetic silencing BCL6B induced colorectal cancer proliferation and metastasis by inhibiting P53 signaling. *Am J Cancer Res*, vol. 5, no. 2, pp. 651-662.
- 15 Ivashchenko A, Berillo O, Pyrkova A, Niyazova R. (2014) Binding Sites of miR-1273 Family on the mRNA of Target Genes. *BioMed Res Int*, vol. 2014, p. 620530. DOI: 10.1155/2014/620530.
- 16 Kong XZ, Yin RH, Ning HM, Zheng WW, Dong XM, Yang Y, Xu FF, Li JJ, Zhan YQ, Yu M, Ge CH, Zhang JH, Chen H, Li CY, Yang XM. (2014) Effects of THAP11 on erythroid differentiation and megakaryocytic differentiation of K562 cells, *PLoS One*, vol. 9, no. 3, e91557. DOI:10.1371/journal.pone.0091557
- 17 Lytle JR., Yario T.A., Steitz JA. (2007) Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, vol. 104, no. 23, pp. .9667–9672. DOI:10.1073/pnas.0703820104.
- 18 Matilla-Dueñas A. (2012) Machado-Joseph Disease and other Rare Spinocerebellar Ataxias. In: Ahmad S.I. (eds) Neurodegenerative Diseases, Advances in Experimental Medicine and Biology, vol. 724, pp. 172-188. DOI: 10.1007/978-1-4614-0653-2\_14
- 19 Niyazova R., Berillo O, Atambayeva S, Pyrkova A, Alybayeva A, Ivashchenko A. (2015). miR-1322 binding sites in paralogous and orthologous genes, *BioMed Res Int*, vol.2015, no. 962637. DOI: 10.1155/2015/962637
- 20 Pardee TS. (2012) Overexpression of MN1 confers resistance to chemotherapy, accelerates leukemia onset, and suppresses p53 and Bim induction, *PLoS One*, vol.7, no.8, e43185. DOI:10.1371/journal.pone.0043185
- 21 Parker JB, Palchaudhuri S, Yin H, Wei J, Chakravarti D. (2012) A transcriptional regulatory role of the THAP11-HCF-1 complex in colon cancer cell function, *Mol Cell Biol*, vol. 32, no. 9, pp. 1654-70. DOI: 10.1128/MCB.06033-11.
- 22 Pina C, May G, Soneji S, Hong D, Enver T. (2008) MLLT3 regulates early human erythroid and megakaryocytic cell fate, *Cell Stem Cell*, vol. 2, no. 3, pp. 264-73. DOI: 10.1016/j.stem.2008.01.013.
- 23 Schnall-Levin M, Zhao Y, Perrimon N, Berger B. (2010) Conserved microRNA targeting in Drosophila is as widespread in coding regions as in 3UTRs, *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 107, no. 36, pp. 15751–6. DOI:10.1073/pnas.1006172107
- 24 Schnall-Levin M, Rissland OS, Johnston KW (2011) Unusually effective miRNA targeting within repeat-rich coding regions of mammalian mRNAs, *Genome Res*, vol. 21, no. 9, pp. 1395–1403. DOI: 10.1101/gr.121210.111
- 25 Thion MS, Tézenas du Montcel S, Golmard J-L, et al. (2016) CAG repeat size in Huntington alleles is associated with cancer prognosis, *European Journal of Human Genetics*, vol. 24, no .9, pp. 1310-1315. DOI:10.1038/ejhg.2016.13
- 26 Tay Y, Zhang J, Thomson AM, Lim B, Rigoutsos I. (2008) MicroRNAs to Nanog, Oct4 and Sox2 coding regions modulate embryonic stem cell differentiation, *Nature*, vol. 455 pp.1124–1128. DOI:10.1038/nature07299
- 27 Wang J, Dong L, Xu L, Chu ES, Chen Y, Shen J, et al. (2014) B cell CLL/lymphoma 6 member B inhibits hepatocellular carcinoma metastases in vitro and in mice, *Cancer Lett*, vol. 355, no. 2, pp. 192–200. DOI:10.1016/j.canlet.2014.08.025.

28 Wang W, Huang P, Wu P, et al. (2015) BCL6B expression in hepatocellular carcinoma and its efficacy in the inhibition of liver damage and fibrogenesis, *Oncotarget*, vol. 6, no. 24, pp. 20252-20265. DOI: 10.18632/oncotarget.3857

29 Zhang G, Wang Z. (2011) MAGI1 inhibits cancer cell migration and invasion of hepatocellular carcinoma via regulating PTEN, *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, vol. 36, no. 5, pp. 381-385 DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2011.05.002

30 Zhang G, Liu T, Wang Z. (2012) Downregulation of MAGI1 associates with poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *J Invest Surg*, vol. 25, no. 2, pp. 93-99. DOI: 10.3109/08941939.2011.606875.

## References

- 1 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function // *Cell*. – 2004. -Vol. 116, No. 2. - P. 281-297. DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5.
- 2 Tay Y, Zhang J, Thomson AM, Lim B, Rigoutsos I. MicroRNAs to Nanog, Oct4 and Sox2 coding regions modulate embryonic stem cell differentiation // *Nature*. – 2008. - Vol. 455. - P.1124-1128. DOI:10.1038/nature07299
- 3 Lytle JR., Yario T.A., Steitz JA. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR // *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. – 2007. - Vol. 104, No. 23. – P. 9667–9672. DOI:10.1073/pnas.0703820104.
- 4 Berillo OA, Issabekova AS, Régnier M, Ivashchenko AT. Characteristics of binding sites of intergenic, intronic and exonic miRNAs with mRNAs of oncogenes coding intronic miRNAs // *African Journal of Biotechnology*. -2013. - Vol.12, No. 11. -P. 1016-1024
- 5 Hausser J, Syed AP, Bilen B, Zavolan M. Analysis of CDS-located miRNA target sites suggests that they can effectively inhibit translation // *Genome Res.* - 2013. - Vol. 23, No. 4. - P. 604–615. DOI: 10.1101/gr.139758.112.
- 6 Schnall-Levin M, Zhao Y, Perrimon N, Berger B. Conserved microRNA targeting in Drosophila is as widespread in coding regions as in 3UTRs // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2010. - Vol. 107, No. 36. - P. 15751–6. DOI:10.1073/pnas.1006172107
- 7 Hafner M, Landthaler M, Burger L, Khorshid M, Hausser J, Berninger P, Rothbauer A, Ascano M Jr, Jungkamp AC, Munschauer M, Ulrich A, Wardle GS, Dewell S, Zavolan M, Tuschl T. Transcriptome-wide identification of RNA-binding protein and microRNA target sites by PAR-CLIP // *Cell*. – 2010. - Vol. 141, No. 1. - P.129-41. DOI:10.1016/j.cell.2010.03.009
- 8 Gaidatzis D, van Nimwegen E, Hausser J, Zavolan M. Inference of miRNA targets using evolutionary conservation and pathway analysis // *BMC Bioinformatics*. – 2007. - No.8. - P. 69. DOI:10.1186/1471-2105-8-69
- 9 Atambayeva S, Niyazova R, Ivashchenko A, Pyrkova A, Pinsky I, Akimniyazova A, Labeit S. The Binding sites of miR-619-5p in the mRNAs of human and orthologous genes// *BMC Genomics*. - 2017.- Vol. 18, No. 428. DOI:10.1186/s12864-017-3811-6.
- 10 Matilla-Dueñas A. Machado-Joseph Disease and other Rare Spinocerebellar Ataxias. In: Ahmad S.I. (eds) *Neurodegenerative Diseases // Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2012. - Vol. 724. - P. 172-188. DOI: 10.1007/978-1-4614-0653-2\_14
- 11 Wang J, Dong L, Xu L, Chu ES, Chen Y, Shen J, et al. B cell CLL/lymphoma 6 member B inhibits hepatocellular carcinoma metastases in vitro and in mice // *Cancer Lett*. – 2014. - Vol. 355, No. 2. - P.192–200. DOI:10.1016/j.canlet.2014.08.025.
- 12 Wang W, Huang P, Wu P, et al. BCL6B expression in hepatocellular carcinoma and its efficacy in the inhibition of liver damage and fibrogenesis // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6, No. 24. – P.20252-20265. DOI: 10.18632/oncotarget.3857
- 13 Thion MS, Tézenas du Montcel S, Golmard J-L, et al. CAG repeat size in Huntington alleles is associated with cancer prognosis // *European Journal of Human Genetics*. – 2016. – Vol. 24, No. 9. – P.1310-1315. Doi:10.1038/ejhg.2016.13
- 14 Harjes P, Wanker EE. (2003) The hunt for huntingtin function: interaction partners tell many different stories // *Trends in Biochem Sci*. - 2003. - Vol. 28, No. 8. - P. 425 – 433. DOI: 10.1016/S0968-0004(03)00168-3
- 15 Zhang G, Wang Z. MAGI1 inhibits cancer cell migration and invasion of hepatocellular carcinoma via regulating PTEN // *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. – 2011. - Vol. 36, No. 5. - P. 381-385 DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2011.05.002
- 16 Bergerson RJ, Collier LS, Sarver AL, Been RA, Lugathart S, Diers, MD et al. An insertional mutagenesis screen identifies genes that cooperate with Mll-AF9 in a murine leukemogenesis model // *Blood*. – 2012.- Vol.119, No. 19. -P. 4512–4523. DOI:10.1182/blood-2010-04-281428
- 17 Dejosez M, Krumenacker JS., Zitur LJ, Passeri M, Chu LF, Songyang, Z et.al. Ronin is essential for embryogenesis and the pluripotency of mouse ES cells // *Cell*. - 2008. - Vol. 133, No 7. - P. 1162–1174. DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.047.
- 18 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- 19 <http://mirbase.org>
- 20 Ivashchenko A, Berillo O, Pyrkova A, Niyazova R. Binding Sites of miR-1273 Family on the mRNA of Target Genes // *BioMed Res Int*. – 2014. - Vol. 2014, 620530. DOI: 10.1155/2014/620530.
- 21 Hu S, Cao B, Zhang M, et al. Epigenetic silencing BCL6B induced colorectal cancer proliferation and metastasis by inhibiting P53 signaling // *Am J Cancer Res*. – 2015. - Vol. 5, No. 2, P. 651-662.
- 22 Zhang G, Liu T, Wang Z. Downregulation of MAGI1 associates with poor prognosis of hepatocellular carcinoma // *J Invest Surg* – 2012. - Vol. 25, No. 2. - P. 93-9. DOI: 10.3109/08941939.2011.606875.
- 23 Pina C, May G, Soneji S, Hong D, Enver T. MLLT3 regulates early human erythroid and megakaryocytic cell fate // *Cell Stem Cell*. – 2008. - Vol. 2, No. 3. - P. 264-73. DOI: 10.1016/j.stem.2008.01.013.

- 24 Grosveld G.C. MN1, a novel player in human AML // Blood Cells Mol Dis. – 2007. - Vol. 39, No. 3. -P. 336-339. DOI:10.1016/j.bcmd.2007.06.009.
- 25 Pardee T.S. Overexpression of MN1 confers resistance to chemotherapy, accelerates leukemia onset, and suppresses p53 and Bim induction // PLoS One. – 2012. - Vol. 7, No. 8, e43185. DOI:10.1371/journal.pone.0043185
- 26 Parker JB, Palchaudhuri S, Yin H, Wei J, Chakravarti D. A transcriptional regulatory role of the THAP11-HCF-1 complex in colon cancer cell function // Mol Cell Biol. – 2012. - Vol. 32, No 9. - P. 1654-70. DOI: 10.1128/MCB.06033-11.
- 27 Bobori C. Molecular Genetics of Huntington's Disease // Adv Exp Med Biol. – 2014. - Vol. 822. - P. 59-65. DOI: 10.1007/978-3-319-08927-0\_9
- 28 Kong XZ, Yin RH, Ning HM, Zheng WW, Dong XM, Yang Y, Xu FF, Li JJ, Zhan YQ, Yu M, Ge CH, Zhang JH, Chen H, Li CY, Yang XM. Effects of THAP11 on erythroid differentiation and megakaryocytic differentiation of K562 cells // PLoS One. – 2014. - Vol. 9, No. 3. – P. e91557. DOI:10.1371/journal.pone.0091557
- 29 Niyazova R, Berillo, O, Atambayeva S., Pyrkova A., Alybayeva A., Ivashchenko, A. miR-1322 binding sites in paralogous and orthologous genes// BioMed Res Int. – 2015. - Vol. 2015, No. 962637. DOI: 10.1155/2015/962637
- 30 Schnall-Levin M, Rissland OS, Johnston KW. Unusually effective miRNA targeting within repeat-rich coding regions of mammalian mRNAs // Genome Res. – 2011. - Vol. 21, No. 9. - P. 1395–1403. DOI: 10.1101/gr.121210.111

МРНТИ 34.15.23; 34.23.35

**Аширбеков Е.<sup>1</sup>, Ботбаев Д.<sup>2</sup>, Белкожаев А.<sup>3</sup>, Абайлдаев А.<sup>4</sup>,  
Мухатаев Ж.<sup>5</sup>, Алжанулы Б.<sup>6</sup>, Лимборская С.<sup>7</sup>, Айтхожина Н.<sup>8</sup>**

<sup>1</sup>студент PhD-докторанттуры, научный сотрудник, e-mail: eldarasher@mail.ru

<sup>2</sup>студент PhD-докторанттуры, младший научный сотрудник, e-mail: daur\_92\_05@bk.ru

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

<sup>3</sup>младший научный сотрудник, e-mail: ayaz\_jarkent@mail.ru

<sup>4</sup>младший научный сотрудник, e-mail: armandj\_92@mail.ru

<sup>5</sup>младший научный сотрудник, e-mail: jusyf@mail.ru

<sup>6</sup>младший научный сотрудник, e-mail: bakhytjan\_91@mail.ru

<sup>8</sup>доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК,  
главный научный сотрудник лаборатории генома, Генеральный директор,  
e-mail: aytkhozhina@mail.ru

лаборатория структурной и функциональной геномики Института молекулярной биологии и  
биохимии им. М.А. Айтхожина, Казахстан, г. Алматы

<sup>7</sup>доктор биологических наук, профессор, Институт молекулярной генетики РАН,  
Россия, Москва, e-mail: limbor@img.ras.ru

## **АНАЛИЗ ЖУЗОВОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КАЗАХСКИХ ПЛЕМЕН НА ОСНОВЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГАПЛОГРУПП Y-ХРОМОСОМЫ**

История образования трех казахских жузов в письменных документах не зафиксирована, что служит причиной создания различных версий историков о причинах и времени данного исторического события. С целью исследования жузовой организации казахских племен нами проведен сравнительный анализ генетического разнообразия и анализ молекулярной вариации на основе распределения гаплогрупп Y-хромосомы. С помощью двух методов показано, что жузовая организация казахских племен лишь частично основана на родственных связях между ними. Группы родственных племен входят в состав Старшего и Младшего жузов. В составе Старшего жуза особняком выделяются племена Канлы, Сргели и Ысты. В Младшем жузе можно выделить племя Жетыру. Самым разнородным из трех жузов оказался Средний жуз, где каждое изученное племя можно рассматривать как отдельную группу, за исключением племени Керей, которое имеет родственные связи с группой племен Старшего жуза. Согласно AMOVA варианты с разделением племен на 9 или 10 групп являются наиболее предпочтительными для описания генетических отношений казахских племен.

Полученные данные будут полезны для историков, этнографов и других специалистов, занимающихся проблемами этногенеза казахов.

**Ключевые слова:** казахи, этногенез, Y-хромосома, гаплогруппа, гаплотип.

Ashirbekov E.<sup>1</sup>, Botbaev D.<sup>2</sup>, Belkozhaev A.<sup>3</sup>, Abayldaev A.<sup>4</sup>,  
Mukhataev Zh.<sup>5</sup>, Alzhanuly B.<sup>6</sup>, Limborska S.<sup>7</sup>, Aitkhozhina N.<sup>8</sup>

<sup>1</sup>PhD-student, researcher, e-mail: eldarasher@mail.ru

<sup>2</sup>PhD-student, junior researcher, e-mail: daur\_92\_05@bk.ru  
al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>junior researcher, e-mail: ayaz\_jarkent@mail.ru

<sup>4</sup>junior researcher, e-mail: armandj\_92@mail.ru

<sup>5</sup>junior researcher, e-mail: jusyf@mail.ru

<sup>6</sup>junior researcher, e-mail: bakhytjan\_91@mail.ru

<sup>8</sup>academician of NAS RK, professor, chief researcher of genome laboratory, General director,  
e-mail: aytkhozhina@mail.ru.

Structural and functional genomics laboratory of M. Aitkhozhin

Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Kazakhstan, Almaty

<sup>7</sup>doctor of biological science, professor, head of Department of molecular bases of human genetics,  
Institute of molecular genetics RAS, Moscow, Russia, e-mail: limbor@img.ras.ru

### **Analysis of organization of kazakh tribes in zhuzes on the basis of the distribution of y-chromosome haplogroups**

The history of three Kazakh zhuzes formation is not fixed in written documents, what causes historians to create various versions about the reasons and date of this historic event. To investigate zhuzes structure we conducted comparative analysis of genetic diversity and analysis of molecular variation based on the distribution of Y-chromosome haplogroups among Kazakh tribes. Using two methods we have shown that zhuzes structure is only partially based on the kinship between the tribes within zhuzes. Great and Junior zhuzes comprises groups of related tribes. The Kanly, Srgeli and Ysty tribes stand apart from other tribes of the Great zhuz. In the Junior zhuz the Zhetryu tribe can be distinguished. The Middle zhuz was the most heterogeneous of three zhuzes, where each studied tribe can be regarded as the separate group, with the exception of the Kerei tribe, which has kinship with the group of tribes of the Great zhuz. According to AMOVA the division of the tribes into 9 or 10 groups is the most preferable for describing genetic relations of Kazakh tribes. The obtained data will be useful for historians, ethnographers, population geneticists and other specialists dealing with the issue of Kazakhs ethnogenesis.

**Key words:** Kazakhs, ethnogenesis, Y-chromosome, haplogroup, haplotype.

Аширбеков Е.<sup>1</sup>, Ботбаев Д.<sup>2</sup>, Белкожаев А.<sup>3</sup>, Абайдаев А.<sup>4</sup>,  
Мухатаев Ж.<sup>5</sup>, Алжанулы Б.<sup>6</sup>, Лимборская С.<sup>7</sup>, Айтхожина Н.<sup>8</sup>

<sup>1</sup>PhD-докторант, ғылыми қызметкер, e-mail: eldarasher@mail.ru

<sup>2</sup>PhD докторант, кіші ғылыми қызметкер, e-mail: daur\_92\_05@bk.ru  
әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>кіші ғылыми қызметкер, e-mail: ayaz\_jarkent@mail.ru

<sup>4</sup>кіші ғылыми қызметкер, e-mail: armandj\_92@mail.ru

<sup>5</sup>кіші ғылыми қызметкер, e-mail: jusyf@mail.ru

<sup>6</sup>кіші ғылыми қызметкер, e-mail: bakhytjan\_91@mail.ru

<sup>8</sup>КР ҰҒА академигі, профессор, Бас директор, геном зертханасының бас ғылыми қызметкері,  
e-mail: aytkhozhina@mail.ru.

М.Ә. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институтының құрылым  
және функционалды геномика зертханасы, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>7</sup>биология ғылымдарының докторы, профессор, РГА Молекулалық генетика институтының  
адам генетикасының молекулалық негіздері белгілінің менгерушісі, Ресей, Мәскеу қ., e-mail: limbor@img.ras.ru

### **Y-хромосома гаплотиптеріның таралуы негізінде қазақ тайпаларының жүздік үйімдасуының анализі**

Үш қазақ жүзінің қалыптастыру тарихы жазба құжаттарда белгіленбегені осы тарихи оқиғаның себептері және үақыты туралы тарихшылардың әртүрлі нұсқаларын жасаудың себебі болып табылады. Қазақ тайпаларының жүздік үйімдасуын зерттеу үшін біз Y-хромосома гаплотиптердің таралу негізіндегі генетикалық әртүрліліктің салыстырмалы талдауы және молекулалық вариациялау анализін жүргіздік. Екі әдіс көмегімен қазақ тайпалардың жүздік үйімдасуы олардың тек ішінәра ғана туыстық байланысқа негізделген көрсетілді. Туыстық тайпалардың топтары Ұлы және Кіші жүздердің құрамына кіреді. Ұлы жүзде бөлек ерекшеленетін Қанлы, Сіргелі және ыстық тайпалары. Кіші жүзде Жетір тайпасын ерекшелеуге болады. Үш жүздегі ең гетерогенді Орта жүз болып табылады. Ұлы жүз тайпалары топтарымен туыстық байланысы бар. Керей тайпасынан басқа, осындағы зерттелген тайпаларды жеке-жеке топтар ретінде қарастыруға болады. AMOVA мәліметтерін бойынша, тайпаларды 9 немесе 10 топқа бөлу қазақ тайпаларының генетикалық қарым-қатынасын сипаттау үшін ең қолайлы болып табылады. Алынған деректер тарихшылар, этнографтар және қазақ этногенезі мәселелерімен айналысадының басқа мамандар үшін қажет болады.

**Түйін сөздер:** қазақтар, этногенез, Y-хромосома, гаплотип, гаплотоп.

## Введение

По современным историческим представлениям казахский этнос сложился путем объединения кочевых племен, входивших до этого в состав распавшейся Золотой орды. Племена казахов были объединены в три надплеменных объединения – Старший, Средний и Младший жузы, каждый со своим племенным составом и занимаемой территорией (Востров, 1968).

По причине малочисленности сохранившихся письменных источников этническая история казахского народа является одним из наименее раскрытых разделов истории Казахстана. В частности, нет сведений о том, как, когда и по каким причинам образовались три казахских жуза. Это служит причиной создания различных версий историков (Аристов, 1897; Гумилев, 1989; Темиргалиев, 2008; Акимбеков, 2011).

В связи с ограниченностью исторических данных имеется необходимость применения популяционно-генетических исследований современных казахов для понимания того, каким образом возник казахский этнос.

Для изучения расселения и этнической ди-вергенции человека наиболее удобными объектами исследования являются нерекомбинантные линии митохондриальной ДНК (мтДНК) и Y-хромосомы.

Генетические свойства Y-хромосомы, такие как передача только по отцовской линии, отсутствие рекомбинации, малая эффективная численность пула Y-хромосом по сравнению с аутосомами, позволяют прослеживать по маркерам Y-хромосомы отцовские линии, представляющие собой последовательную «запись» мутаций в ряду поколений (Underhill, 2001: 43-62; Hammer, 2002: 303-321). В случае с мтДНК, наоборот, можно проследить материнские линии (Quitana-Murci, 2004: 827-845).

Генетические маркеры Y-хромосомы можно разделить на две основные категории – диаллельные и полиаллельные. К первой категории относятся одноклеточный полиморфизм и более редкие инсерции и делеции. Темп мутирования таких локусов низок – около  $2 \times 10^{-8}$  на сайт на поколение (Hammer, 1995: 376-378). Все древние диаллельные маркеры являются уникальными и используются для выделения гаплогрупп. Вторая категория маркеров – мультиаллельные полиморфизмы – включает микро- и минисателлиты. Темп мутирования Y-цепленных микросателлитов гораздо выше, чем у диаллель-

ных маркеров – примерно  $7 \times 10^{-4}$  (Zhivotovsky, 2004:50-61).

Анализ разнообразия гаплогрупп в генофонде этносов позволяет определить генетические связи с другими народами и реконструировать пути миграций древних популяций, послуживших формированию этих этносов. Мультиаллельные маркеры удобно использовать для анализа разнообразия гаплотипов внутри гаплогрупп, определяемых по диаллельным маркерам, и для более детальной реконструкции филогении и происхождения линий (Степанов, 2006: 57-73).

Глобальный анализ разнообразия гаплогрупп позволил реконструировать миграции первого человека и проследить пути его расселения по континентам, начиная с Африки, а также дать оценку времени этих передвижений (Underhill, 2001: 43-62). Определенные гаплогруппы почти всегда распространены в определенных регионах мира, и таким образом, для Евразии можно выделить линии ближневосточного, западного, северо-восточного, юго-восточного, южного и т.д. происхождения. Таким образом, при изучении разнообразия гаплогрупп в генофонде этносов исследователи могут оценить генетический вклад в их мужской генный пул наследников из различных регионов мира.

По отношении ко всем вышеперечисленным регионам, Казахстан и Средняя Азия занимает промежуточное положение. Исторически эта территория явилась зоной контакта и смешения двух крупных рас – европеоидной и монголоидной. Считается, что антропологически казахи явились результатом метисации между европеоидной и монголоидной расами, с преобладанием последней. В бронзовый век эту землю населяли племена андроновской культуры, относившиеся к европеоидам без примесей монголоидности. Согласно крациометрическим исследованиям останков древних наследников нынешней казахской степи, начиная с сакского времени (VIII-VII вв. до н.э.) происходило последовательное увеличение монголоидного компонента, завершившееся не позднее XIV века. В XII-XIV веках окончательно сложился тот смешанный антропологический тип, к которому относят казахов (Исмагулов, 1982), хотя первое политическое объединение кочевых племен под этим этнонимом произошло лишь в середине XV века.

Свойства Y-хромосомы делают ее чрезвычайно полезным объектом исследования при изучении родоплеменной организации у казахов, у которых родство определялось по отцовской

линии и до сих пор сохранилась родоплеменная идентификация как часть традиции и культуры (Алпысбес, 2013). Это позволяет сопоставлять сведения родословных с молекулярно-генетическими данными, полученными для Y-хромосомы. Отечественными исследователями совместно с зарубежными коллегами опубликовано несколько статей, где с помощью маркеров Y-хромосомы описываются отдельные племена (Abilev, 2012: 79-89; Жабагин, 2014: 96-101; Balanovsky, 2015: e0122968; Zhabagin, 2017: e0122968), однако жузовая организация племен до сих пор рассматривалась.

Целью нашего исследования явился анализ жузовой организации казахских племен на основе распределения гаплогрупп Y-хромосом.

### **Материалы и методы исследования**

1269 образцов букального эпителия от казахов мужского пола из различных племен были собраны в результате экспедиций в города и поселки Южно-Казахстанской, Жамбылской и Алматинской областей. Все участники исследования подписали информированное согласие на его участие, в соответствии с требованиями комиссии по этике, разрешение которой было получено до начала исследования. ДНК выделяли из букального эпителия с использованием наборов «Blood & Tissue Kit» (Qiagen, США) в соответствии с протоколом производителя.

Для определения гаплогрупп Y-хромосомы образцы были протестированы по 19 однонуклеотидным полиморфизмам: M216 (гаплогруппа C), M217 (C2), M48 (C2b1a2), M407 (C2c1a1a1), M9 (K), M207 (R), M173 (R1), SRY10831 (BT, R1a), M201 (G), M285 (G1), P287 (G2), M175 (O), M231 (N), M242 (Q), M168 (CT), M1 или YAP (DE), M96 (E), M304 (J), P38 (I), а также выборочно дополнительно по 11 локусам M401 (C2b1a3a), M86 (C2b1a2a), P43 (N1c2b), M46 (N1c1), M198 (R1a1a1), M478 (R1b1a1a2), M269 (R1b1a1a1), M122 (O2), M134 (O2a2b1), M35 (E1b1b1) и M174 (D). Тестирование полиморфизма было осуществлено с помощью ПЦР с последующей рестрикцией и анализом длин рестрикционных фрагментов (метод ПЦР-ПДРФ) с использованием праймеров, описанных ранее (Underhill, 2001: 43-62; Di Cristofaro, 2013: e76748; Dulik, 2012:

229-246; Myres, 2011: 95-101; Cai, 2011: e24282; Karafet, 2008: 830-838). Определение некоторых гаплогрупп проводились с помощью программы предиктора Whit Athey's haplogroup predictor на основе данных по микросателлитным гаплотипам (Athey, 2005: 1-7).

Оценку уровня генетической дифференциации племен проводили на основе сравнительного распределения гаплогрупп Y-хромосомы с использованием опции анализа молекулярной вариации (AMOVA), в программе Arlequin (Excoffier, 2005: 47-50). Расчет показателей генетического разнообразия проводили также в программе Arlequin.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

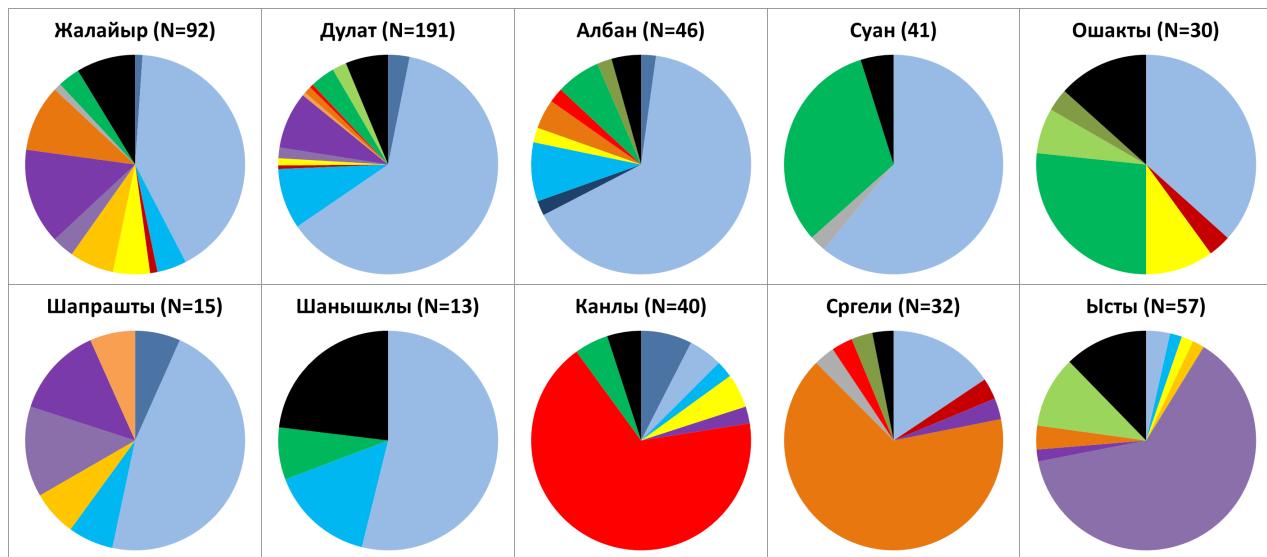
В результате тестирования однонуклеотидных полиморфизмов, а также с помощью прогнозирующих программ, использующий микросателлитный гаплотип, удалось определить 29 гаплогрупп. Выявленные гаплогруппы и их встречаемость среди исследованных племен представлены ранее в статье (Аширбеков, 2017: в печати), а также наглядно на рисунке 1.

#### **AMOVA**

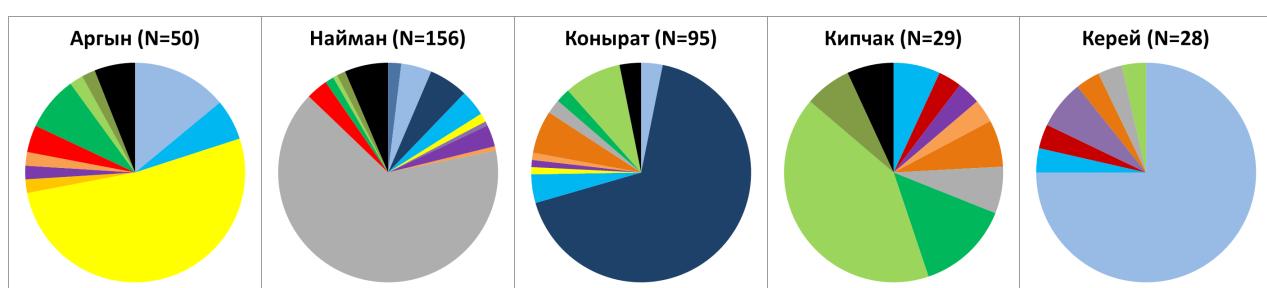
Метод анализа молекулярной вариации AMOVA применялся нами для количественной оценки генетических взаимоотношений между изученными племенами и анализа их жузовой организации. Усредненное (по всем племенам) значение индекса межпопуляционной дифференции ( $\Phi_{ST}$ ) оказалось равным 0,32 (32%), указывая на существование значительных различий между отдельными племенами или их группами (таблица 1).

При анализе с разделением племен на три группы, согласно их принадлежности к трем жузам (вариант 1), степень генетической дифференциации между группами оказалась достаточно малой и составила 11,06% ( $p<0,00001$ ), в то время как генетическая вариативность между популяциями внутри группы находилась на относительно высоком уровне 22,78% ( $p<0,00001$ ) (Вариант группирования 1). Эти данные свидетельствуют о том, что фактическое разделение на группы (жузы) является условным, искусственным и не отражает реальные генетические взаимоотношения между племенами.

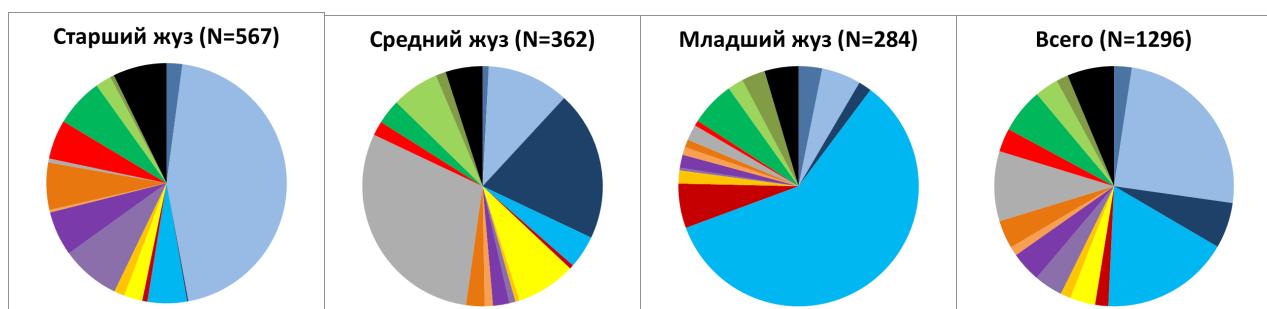
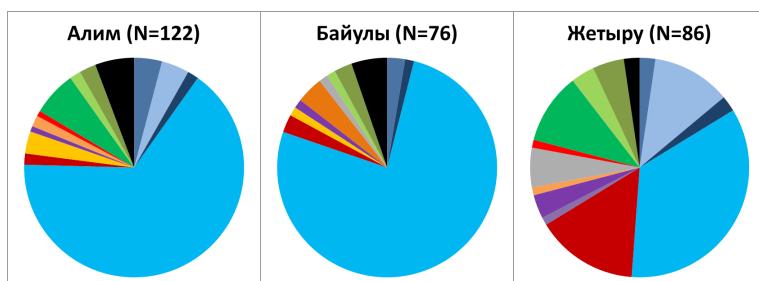
Племена Старшего жуза



Племена Среднего жуза



Племена Младшего жуза



|             |          |          |         |           |            |            |          |       |
|-------------|----------|----------|---------|-----------|------------|------------|----------|-------|
| ■ C-M217(x) | ■ C-M401 | ■ C-M407 | ■ C-M86 | ■ E1b-M35 | ■ G1       | ■ G2       | ■ J1     | ■ J2a |
| ■ N-P43     | ■ N-M46  | ■ O-M134 | ■ Q     | ■ R1a     | ■ R1b-M478 | ■ R1b-M269 | ■ Другие |       |

Рисунок 1 – Диаграммы распределения гаплогрупп Y-хромосомы в исследованных племенах, жузах и общей выборке

**Таблица 1 – Количественные параметры генетической вариации при различных вариантах группирования**

| Вариант группирования |   | Составляющие вариации          | Процент вариации | P        |
|-----------------------|---|--------------------------------|------------------|----------|
| -                     | Без группирования   | Междуди племенами              | 31,92            | <0,00001 |
|                       |   | Внутри племен                  | 68,08            | <0,00001 |
| 1                     | 3 группы: (Старший жуз), (Средний жуз), (Младший жуз)   | Междуди группами               | 11,60            | 0,00164  |
|                       |   | Междуди племенами внутри групп | 22,78            | <0,00001 |
|                       |   | Внутри племен                  | 65,62            | <0,00001 |
| 2                     | 9 групп: (Дулат, Албан, Суан, Шанышкылы, Жалайыр, Ошакты, Шапырашты, Керей), (Алим, Байулы, Жетыру), (Аргын), (Конырат), (Найман), (Кипчак), (Ысты), (Сргели), (Канлы)    | Междуди группами               | 28,46            | 0,00001  |
|                       |   | Междуди племенами внутри групп | 6,54             | <0,00001 |
|                       |   | Внутри племен                  | 64,99            | <0,00001 |
| 3                     | 10 групп: (Дулат, Албан, Суан, Шанышкылы, Жалайыр, Ошакты, Шапырашты, Керей), (Алим, Байулы), (Жетыру), (Аргын), (Конырат), (Найман), (Кипчак), (Ысты), (Сргели), (Канлы) | Междуди группами               | 32,09            | <0,00001 |
|                       |   | Междуди племенами внутри групп | 2,74             | <0,00001 |
|                       |   | Внутри племен                  | 65,17            | <0,00001 |

Учитывая все превалирующие гаплогруппы, нами был проанализирован вариант с разделением общей выборки на 9 групп (вариант 2). Первая группа объединила племена с превалирующей гаплогруппой C3-M401: сюда вошли большинство племен Старшего жуза (Дулат, Албан, Суан, Шанышкылы, Жалайыр, Ошакты, Шапырашты), а также племя Среднего жуза Керей. Вторую группу составили племена Младшего жуза с превалирующей гаплогруппой C3-M86: Алим, Байулы и Жетыру. Остальные племена рассматривались как отдельные группы: племена Ысты (превалирующая гаплогруппа J1-M267), Сргели (N-M46), Канлы (Q), Аргын (G1-M285), Найман (O-M134), Конырат (C3-M407) и Кипчак (R1b-M478). Такой вариант группирования показал значительно более низкие значения вариации между племенами внутри групп (6,54%) при увеличении доли вариации между группами (28,46%), что свидетельствует о том, что такой вариант более отражает генетические связи между племенами, нежели жузовая структура.

Также нами был проверен вариант с 10 группами (вариант 3), где, в отличие от предыдущего варианта, из группы Младшего жуза было выделено племя Жетыру как наиболее разнородное по гаплогруппному составу. Из источников известно, что данное племя образовалось в результате объединения семи разных племен. В результате были получены существенно более низкие значения вариации между племенами внутри групп (2,74%) при одновременном увеличении доли вариации между группами (32,09%).

Вероятно, данную разбивку на группы следует считать наиболее предпочтительной для описания генетической дифференциации казахских племен. Очевидно, что дальнейшее деление на группы будет приводить к дальнейшему уменьшению уровня вариации между племенами внутри групп и увеличению вариации между группами. Однако в нашем случае дальнейшее последовательное разбиение приводило к незначительным изменениям показателей. В то же время, другие варианты группировки сопровождались значительным увеличением вариации между племенами и уменьшением вариации между группами.

#### *Генетическое разнообразие на основе частот встречаемости гаплогрупп*

Проведенная на основе частот встречаемости гаплогрупп оценка генетического разнообразия не противоречит результатам AMOVA (Таблица 2). Наибольшие значение генетического разнообразия наблюдалось в племени Жетыру ( $0,87 \pm 0,02$ ). Средние значения показаны для племен Кыпшак ( $0,81 \pm 0,07$ ), Ошакты ( $0,80 \pm 0,05$ ), Жалайыр ( $0,79 \pm 0,04$ ) и Шапырашты ( $0,79 \pm 0,10$ ) (Таблица 3). Пониженные значения выявлены для племени Аргын ( $0,71 \pm 0,06$ ) и Шанышкылы ( $0,70 \pm 0,12$ ). У остальных племен уровень генетического разнообразия составил менее 0,70, в целом, коррелируя с преобладанием в них отдельных определенных гаплогрупп. Самые низкие значения были характерны для племен Керей ( $0,44 \pm 0,12$ ) и Байулы ( $0,46 \pm 0,08$ ).

**Таблица 2** – Показатели генетического разнообразия в изученных племенах

| Племя                | Генетическое разнообразие, D | Стандартное отклонение |
|----------------------|------------------------------|------------------------|
| Жалайыр              | 0,7941                       | 0,0358                 |
| Дулат                | 0,5959                       | 0,0403                 |
| Албан                | 0,5700                       | 0,0853                 |
| Суан                 | 0,5378                       | 0,0585                 |
| Ошакты               | 0,7977                       | 0,0517                 |
| Шапырашты            | 0,7905                       | 0,1049                 |
| Шанышкылы            | 0,7051                       | 0,1220                 |
| Канлы                | 0,5436                       | 0,0940                 |
| Сргели               | 0,5565                       | 0,0973                 |
| Ысты                 | 0,5877                       | 0,0731                 |
| Аргын                | 0,7094                       | 0,0648                 |
| Найман               | 0,5620                       | 0,0469                 |
| Конырат              | 0,5371                       | 0,0607                 |
| Кыпшак               | 0,8128                       | 0,0650                 |
| Керей                | 0,4418                       | 0,1159                 |
| Алим                 | 0,5948                       | 0,0525                 |
| Байулы               | 0,4561                       | 0,0719                 |
| Жетыру               | 0,8725                       | 0,0198                 |
| Старший жуз          | 0,7732                       | 0,0169                 |
| Средний жуз          | 0,8513                       | 0,0116                 |
| Младший жуз          | 0,7351                       | 0,0266                 |
| Казахи трех областей | 0,8960                       | 0,0049                 |

Низкие значения генетического разнообразия во многих племенах отражают преобладание определенных линий в их генофонде, что вполне ожидаемо, так как рассматриваются не популяции, а племена, большинство представителей которых могут быть родственными друг другу.

Среди жузов наибольшим генетическим разнообразием обладает Средний жуз. Хотя четыре из пяти изученных племен Среднего жуза показали достаточно низкий уровень генетического разнообразия, все они имеют разные превалирующие гаплогруппы (племена Аргын, Найман, Конырат и Керей) (рисунок 1). Племя Кипчак также имеет свою превалирующую гаплогруппу при средних показателях генетического разнообразия.

Низкие значения генетического разнообразия в Старшем и Младшем жузах объясняются наличием в этих жузах превалирующих гаплогрупп: для Старшего жуза это гаплогруппа C3-M401, для Младшего жуза – C3-M86. Гаплогруппа C3-M401 является превалирующей для девяти из двенадцати племен Старшего жуза, и только в трех племенах основными выступают другие гаплогруппы. Самый низкий уровень генетического разнообразия показан для Младшего жуза. В состав Младшего жуза входят три больших племени, двое из которых показали низкие значения генетического разнообразия (Алим и Байулы), в то время как в третьем (Жетыру) наблюдается самое высокое ее значение.

### Заключение

Таким образом, нами показано, что жузовая организация казахских племен лишь частично основана на родственных связях между ними. В составе Старшего жуза особняком выделяются племена Канлы, Сргели и Ысты. В Младшем жузе можно выделить племя Жетыру. Самым разнородным из трех жузов оказался Средний жуз, где каждое изученное племя можно рассматривать как отдельную группу, за исключением племени Керей, которое имеет родственные связи с группой племен Старшего жуза.

### Литература

- 1 Востров В.В., Муканов М.С. Родоплеменной состав и расселение казахов (конец XIX – начало XX вв.).- Алма-Ата, 1968.- 165 с.
- 2 Аристов Н.А. Заметки об этническом составе тюрских племен и народностей и сведения об их численности.- СПб.: тип. С.Н. Худекова, 1897.- 182 с.
- 3 Гумилев Л.Н. Древняя Русь и Великая степь.- М.: Мысль, 1989.- 766 с.
- 4 Темиргалиев Р. Из истории казахского триединства. К вопросу о возникновении жузов // <http://www.centrasia.ru/newsA.php?st=1210748460>, 2008.
- 5 Акимбеков С.М. Формула трех // Эксперт Казахстан.- 2011.- №21.- С.21-23.
- 6 Underhill P.A, Passarino G., Lin A.A., Shen P., Mirazón Lahr M., Foley R.A., Oefner P.J., Cavalli-Sforza L.L. The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations // Ann Hum Genet.- 2001.- Vol.65.- P.43-62.
- 7 Hammer M.F., Zegura S.L. The human Y chromosome haplogroup tree: nomenclature and phylogeography of its major divisions // Annu Rev Anthropol.- 2002.- Vol.31.- P.303-321.

- 8 Quintana-Murci L., Chaix R., Wells R.S., et al. Where West Meets East: The Complex mtDNA Landscape of the Southwest and Central Asian Corridor // *Am J Hum Genet.* - 2004.- Vol.74.- P.827-845.
- 9 Hammer M.F. A recent common ancestry for human Y chromosomes // *Nature.* - 1995.- Vol.378.- P.376-378.
- 10 Zhivotovsky L.A., Underhill P.A., Cinnioglu C. et al. On the effective mutation rate at Y-chromosome STRs with application to human population divergence time // *Am J Hum Genet.* - 2004.- Vol.74.- P.50-61.
- 11 Степанов В.А., Харьков В.Н., Пузырев В.П. Эволюция и филогеография линий Y-хромосомы человека // *Вестник ВОГиС.* - 2006.- №1.- С. 57-73.
- 12 Исламголов О. Этническая антропология Казахстана: соматологическое исследование.- Алма-ата: Наука Казахской ССР, 1982.- 256 с.
- 13 Алпысбес М. Шежире казахов: источники и традиции.- Астана, 2013.- 240 с.
- 14 Abilev S., Malyarchuk B., Derenko M., Wozniak M., Grzybowski T., Zakharov I. The Y-chromosome C3\* star-cluster attributed to Genghis Khan's descendants is present at high frequency in the Kerey clan from Kazakhstan // *Hum Biol.* - 2012.- Vol.84.- P.79-89.
- 15 Жабагин М.К., Дибиррова Х.Д., Фролова С.А., и др. Связь изменчивости Y хромосомы и родовой структуры: генофонд степной аристократии и духовенства казахов // *Вестник Московского университета. Серия XXIII Антропология.* - 2014.- №1.- С.96-101.
- 16 Balanovsky O., Zhabagin M., Agdzhoyan A., et al. Deep Phylogenetic Analysis of Haplogroup G1 Provides Estimates of SNP and STR Mutation Rates on the Human YChromosome and Reveals Migrations of Iranic Speakers // *PlosOne.* - 2015.- Vol.10, №4.- e0122968.
- 17 Zhabagin M., Balanovska E., Sabitov Zh., et al. The Connection of the Genetic, Cultural and Geographic Landscapes of Transoxiana // *Scientific Reports.*- 2017.- Vol.7.- e0122968.
- 18 Di Cristofaro J., Pennarun E., Mazières S., et al. Afghan Hindu Kush: where Eurasian sub-continent gene flows converge // *PlosOne.* - 2013.- Vol.8, №10.- e76748.
- 19 Dulik M.C., Zhadanov S.I., Osipova L.P., et al. Mitochondrial DNA and Y chromosome variation provides evidence for a recent common ancestry between Native Americans and Indigenous Altaians // *Am J Hum Genet.* - 2012.- Vol.90, №3.- P.229-246.
- 20 Myres N.M., Roots S., Lin A.A., et al. A major Y-chromosome haplogroup R1b Holocene era founder effect in Central and Western Europe // *Eur J Hum Genet.* - 2011.- Vol.19, №1.- P.95-101.
- 21 Cai X., Qin Z., Wen B., Xu S., et al. Human migration through bottlenecks from Southeast Asia into East Asia during Last Glacial Maximum revealed by Y chromosomes // *PlosOne.* - 2011.- Vol.6, №8.- e24282.
- 22 Karafet T.M., Mendez F.L., Meilerman M.B., et al. New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree // *Genome Res.* - 2008.- Vol.18.- P.830-838.
- 23 Athey T.W. Haplogroup Prediction from Y-STR Values Using an AlleleFrequency Approach // *Journal of Genetic Genealogy.* - 2005, Vol.1.- P.1-7.
- 24 Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // *Evolutionary Bioinformatics Online.* - 2005.- Vol.1.- P.47-50.
- 25 Аширбеков Е.Е., Ботбаев Д.М., Белкожаев А.М., Абайлдаев А.О., Неупокоева А.С., Мухатаев Ж.Е., Алжанулы Б., Шарафутдинова Да.А., Мукушкина Да.Д., Рахымгожин М.Б., Хансеитова А.К., Лимборская С.А., Айтхожина Н.А. Распределение гаплогрупп Y-хромосомы казахов Южно-Казахстанской, Жамбылской и Алматинской областей // *Доклады НАН РК.* - 2017.- №6.- С.25-30.

## References

- 1 Abilev S., Malyarchuk B., Derenko M., Wozniak M., Grzybowski T., Zakharov I. (2012) The Y-chromosome C3\* star-cluster attributed to Genghis Khan's descendants is present at high frequency in the Kerey clan from Kazakhstan. *Hum Biol.*, vol.84, pp.79-89.
- 2 Akimbekov S.M. (2011) Formula trekh [Formula of three]. *Ekspert Kazakhstan*, no.21, pp.21-23.
- 3 Alpysbes M. Shezhire kazakhov: istochniki i traditsii [Shezhire of Kazakhs: sources and traditions]. Astana, 2013, pp.240.
- 4 Aristov N.A. Zametki ob etnicheskem sostave tiurskikh plemen i narodnostei i svedeniiia ob ikh chislennosti [Notes on ethnic composition of turkic tribes and Nations and information on their number]. SPb.: tip. S.N. Khudekova, 1897, pp.182.
- 5 Ashirbekov E.E., Botbaev D.M., Belkozhaev A.M., Abaylidaev A.O., Neupokoeva A.S., Mukhataev J.E., Alzhanuly B., Sharafutdinova D.A., Mukushkina D.D., Rakhyymgozhin M.B., Khanseitova A.K., Limborska S.A., Aytkhozhina N.A. (2017) Raspredelenie gaplogrupp Y-khromosomy kazakhov Iuzhno-Kazakhstanskoi, Zhambylskoi i Almatinskoi oblastei [Distribution of Y-chromosome haplogroups of Kazakh from the South Kazakhstan, Zhambyl and Almaty regions]. *Doklady NAN RK*, no.6, pp.25-30.
- 6 Athey T.W. (2005) Haplogroup Prediction from Y-STR Values Using an AlleleFrequency Approach. *Journal of Genetic Genealogy*, vol.1, pp.1-7.
- 7 Balanovsky O., Zhabagin M., Agdzhoyan A., et al. (2015) Deep Phylogenetic Analysis of Haplogroup G1 Provides Estimates of SNP and STR Mutation Rates on the Human YChromosome and Reveals Migrations of Iranic Speakers. *PlosOne*, vol.10, no.4, e0122968.
- 8 Cai X., Qin Z., Wen B., Xu S., et al. (2011) Human migration through bottlenecks from Southeast Asia into East Asia during Last Glacial Maximum revealed by Y chromosomes. *PlosOne*, vol.6, no.8, e24282.
- 9 Di Cristofaro J., Pennarun E., Mazières S., et al. (2013) Afghan Hindu Kush: where Eurasian sub-continent gene flows converge. *PlosOne*, vol.8, no.10, e76748.

- 10 Dulik M.C., Zhadanov S.I., Osipova L.P., et al. (2012) Mitochondrial DNA and Y chromosome variation provides evidence for a recent common ancestry between Native Americans and Indigenous Altaians. *Am J Hum Genet.*, vol.90, no.3, pp.229-246.
- 11 Excoffier L., Laval G., Schneider S. (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, vol.1, pp.47-50.
- 12 Gumilev L.N. Drevniaia Rus' i Velikaia step' [Ancient Rus and the Great steppe]. M.: Mysl', 1989, pp.766.
- 13 Hammer M.F. (1995) A recent common ancestry for human Y chromosomes. *Nature*, vol.378, pp.376-378.
- 14 Hammer M.F., Zegura S.L. (2002) The human Y chromosome haplogroup tree: nomenclature and phylogeography of its major divisions. *Annu Rev Anthropol.*, vol.31, pp.303-321.
- 15 Ismagulov O. Etnicheskaiia antropologiiia Kazakhstana: somatologicheskoe issledovanie [Ethnic anthropology of Kazakhstan: somatological study]. Nauka Kazakhskoi SSR, 1982, pp.256.
- 16 Karafet T.M., Mendez F.L., Meilerman M.B., et al. (2008) New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree. *Genome Res.*, vol.18, pp.830-838.
- 17 Myres N.M., Rootsi S., Lin A.A., et al. (2011) A major Y-chromosome haplogroup R1b Holocene era founder effect in Central and Western Europe. *Eur J Hum Genet.*, vol.19, no.1, pp.95-101.
- 18 Quintana-Murci L., Chaix R., Wells R.S., et al. (2004) Where West Meets East: The Complex mtDNA Landscape of the Southwest and Central Asian Corridor. *Am J Hum Genet.*, vol.74, pp.827-845.
- 19 Stepanov V.A., Kharkov, V.N., Puzyrev V.P. (2006) Evoliutsiia i filogeografiia linii Y-khromosomy cheloveka [The Evolution and phylogeography of human Y-chromosome line]. *Vestnik VOGiS*, no.1, pp.57-73.
- 20 Temirgaliev R. Iz istorii kazakhskogo triedinstva. K voprosu o vozniknenii zhuzov [From the history of the Kazakh Trinity. The question of the emergence of zhuzes]. <http://www.centrasia.ru/newsA.php?st=1210748460>, 2008.
- 21 Underhill P.A., Passarino G., Lin A.A., Shen P., Mirazón Lahr M., Foley R.A., Oefner P.J., Cavalli-Sforza L.L. (2001) The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations. *Ann Hum Genet.*, vol.65, pp.43-62.
- 22 Vostrov V.V., Mukhanov M.S. Rodoplemennoi sostav i rasselenie kazakho (konets XIX – nachalo XX vv.) [Clan-tribal structure and resettlement of Kazakhs (late XIX – early XX centuries)]. Alma-Ata, 1968, 165 p.
- 23 Zhabagin M., Balanovska E., Sabitov Zh., et al. (2017) The Connection of the Genetic, Cultural and Geographic Landscapes of Transoxiana. *Scientific Reports*, vol.7, e0122968.
- 24 Zhabagin M.K., Dibirova H.D., Frolova S.A., et al. (2014) Sviaz' izmenchivosti Y khromosomy i rodovoi struktury: genofond stepnoi aristokratii i dukhovenstva kazakho [The relationship of the variability of the Y chromosome and family structure: the gene pool of steppe aristocracy and clergy of the Kazakhs]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriia XXIII Antropologiiia*, no.1, pp.96-101.
- 25 Zhivotovsky L.A., Underhill P.A., Cinnioglu C. et al. (2004) On the effective mutation rate at Y-chromosome STRs with application to human population divergence time. *Am J Hum Genet.*, vol.74, pp.50-61.

МРНТИ 34.15.24; 34.15.27

**Тайпакова С.М.<sup>1</sup>, Смекенов И.Т.<sup>2</sup>, Куанбай А.К.<sup>3</sup>,  
Сапарбаев М.К.<sup>4</sup>, Бисенбаев А.К.<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>PhD, ведущий научный сотрудник, e-mail: sabira.taipakova@gmail.com

<sup>2</sup>младший научный сотрудник, e-mail: smekenovizat@gmail.com

<sup>3</sup>младший научный сотрудник, e-mail: kuanbai.aigerim93@gmail.com

<sup>5</sup>доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК,

главный научный сотрудник, e-mail: Amangeldy.Bisenbaev@kaznu.kz

лаборатория молекулярной генетики Научно-исследовательского института проблем биологии и биотехнологии, Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

<sup>4</sup>PhD, профессор, заведующий лабораторией репарации ДНК, Институт Густава Роззи,  
Франция, г. Париж, e-mail: murat.saparbaev@gustaveroussy.fr

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ARP<sup>-/-</sup> МУТАНТНЫХ РАСТЕНИЙ  
*ARABIDOPSIS THALIANA* К ГЕНОТОКСИЧЕСКИМ АГЕНТАМ**

Апуриновые/апиримидиновые (AP) эндонуклеазы являются ключевыми ферментами реализации двух пересекающихся путей репарации ДНК: ДНК-гликозилаза инициированной экспозиционной репарации оснований (BER) и инцизионной репарации нуклеотидов (NIR). В процессе BER, AP-эндонуклеазы специфически гидролизуют фосфодиэфирную связь рядом с AP-сайтом и 3'-блокирующими группами, образующимися в ДНК после удаления окисленного основания ДНК-гликозилазой. Тогда как в NIR механизме AP-эндонуклеазы гидролизуют фосфодиэфирную связь ДНК с 5'-конца от повреждения. Геном широко используемого модельного организма *A.thaliana* кодирует три предполагаемых гомолога главной человеческой AP-эндонуклеазы 1 (APE1): Arp, Ape1L и Ape2. ARP – это главная AP-эндонуклеаза растений, которая удаляет абазивные сайты. Однако неизвестно, содержат ли AP-эндонуклеазы растений NIR активность. В настоящей работе показано, что гомозиготный arp<sup>-/-</sup> мутант *A. thaliana* проявляет высокую чувствительность к метилметансульфонату и трет-бутилгидропероксиду, но не к H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, что указывает на то, что ARP-катализируемая NIR активность требуется для восстановления AP-сайтов, генерируемых экзогенными факторами, и специфических окислительных повреждений ДНК, индуцированных t-BuO<sub>2</sub>H в условиях *in vivo*. Экстракти растений нокаутных по гену Arp не проявляли NIR активность на adA•T содержащем олигонуклеотидном субстрате. Эти результаты свидетельствуют о том, что ARP является основной AP- и NIR- эндонуклеазой в *A. thaliana*.

**Ключевые слова:** АП-эндонуклеаза, *Arabidopsis thaliana*, ДНК гликозилазы, активные формы кислорода.

Taipakova S.M.<sup>1</sup>, Smekenov I.T.<sup>2</sup>, Kuanbay A.K.<sup>3</sup>, Saparbayev M.K.<sup>4</sup>, Bissenbaev A.K.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>PhD, leading researcher, e-mail: sabira.taipakova@gmail.com

<sup>2</sup>junior researcher, e-mail: smekenovizat@gmail.com

<sup>3</sup>junior researcher, e-mail: kuanbai.aigerim93@gmail.com

<sup>5</sup>doctor of biological science, professor, academician of NAS of RK, chief researcher,  
e-mail: Amangeldy.Bisenbaev@kaznu.kz

laboratory of molecular genetics Scientific Research Institute of Biology and Biotechnology Problems,  
Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>4</sup>PhD, professor, head of DNA repair laboratory, Institute Gustave Roussy,  
France, Paris, e-mail: murat.saparbaev@gustaveroussy.fr

**Sensitivity of arabidopsis thaliana arp<sup>-/-</sup> mutants to genotoxic agents**

Apurinic/apyrimidinic (AP) endonucleases are important DNA repair enzymes involved in two overlapping pathways: DNA glycosylase-initiated base excision (BER) and AP endonuclease-initiated nucleo-

tide incision repair (NIR). In the BER pathway, AP endonucleases cleave DNA at AP sites and 3'-blocking moieties generated by DNA glycosylases, whereas in NIR, the same AP endonucleases incise DNA 5' to a wide variety of oxidized bases. The flowering plant *Arabidopsis thaliana* contains three genes encoding homologues of major human AP endonuclease 1 (APE1): *Arp*, *Ape1L* and *Ape2*. ARP is a major plant AP endonuclease that removes abasic sites. However, it was not known whether the plant AP endonucleases contain the NIR activity. Here, we report that homozygous *A. thaliana* *arp*<sup>-/-</sup> mutant exhibited high sensitivity to methyl methanesulfonate and tert-butyl hydroperoxide, but not to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, suggesting that ARP-catalyzed NIR activity is required to repair AP sites generated by exogenous factors and specific oxidative DNA lesions induced by t-BuO<sub>2</sub>H in vivo. Extracts from *arp*<sup>-/-</sup> mutants, but not *ape1L* and *ape2* mutants, exhibited no or very low NIR activity on the adA•T. These results strongly suggest that ARP is a major AP site cleavage and NIR endonuclease in *A. thaliana*.

**Key words:** AP endonuclease, *A.thaliana*, DNA glycosylases, reactive oxygen species (ROS).

Тайпақова С.М.<sup>1</sup>, Смекенов И.Т.<sup>2</sup>, Қуанбай А.К.<sup>3</sup>, Сапарбаев М.К.<sup>4</sup>, Бисенбаев А.К.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>PhD, жетекші ғылыми қызметкер, e-mail: sabira.taipakova@gmail.com

<sup>2</sup>кіші ғылыми қызметкер, e-mail: smekenovizat@gmail.com

<sup>3</sup>кіші ғылыми қызметкер, e-mail: kuanbai.aigerim93@gmail.com

<sup>5</sup>биология ғылымдарының докторы, профессор, КР ҮФА академигі, бас ғылыми қызметкер, e-mail: Amangeldy.Bisenbaev@kaznu.kz

Биология және биотехнология мәселелері Ғылыми-зерттеу институты, молекуалық генетика лабораториясы, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>4</sup>PhD, профессор, ДНК репарациясы лабораториясының менгерушісі, Густав Роззи институты, Франция, Париж қ., e-mail: murat.saparbaev@gustaveroussy.fr

### ***Arabidopsis thaliana arp*<sup>-/-</sup> мутантты өсімдіктердің генотоксикалық агенттерге сезімталдығы**

Апуриндік/апиримидиндік (AP) эндонуклеазалар ДНК репарациясының өзара қылышатын екі жолы ДНК-гликозилазамен инициализацияланатын негіздердің экспрессиялық, репарациясы (BER) және нуклеотидтердің инцизиялық, репарациясының (NIR) негізгі ферменті болып табылады. BER процесінде AP-эндонуклеаза тотыға закымдалған негізді ДНК-гликозилаза ферментімен өндеу нәтижесінде ДНК молекуласында түзілетін AP-сайты мен 3'-шектеуші тобы жаңындағы фосфодиэфирлік байланысты спецификалық гидролиздейді. Ал NIR механизмінде AP-эндонуклеазалар ДНК закымдануының 5'-соңындағы фосфодиэфирлік байланысты гидролиздейді. Модельді организм *A.thaliana* геномы адам AP-эндонуклеазасының (APE1) үш болжамды гомологтарын кодтайды: *Arp*, *Ape1L* және *Ape2*. ARP – өсімдіктердің апуриндік/апиримидиндік сайттарын ыдырататын негізгі өсімдік AP-эндонуклеазасы болып табылады. Алайда өсімдіктердегі AP эндонуклеазалардың NIR белсенделікке ие екені осы күнге дейін белгісіз. Ұсынылып отырған жұмыста, гомозиготты *arp*<sup>-/-</sup> мутант *A. thaliana* метилметансульфонат пен трет-бутилгидропероксидке жоғары сезімталдық қорсетеді, алайда H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ке сезімталдығы байқалмайды. Ол ARP-катализденетін NIR белсенделілік *in vivo* жағдайында t-BuO<sub>2</sub>H әсерінен индукицияланатын спецификалық, тотықсан ДНК закымданулары мен экзогенді факторлар әсерінен туындағы AP-сайттарды қалпына келтіру үшін қажет екендігін қорсетеді. *arp*<sup>-/-</sup> мутантты өсімдіктерінің клеткалық экстрактылары adA•T олигонуклеотидтік субстратында NIR белсенделілігін қорсетпеді. Бұл нәтижелер ARP белогы *A. thaliana* өсімдігінің негізгі AP- және NIR-эндонуклеазасы екендігін дәлелдейді.

**Түйін сөздер:** АП эндонуклеаза, *A.thaliana*, ДНК гликозилазалар, оттегінің белсенді түрлері.

## **Введение**

Наземные растения постоянно подвергаются воздействию различных факторов окружающей среды, включая ультрафиолетовые и экстремально высокие температуры, которые вызывают обширное повреждение в клеточной ДНК. Кроме того, растения продуцируют активные формы кислорода (АФК), во время дыхания в митохондриях и фотосинтеза в хлоропластах. Предполагается, что окислительное повреждение ДНК, вызванное АФК, является основным источником

эндогенного повреждения клеток (Cadet J., 2003: 5-23; Foyer C.H., 2003: 355-364). Окислительное повреждение оснований ДНК является субстратом для двух пересекающихся путей репарации ДНК: экспрессионной репарации оснований (BER) и инцизионной репарации нуклеотидов (NIR) (Krokan H.E., 2013: a012583; Ischenko A.A., 2002: 183-87; Jaruga P., 2008: 1413-1425; Brooks P.J., 2008: 1168-1179). В классическом BER механизме репарации ДНК, ДНК-гликозилаза расщепляет N-гликозидную связь между поврежденным основанием и сахарофосфатным остовом, в ре-

зультате образуются апуриновые/апириимиевые сайты (АП-сайт) (монофункциональные ДНК-гликозилазы) или одноцепочный разрыв ДНК с 3'-фосфо- $\alpha$ , $\beta$ -ненасыщенным альдегидом (3'-РУА, бифункциональные ДНК гликозилазы/АР-лиазы, катализирующие  $\beta$ -элиминацию) или одноклеточный зазор, фланкированный двумя остатками фосфата (бифункциональные гликозилазы/АР-лиазы, катализирующие  $\beta$ / $\delta$ -элиминацию) (Hitomi K., 2007: 410-28). Альтернативно, в NIR механизме репарации АП-эндонуклеаза делает разрез с 5'-стороны поврежденного нуклеотида и генерирует однонитевой разрыв с 3'-гидроксильной группой, подходящей для работы ДНК-полимеразы (Gros L., 2004: 73-81).

В настоящее время молекулярная характеристика механизмов репарации ДНК в основном сосредоточена на клетках бактерий, дрожжей и млекопитающих (Friedberg E.C., 2006), причем гораздо меньше внимания уделяется механизмам, поддерживающим стабильность генома в растениях. Важно отметить, что помимо экзогенных факторов, в геноме растений постоянно происходит ДНК-гликозилаза-опосредованное удаление оснований для активного деметилирования цитозина во время развития и в ответ на действие факторов окружающей среды (Vanyushin B.F., 2011: 360-68; He X.J., 2011: 442-65). Растения содержат несколько ДНК-гликозилаз, которые специфически распознают и удаляют 5-метилцитозин (5mC), инициируя его замену цитозином через BER механизм (Zhu J.K., 2009: 143-66). В *Arabidopsis thaliana* 5mC-DНК гликозилазы (ROS1, DME, DML2 и DML3) участвуют в регуляции импринтинга и сайлентинга генов (Zhu J.K., 2009: 143-66). Эти ферменты являются бифункциональными ДНК-гликозилазами, которые расщепляют АП-сайт, образуемый после удаления 5mC путем  $\beta$ - и  $\beta$ / $\delta$ -элиминации (Morales-Ruiz T., 2006: 6853-58). Таким образом, инициируемая ДНК-гликозилазой деметилирование ДНК в растениях генерирует высокогенотоксические разрывы нитей ДНК, не содержащие на 3'-конце гидроксильные группы и, следовательно, не могут быть использованы ДНК-полимеразами и ДНК-лигазами, и поэтому должны быть удалены до инициации пострепарационного синтеза ДНК.

Геном широко используемого модельного организма *A. thaliana* кодирует три предполагаемых гомолога главной человеческой АП-эндонуклеазы 1 (APE1): *Arp*, *Ape1L* и *Ape2* (Murphy T.M., 2009: e4297). Ранее было показано, что

белок ARP представляет собой АП-эндонуклеазу класса II, которая расщепляет дуплексную ДНК с 5'-стороны АП-сайта и генерирует однонитевой разрыв, фланкированный с 3'-гидроксилем (3'-ОН) и 5'-дезоксирибоза-фосфат (5'-dRp) (Babiyuk E., 1994: 3299-303; Cordoba-Canero D., 2011: 693-702). ARP также содержит редокс-функцию, аналогичную редокс-функции APE1 человека, которая может стимулировать связывание с ДНК с помощью транскрипционного фактора человека AP-1 (Babiyuk E., 1994: 3299-303).

В настоящее время ДНК-гликозилазы и АП-эндонуклеазы пшеницы только частично охарактеризованы (Joldybayeva B., 2014: e92963; Bis-senbaev A.K., 2011: 1155-64). Ранее мы впервые показали, существование АП-эндонуклеазной активности, которая способна расщеплять олигонуклеотидные дуплексы, содержащие АП-сайт и  $\alpha$ -аномерный остаток 2'-дезоксиаденозина (adA) в экстрактах клеток алейронового слоя зерна пшеницы, что указывает на наличие BER и NIR механизма в пшенице (Babiyuk E., 1994: 3299-303). Мы также клонировали и охарактеризовали предполагаемую АП-эндонуклеазу *Triticum aestivum*, TaApe1L, гомолога APE1 человека и AtApe1L *A. thaliana* (Cordoba-Canero D., 2011: 693-702). Очищенная TaApe1L показала значительную 3'-фосфодиэстеразную и 3'-фосфатазную активность, но очень слабую АП-эндонуклеазную активность, однако у TaApe1L отсутствовала NIR активность. На основе этих данных мы предположили, что другие АП-эндонуклеазы растений могут содержать NIR функцию.

Целью представленной работы является изучение роли АП эндонуклеаз арабидопсиса в репарации повреждений ДНК *in vivo*

## Материалы и методы исследования

Для приготовления буферных растворов использовали реагенты марок х.ч., ч.д.а., и о.с.ч., производимых фирмами «Sigma», «Amresco», «Serva» и «Реахим». В ходе работы использовали ферменты модификации ДНК и белков производства фирм «Sigma-Aldrich» (США), «New England Biolabs» (Франция), «Thermo Fisher Scientific» (США), «Promega» (США), «Roche» (США).

В качестве субстратов для определения биохимической активности были использованы олигонуклеотиды, содержащие модифицированные основания, и комплементарные

к ним олигонуклеотиды (Eurogentec, Seraing, Belgium). Последовательность олигонуклеотидов длиной 30 нуклеотидов (30-mer) следующая – d(TGACTGCATA<sup>X</sup>CATGTAGACG ATGTGCAT). Где X указывает место тетрагидрофурана (THF, аналог апуринового или апимидинового сайта), альфа-2'-дезоксиаденозина (*adA*). В комплементарной цепи напротив поврежденного основания содержится А, Г, С или Т. Комплементарная цепь длиной 40 нуклеотидов (Rex-T) была следующего состава d(GGAA TTCCCCGCGCCAATGTCTCTAACGTCTCCG CGCCAC).

5'-конец олигонуклеотидов метили с T4 полинуклеотид киназой в присутствии  $\gamma^{32}\text{P}$ -АТР. Отжиг меченых олигонуклеотидов с комплементарной цепью проводили в буфере содержащей 50 мМ KCl и 20 мМ HEPES-КОН (pH 7.5) при температуре 70°C в течение 3 минут и охлаждали до комнатной температуры в течение 2 часов. Полученные олигонуклеотиды обозначили как X•С (G, A, T), соответственно. Где X обозначает модифицированное основание.

Объектом исследования являлись семена арабидопсиса (*A. thaliana*) линии Col0 (растения дикого типа) и линии SALK\_021478 (*arp*<sup>−/−</sup>), относящейся к коллекции инсерционных мутантов SALK, полученные из Биологического ресурсного центра (Arabidopsis Biological Resource Center, <http://www.arabidopsis.org>).

Для выращивания растений *A. thaliana* линии Col0 (растения дикого типа) и линии SALK\_021478 (*arp*<sup>−/−</sup>), на твердых питательных средах использовали чашки Петри, содержащие соли Мурасиге-Скуга (MS) в концентрации 0.5 нормы, 1% сахарозы и 1% агар. Первые 2 суток культивирование проводилось в темноте при 4°C, после чего растения выращивали в условиях длинного светового дня ( $\geq 14$  ч) при 22°C. Через 18 дней растения с чашек Петри переносили в почву для сбора семян. Генотипирование с целью отбора гомозигот проводили с помощью ПЦР. Присутствие Т-ДНК вставки в мутантных растениях SALK\_021478 (*arp*<sup>−/−</sup>) проверяли с помощью ПЦР с использованием следующей комбинации праймеров (таблица 1): “RP” (прямой, комплементарный к гену ARP), “LP” (обратный, комплементарный к гену ARP) и “BP\_salk” (комплементарный к левому краю Т-ДНК). Ожидаемая длина ПЦР продукта для дикого типа аллеля – 2259 пн., а для мутантного аллеля – 2254 пн. Кроме этого мутантные линии арабидопсиса проверяли с помощью RT-PCR с гено-специфическими праймерами LP/RT

(ожидаемая длина ампликона 577 пн) и иммуноблотингом с анти-ARP поликлональными антителами. Потомство отобранных гомозиготных растений использовали в последующих экспериментах.

**Таблица 1** – Праймера для характеристики мутантов *A.thaliana* с Т-ДНК вставкой

| Название | Последовательность          |
|----------|-----------------------------|
| RP       | d (AAGAGCTAAGAGAAGCCGGTG)   |
| BP_SALK  | d (ATTTTGGCAGTTGGAAC)       |
| LP       | d ( AGCTTTCCAGTCCTTCTGAGG ) |
| RT       | d ( CCAGGAGCAGCTATTGATCAG ) |

#### *Выделение тотальной РНК из листьев *A. thaliana**

Для выделения РНК брали 100 мг листьев *A. thaliana*. Гомогенизировали в заранее охлажденной фарфоровой ступке в присутствии 1,3 мл TRI реагента (Sigma-Aldrich, США) и продолжали растирать. Гомогенат перенесли в микропробирку и центрифугировали при 12000 об/мин в течение 5 минут при 4°C. Супернатант перенесли в стерильную пробирку и добавили 300 мкл холодного хлороформа перемешивали путем инвертирования пробирки 25 раз и инкубировали на льду в течение 3 минут. Далее центрифугировали при 12000 об/мин в течение 15 минут при 4°C. Верхнюю водную fazу осторожно перенесли в новую пробирку и добавили 0,5 мл холодного изопропилового спирта. После перемешивания растворов инкубировали 10 минут на льду и центрифугировали при 12000 об/мин 10 минут при 4°C. Супернатант удаляли пипеткой и осадок промывали в 1 мл 75% этанола. Образец осаждали при 12000 об/мин в течение 5 минут при 4°C и сушили при комнатной температуре 10 минут. Осадок растворяли в 30 мкл dH<sub>2</sub>O. Концентрацию и качество выделенной РНК определяли с помощью спектрофотометра Nanodrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, США), 1% агарозного гель-электрофореза. Образец хранился при -70°C.

#### *Выделение мРНК*

Выделение мРНК объем полученного нами препарата тотальной РНК довели до 600 мкл dH<sub>2</sub>O. Препарат инкубировали в течении 5 мин при 65°C в водяной бане, затем к препаратору добавили 500 мкл двухкратного связывающего бу-

фера (1М NaCl, 20мМ Tris pH 7.5, 2мМ EDTA, 0.1% ДСН). Полученную смесь переносили в пробирку с промытой олиго-dT целлюлозой и инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре на качалке. Смесь центрифугировали при 14000 об/мин в течение 10 минут, удаляли супернатант. Осадок промывали два раза однократным связывающим буфером и два раза промывочным буфером (0.2М NaCl, 10мМ Tris pH 7.5, 1мМ EDTA, 0.05% ДСН). мРНК элюировали с помощью олиго-dT целлюлозы, добавлением 250 мкл буфера для элюции и инкубированием при 37°C в течении 5 мин. Далее смесь центрифугировали и осторожно отбирали супернатант в чистую пробирку. Повторяли элюцию. Объединяли элюаты и доводили объем водой до 200 мкл. Для осаждения поли-А РНК к раствору добавляли 40 мкл 5М ацетата аммония, 2.5 объема этанола и поместили на 30 мин -70°C, или на ночь на -20°C. Осадок собирали центрифугированием и растворяли в 50 мкл dH<sub>2</sub>O.

#### *Реакция обратной транскрипции*

Для синтеза кДНК на основе мРНК, в стерильную пробирку добавляли в указанной последовательности: РНК (1-500 нг поли-А РНК), праймер (15-20 пмоль ген-специфичного праймера) и затем объем довели до 12,5 мкл стерильной dH<sub>2</sub>O. Реакционную смесь прогревали при 70°C в течение 5 минут и охлаждали на льду. Далее, к смеси добавляли (в указанной последовательности): 4 мкл пятикратного реакционного буфера (250 мМ Tris-HCl pH 8.3 при 25°C, 250 мМ KCl, 20 мМ MgCl<sub>2</sub>, 50 мМ DTT), 0.5 мкл (или 20 ед.) RiboLock™ RNase Inhibitor, 2 мкл 10 мМ смеси dNTP (конечная концентрация 1мМ), 1 мкл (или 200 ед.) RevertAid™ H Minus M-MuLV Reverse Transcriptase (Fermentas, Латвия). Конечный объем реакционной смеси составлял 20 мкл. Затем смесь осторожно перемешивали и инкубировали в течение 5 мин при 37°C. Реакцию проводили в течение 1.5 часов при 42°C в водяной бане. Реакцию останавливали прогреванием в течении 10 мин при 70°C. Полученный продукт хранили при -20°C.

#### *Полимеразная цепная реакция atARP*

Для получения в достаточном количестве кДНК использовали метод ПЦР. К 2 мкл реакционной смеси обратной транскрипции добавляли олигонуклеотиды, являющиеся прямым и обратным праймерами до конечной концентрации 0,2 мМ. Далее в смесь добавляли 12,5 мкл 2X PCR Master mix (Fermentas, Латвия), содержащие 0,625 единиц Taq ДНК полимеразы в буфере (750 мМ Tris HCl, pH 8.8, 200 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1 %

Tween 20), 50 мМ MgCl<sub>2</sub> и 5 мМ каждого dNTP, а также 15,5 мкл деонизированной стерильной воды на 25 мкл реакции. Продукты ПЦР анализировали в 1% агарозном геле и затем очищали методом элюции из геля.

#### *Получение экстрактов растений*

Для иммуноблотинга приблизительно 50 мг свежей ткани листа или корня из 15-дневных проростков замораживали в жидким азоте и гомогенизировали в 250 мкл ледяном буфере для экстракции белков, содержащего 10 мМ Трис-HCl (pH 8,0), 100 мМ KCl, 15% глицерина, 1 мМ DTT, 0,01% NP-40, 1 мМ фенилметилсульфонилфторида, 5 мкг•мл<sup>-1</sup> лейпептина и 1 мкг•мл<sup>-1</sup> антипаина. Полученный лизат центрифугировали при 13000 g в течение 1 часа при 4°C для осаждения клеточных остатков. Супернатант переносили в новую пробирку и концентрацию белка в каждом образце определяли методом Брэдфорда (Bradford M.M., 1976:248-254) перед нанесением на гель.

Для анализа активности ферментов 15-дневные проростки замораживали в жидким азоте. Затем полученный порошок ресуспендировали в 3 объемах (масса/объем) в буфера для гомогенизации, содержащего 25 мМ HEPES-KOH (pH 7,8), 100 мМ KCl, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 250 мМ сахара-зы, 10% глицерина, 1 мМ DTT и 1×полный микс-ингибиторов протеаз без EDTA. Все дальнейшие шаги проводили при 0-4°C. Гомогенат инкубировали в течение 30 мин при 4°C и центрифугировали при 13000 g в течение 1 часа. Супернатант фильтровали через нейлоновую сетку диаметром 20 мкм, затем образцы подвергали диализу против буфера с 25 мМ HEPES-KOH (pH 7,8), 100 мМ KCl, 17% глицерина и 2 мМ DTT. Полученные экстракты концентрировали, используя центрифужное фильтрующее устройство Amicon Ultra 30 000 NMWL (Millipore, Германия), и концентрацию белка определяли по методу Брэдфорда. Экстракты хранили в небольших объемах при -80 °C.

#### *Анализ активности фермента*

Стандартная реакционная смесь (20 мкл) содержала 5 нМ 32Р-меченный дуплексный олиго-нуклеотидный субстрат и указанное количество фермента в оптимизированном фермент-специфическом буфере. Условия анализа расщепления для ARP, wARP и APE1 человека варьировали в зависимости от исследуемой реакции восстановления ДНК. Стандартные АП-эндонуклеазный анализ проводился при высокой концентрации ионов Mg<sup>2+</sup> ( $\geq$ 5 мМ) и слегка щелочном значении pH («BER условия»): 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 100 мМ KCl,

20 мМ HEPES-KOH (pH 7,6), 0,1 мг•мл<sup>-1</sup> BSA, 0,1 нМ APE1 или 1,0 нМ ARP, или 5 нМ wARP и 5 нМ THF-T или Exo20•RexT, или Exo20<sup>THF</sup>•RexT, или Exo20<sup>F</sup>•RexT дуплексы. Стандартные исследования NIR-активности выполнялись при низкой концентрации Mg<sup>2+</sup> ( $\leq$ 1 мМ) и кислом/нейтральном значений pH ( $\leq$ 7) («NIR условия»): 5 нМ adA-T или дуплексы содержащие другое повреждение, 0,1 мМ MgCl<sub>2</sub>, 25 мМ KCl, 20 мМ HEPES-KOH (pH 6,8), 0,05 мМ DTT, 0,01% NP-40, 0,1 мг•мл<sup>-1</sup> BSA и либо 0,5 нМ APE1, либо 5 нМ ARP, или 20 нМ wARP. Все анализы проводили при 37°C в течение 0-30 минут. Реакции останавливали добавлением 10 мкл раствора, содержащего 0,5% SDS и 20 мМ ЭДТА, затем обессаливали в колонках, заполненных Sephadex G25 (Amersham Biosciences), уравновешенном в 7 М мочевине. Обессоленные продукты реакции нагревали при 95°C в течение 3 минут и затем разделяли методом электрофореза 20% полиакриламидном геле в денатурирующих условиях (7 М мочевина, 0,5×TBE). Гель сканировали с использованием Typhoon FLA-9500 Phosphor Screen (GE Healthcare, США) и анализировали с использованием программы Image Gauge v4.0 software.

#### *Получение антител к белку ARP и иммуноблотинг*

Анти-ARP поликлональное антитела были получены против полноразмерного рекомбинантного His-меченного ARP белка. Около 1 мг очищенного рекомбинантного ARP эмульгировали в равном объеме полным адьювантом Фрейнда и вводили подкожно кроликам. Вспомогательные инъекции антигена в неполном адьюванте Фрейнда проводились каждые две недели. У кролика брали образец крови до первой инъекции, а затем через 7 дней после последней четвертой инъекции для получения иммунной сыворотки. Через неделю после последней инъекции кровь собирали и иммунную сыворотку очищали иммуноаффинно посредством набора Protein A agarose Fast Flow resin (Sigma). В качестве первичных антител использовали очищенное поликлональное антитела к ARP, а в качестве вторичных антител – конъюгированный с пероксидазой хрена козлиные анти-кроличье иммуно-глобулины.

Экстракти растений (12 мкг белка) фракционировали в 10%-ном ДСН-полиакриламидном геле и затем белки переносились из полиакриламидного геля на PVDF мембрану (Pierce) с использованием Bio-Rad Mini-transblot Cell (Bio-Rad, США) в соответствии с инструкциями

производителя. После переноса белка, мембрану осторожно встряхивали в блокирующем растворе, содержащем 5% молока и 0,1% Tween-20 в 1x TBS (трикс-буферный солевой раствор: 50 мМ Трис-HCl (pH 7,5), 20 мМ NaCl) в течение 1 часа при комнатной температуре. После удаления блокирующего раствора мембрану инкубировали в 10 мл аффинно-очищенном анти-ARP поликлональном антителе (разведение 1: 10000 в блокирующем растворе 0,1% Твин-20) в течение ночи при 4°C. Мембрану промывали пять раз в 10 мл буфере для промывки (1×TBS, 0,1% Tween-20) в течение 5 мин, каждый раз. После промывки, мембрану инкубировали в 10 мл растворе вторичных антител (разведение 1:20000 в блокирующем растворе с 0,1% Твин-20) в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем мембрану промывали пять раз в 10 мл растворе для промывки в течение 5 мин каждый раз. Раствор субстрата готовилась путем смешивания равного объема раствора пероксида и раствора люминала/усилителя. Мембрану инкубировали в растворе субстрата в течение 2 мин в темноте и белковые полосы проявляли на пленке Kodak X-Omat.

#### *Определение чувствительности дикого типа и arp<sup>+</sup> мутантных растений к ДНК повреждающим агентам*

Семена Col-0 дикого типа и arp<sup>+</sup> мутантных растений высевали на среду MS, содержащей 1% сахарозы и 1% агара, затем стратифицировали в течение 48 ч при 4°C и пророщивали в условиях длинного дня при 22°C. Для изучения чувствительности дикой и мутантных растений к действию ДНК повреждающих агентов в ходе прорастания семян, мы инкубировали 6-дневные проростки дикого и агр-/ - мутантного растения в среде, содержащей различные концентрации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MMS и t-BuO<sub>2</sub>H. Рост растения оценивали через 6-7 дней инкубации в условиях нормального роста, как описано выше.

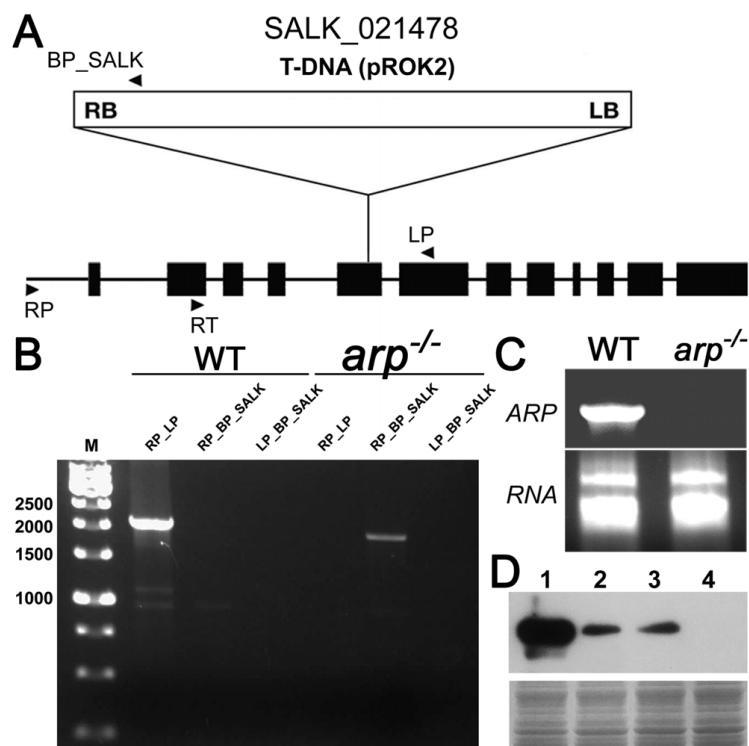
Чувствительность семян Col-0 дикого типа и arp<sup>+</sup> мутантов к ДНК повреждающим агентам также измерялась в условиях непосредственного воздействия препаратов. Для этого семена высевали на чашки с 1/2 MS, содержащие 1% сахарозы и 1% агара с или без 25 ppm MMS или 18 ppm t-BuO<sub>2</sub>H или H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,1 и 1 мМ), стратифицировали в течение 48 часов при 4°C и пророщивали в условиях длинного дня при 22°C. Влияние агентов, на прорастание семян оценивали путем измерения скорости прорастания на среде с 1/2 MS, содержащей MMS, t-BuO<sub>2</sub>H или H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Перед посевом поверхность семян стери-

лизовали 70% этианолом в течение 1 мин, затем 2% гипохлоритом в течение 5 мин и промывали пять раз стерильной деионизированной водой. Пятьдесят семян из растения дикого типа (C l-0) и *arp*<sup>-/-</sup> мутантов были стратифицированы в течение 48 ч при 4°C и выращены в MS среде, содержащей 1% сахарозы и 1% агара с или без 25 ppm MMS, 18 ppm *t*-BuO<sub>2</sub>H и 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Рост растения оценивали через 17 дней инкубации в условиях нормального роста, как описано выше.

## Результаты исследования и их обсуждение

Известно, что *A. thaliana* с инактивированными генами *arp* (*arp*<sup>-/-</sup>), не отличаются от растений дикого типа и, в конечном счете, обеспечивают продукцию существенного количества жизнеспособных семян (Ishchenko A.A., 2006:

2564-69). Чтобы изучить возможную роль ARP в BER механизме растений, мы из имеющихся в коллекциях инсерционных мутантов арабидопсица Института Salk выбрали несколько линий (SIGnAL database: <http://signal.salk.edu/cgi-bin/tDNAexpress>) (Рисунок 1А). Геномную ДНК и тотальную РНК от нескольких *arp*<sup>-/-</sup> мутантов анализировали с помощью ПЦР и ОТ-ПЦР с использованием праймеров специфичных к Т-ДНК и гену ARP. В результате были выявлены четыре растения гомозиготные по мутантному гену *arp*<sup>-/-</sup> (Рисунок 1В и С). Вестерн-блот-анализ общего белка из листьев и корней 15-дневных проростков из растений дикого типа и *arp*<sup>-/-</sup> с использованием кроличьих анти-ARP-поликлональных антител подтвердил отсутствие белка ARP у мутантных растений (Рисунок 1Д, дорожка 4).



А – Схема гена ARP и место интеграции Т-ДНК;  
Б – Схема ПЦР геномной ДНК с праймерами специфичными к Т-ДНК вставки (BP\_salk), промоторному участку гена ARP (RP) и 6-му экзону гена ARP (LP);  
В – RT-PCR с геноспецифическими праймерами (RT и LP);  
Г – Иммуноблотинг белковых экстрактов с анти-ARP поликлональными антителами.

**Рисунок 1** – Анализ мутантных по гену ARP линий *A. thaliana* с Т-ДНК вставкой

Чтобы выяснить роль ARP в репарации АП-сайта и поврежденных оснований, мы определили ДНК-восстанавливающую активность в

бесклеточных экстрактах гомозиготного *arp*<sup>-/-</sup> мутантного растения. В соответствии с предыдущими наблюдениями бесклеточные экстрак-

ты из *Arabidopsis* дикого типа (WT) эффективно расщепляли 30-мерный THF•T-дуплекс (Рисунок 2, дорожки 4-6). Напротив, экстракты из агр-/ - растений не показали или проявляли очень низкую АП-эндонуклеазную активность (дорожки 7-9). Следует отметить, что увеличение концентрации белка в присутствии двухвалентных катионов приводит к обширной деградации ДНК неспецифическими 3'-5'-эксонуклеазами. Поэтому для определения NIR активности в растительных экстрактах мы использовали 10 мМ EGTA, хелатирующий агент избирательный для ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , для ингибирования неспецифической деградации ДНК. Инкубация 30-мерного adA•T-дуплекса с различными концентрациями бесклеточных экстрактов из *Arabidopsis* дикого типа привела к устойчивому расщеплению ДНК и получению 10- и 9-мерных продуктов расщепления (дорожки 12-14).

Интересно, что увеличение количества WT экстрактов не привело к увеличивало эффективность расщепления adA•T дуплекса, наоборот, вместо этого привело к увеличению неспецифической деградации ДНК (дорожка 14). Как и ожидалось, экстракты из агр-/ - мутантов не проявляли NIR активность на adA•T дуплексе (дорожки 15-17). Тем не менее, инкубация THF•T и adA•T дуплексов с экстрактами из агр-/ - мутантов вызывала генерацию малого количества 10- и 9-мерных продуктов расщепления, что может быть связано либо с неспецифической 3' → 5' эхонуклеазной активностью или наличием белков Ape1L и Ape2. В совокупности эти результаты свидетельствуют о том, что ARP является основной АП- и NIR- эндонуклеазой в *A. thaliana*.

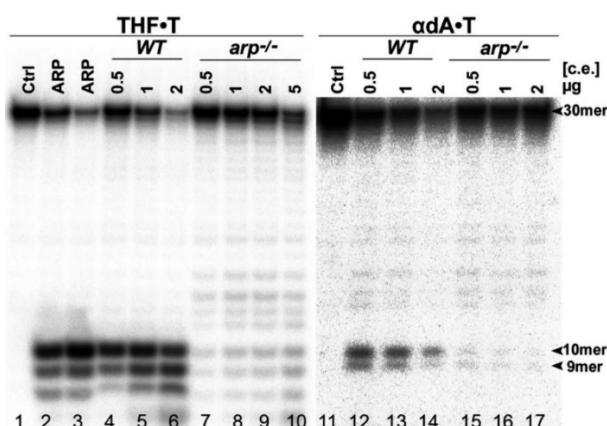


Рисунок 2 – Характеристика АП- и NIR-активности в бесклеточных экстрактах дикого и *arp*<sup>-/-</sup> мутантных растений *A. thaliana*

В последующих экспериментах мы определили ДНК-восстанавливающую активность в бесклеточных экстрактах гомозиготного WT, *arp*<sup>-/-</sup>, *ape1L*<sup>-/-</sup> и *ape2*<sup>-/-</sup> мутантных растениях.

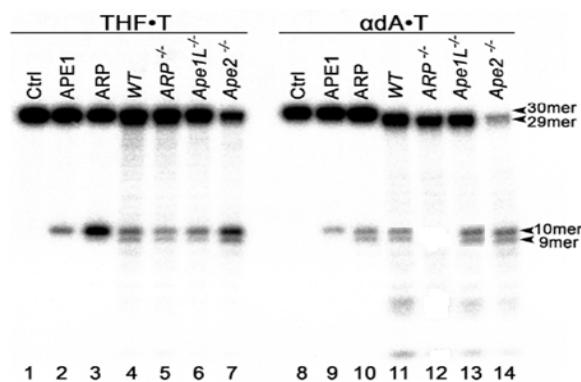
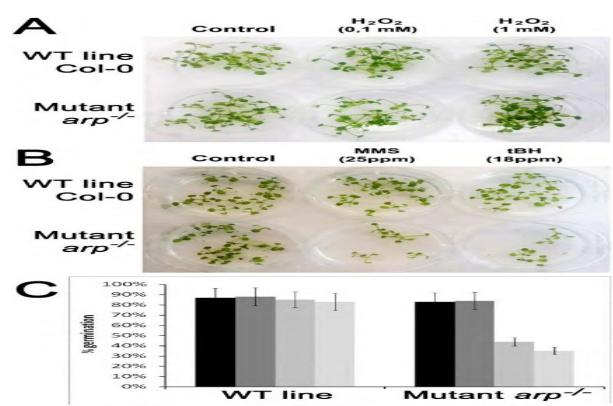
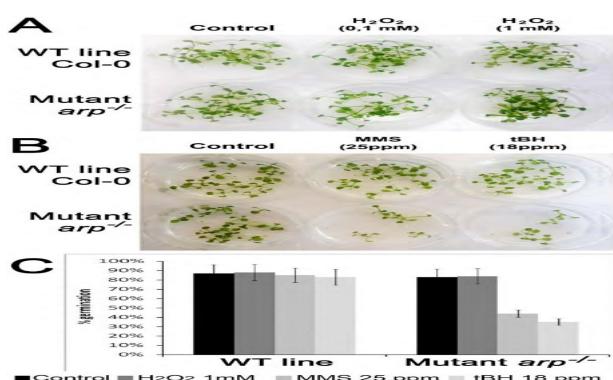
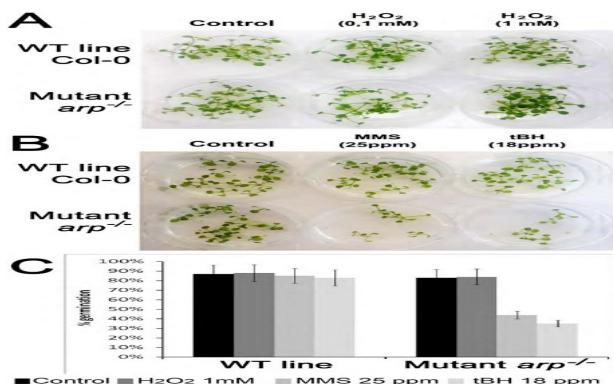


Рисунок 3 – Характеристика АП- и NIR активности в бесклеточных экстрактах из WT, *arp*<sup>-/-</sup>, *ape1L*<sup>-/-</sup> и *ape2*<sup>-/-</sup> мутантных растений *A. thaliana*

Как видно из рисунка 3, бесклеточные экстракты WT, *arp*<sup>-/-</sup>, *ape1L*<sup>-/-</sup> и *ape2*<sup>-/-</sup> мутантных растений проявили АП-эндонуклеазную активность на 5'-(<sup>32</sup>P)-меченном 30 мерном THF•T дуплексе (Дорожки 4-7). Интересно отметить, что экстракты из *arp*<sup>-/-</sup> и *ape2*<sup>-/-</sup> мутантных растений показали низкую и высокую АП-эндонуклеазную активность (дорожки 5 и 7), соответственно, по сравнению с экстрактами из WT и *ape1L*<sup>-/-</sup> растений (дорожки 4 и 6). Кроме этого, экстракты из *arp*<sup>-/-</sup> мутантных растений не показали активность на adA•T дуплексе (дорожка 12), по сравнению с другими экстрактами (дорожки 11, 13-14). Необходимо отметить, что *ape2*<sup>-/-</sup> экстракт проявлял значительный уровень АП-эндонуклеазной и NIR активности по сравнению с экстрактами из WT растений (дорожки 7 и 14), что указывает на возможную компенсационную сверх экспрессию ARP в *ape2*<sup>-/-</sup> мутантных растениях. В последующих экспериментах решили использовать гомозиготный мутант *A. thaliana* *arp*<sup>-/-</sup> для изучения роли ARP в обеспечении устойчивости растений к ДНК-повреждающим агентам.

Семена из WT и агр -/- растений высевали в агаризованную МС среду, содержащую ДНК-повреждающие агенты. Как показано на рисунке 4А и 4С, когда семена выращивали в среде содержащей  $\text{H}_2\text{O}_2$ , не наблюдалось существенная

разница в скоростях прорастания между растениями дикого типа и *arp<sup>-/-</sup>* растениями. Однако прорастание *arp<sup>-/-</sup>* растений было гораздо более чувствительным к MMS и t-BuO<sub>2</sub>H по сравнению с растениями дикого типа (Рисунок 4В и 4С). Эти результаты свидетельствуют о том, что дефицит ARP значительно повышает чувствительность растений *A. thaliana* к повреждениям ДНК, генерируемым MMS и t-BuO<sub>2</sub>H, но не к тем, которые генерируются H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

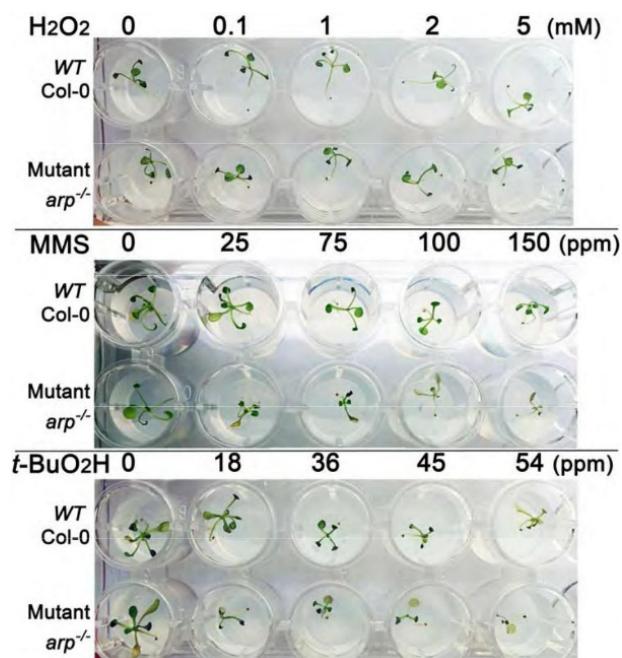


Агаризованные среды MS содержали разные концентрации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (A), MMS и t-BuO<sub>2</sub>H (B).

Эффективность прорастания семян на 17 день (C)

**Рисунок 4 – Чувствительность гомозиготного *arp<sup>-/-</sup>* мутантного растения *A. thaliana* к действию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MMS и t-BuO<sub>2</sub>H**

Для изучения чувствительности мутантных растений к повреждению ДНК в ходе прорастания семян, мы инкубировали 6-дневные проростки дикого и *arp<sup>-/-</sup>* мутантного растения в среде, содержащей различные концентрации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MMS и t-BuO<sub>2</sub>H. Через 5-6 дней в среде с возрастающей концентрацией H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> не наблюдалось существенная разница в чувствительности к повреждению ДНК, вызванному H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, между растениями дикого типа и мутантом (Рисунок 5), хотя оба показали умеренное ингибирование роста при максимальной дозе H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5 мМ).



**Рисунок 5 – Чувствительность гомозиготного *arp<sup>-/-</sup>* мутантного растения *A. thaliana* к действию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MMS и t-BuO<sub>2</sub>H**

С другой стороны, растения дикого типа и *arp<sup>-/-</sup>* растения проявили дифференциальную чувствительность к MMS и t-BuO<sub>2</sub>H, при этом мутантные растения накаутические по АП-эндонуклеазе были значительно более чувствительными, чем растения дикого типа в указанном диапазоне концентрации ДНК-повреждающих агентов: 25-150 ppm для MMS и 18-54 ppm для t-BuO<sub>2</sub>H (Рисунок 5).

## Заключение

В данной работе мы исследовали роль ARP в обеспечении устойчивости растений к действию генотоксических агентов. Мы показали, что гомозиготный *arp<sup>-/-</sup>* мутант более чувстви-

телен к воздействию MMS и t-BuO<sub>2</sub>H, но не к H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, по сравнению с растениями дикого типа, что указывает на то, что ARP-катализируемая NIR активность требуется для reparации AP-сайтов, генерируемых экзогенными факторами и специфическими окисидативными повреждениями ДНК, индуцированными t-BuO<sub>2</sub>H в условиях *in vivo*. В этом отношении ARP напоминает бактериальную AP-эндонуклеазу Nfo, делеция которой также придает дифференциальную чувствительность мутантным по гену Nfo *E. coli* к ДНК-повреждающим агентам (Ishchenko A.A., 2006: 2564-69). Мы можем предположить, что ARP может индуцироваться в ответ на повреждение ДНК, вызванное экзогенными факторами. Так как NIR-дефицитные клетки чувствительны к воздействию t-BuO<sub>2</sub>H, но не к H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, можно предположить, что органический гидропероксид индуцирует специфические типы повреждения ДНК, которые удаляются по NIR механизму. При восстановлении t-BuO<sub>2</sub>H переходными металлами образуются алcoxильные радикалы (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CO•, которые, в свою очередь, инициируют перекисное окисление липидов (LPO). Интересно, что в отличие от H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, t-BuO<sub>2</sub>H продуктирует одноцепочечные разрывы ДНК в интактных клетках, но не в лизированных клетках, что указывает на то, что реакция с мембранными липидами участвует в формировании разрыва цепи ДНК. Действительно, высвобождение малонового диальдегида, продукта LPO, было обнаружено в клетках, инкубированных с t-BuO<sub>2</sub>H, но не с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Baker M.A., 1991: 563-72). Реактивные альдегиды, образуемые из LPO, генерируют множество высокотоксичных экзоциклических аддуктов ДНК (Gros L., 2003: 219-29). Кроме того, распад t-BuO<sub>2</sub>H приводит к образованию трет-бутоксильных и углеродсодержащих метильных радикалов. Последний радикал может атаковать

ДНК и продуцировать 8-метилгуанин (8meG) (Hix S., 1995:293-301). Остатки 8meG могут быть обнаружены *in vivo* в ДНК, выделенной из печени и желудка крыс, обработанных t-BuO<sub>2</sub>H (Hix S., 2000: Р. 1056-4). *E.coli* 3-метиладенин ДНК-гликозилаза AlkA вырезает 8meG из дуплексной ДНК с высокой эффективностью из пар с аденином или тимином, но делает это очень плохо, когда 8meG находится в естественном контексте против цитозина (Gasparutto D., 2002: 437-47). В клетках млекопитающих обнаружена активность 8meG-ДНК гликозилазы, что свидетельствует о существовании альтернативных путей восстановления t-BuO<sub>2</sub>H индуцированных поражений ДНК. Исходя из этих наблюдений, мы выдвигаем гипотезу о том, что повреждения ДНК, образующиеся органическим пероксидом в растениях, являются субстратами для ARP-катализируемого NIR-пути.

Ранее было показано, что AP-эндонуклеаза инициированный NIR механизм работает совместно с BER механизмом в reparации геномной ДНК от потенциально мутагенных и летальных повреждений (Ishchenko A.A., 2006: 2564-69). В настоящем исследовании мы показали, что NIR функция сохраняется у двудольных растений, которые содержат гены кодирующие гомологи ARP белка. Биохимические и генетические данные показывают, что NIR механизм является универсальным и сохраняется у всех эукариот, включая дрожжи, нематоды, млекопитающие и цветковые растения. В заключение мы предполагаем, что катализируемый AP-эндонуклеазой NIR-механизм играет существенную роль в поддержании целостности генома, несмотря на наличие множества универсальных ДНК гликозилаз, которые способны устраниć широкий спектр поврежденных оснований ДНК.

## Литература

- 1 Cadet J., Douki T., Gasparutto D., Ravanat J.L. Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features // Mutat. Res. – 2003. – Vol. 531. – P. 5-23.
- 2 Krokan H.E., Bjoras M. Base excision repair // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. – 2013. – Vol. 5. – P. a012583.
- 3 Ischenko A.A., Saparbaev M.K. Alternative nucleotide incision repair pathway for oxidative DNA damage // Nature. – 2002. – Vol. 415. – P. 183-187.
- 4 Hitomi K., Iwai S., Tainer J.A. The intricate structural chemistry of base excision repair machinery: implications for DNA damage recognition, removal, and repair // DNA Repair (Amst). – 2007. – Vol. 6. – P. 410-428.
- 5 Gros L., Ishchenko A.A., Ide H., Elder R.H., Saparbaev M.K. The major human AP endonuclease (Ape1) is involved in the nucleotide incision repair pathway // Nucleic Acids Res. – 2004. – Vol. 32. – P. 73-81.
- 6 Friedberg E.C., Walker G.C., Siede W., Wood R.D., Schultz R.A., Ellenberger T. DNA repair and mutagenesis // ASM Press. – 2006.

- 7 Vanyushin B.F., Ashapkin V.V. DNA methylation in higher plants: past, present and future // Biochim Biophys Acta. – 2011. – Vol. 1809. – P. 360-368.
- 8 He X.J., Chen T., Zhu J.K. Regulation and function of DNA methylation in plants and animals // Cell Res. – 2011. – Vol. 21. – P. 442-465.
- 9 Zhu J.K. Active DNA demethylation mediated by DNA glycosylases // Annu. Rev. Genet. – 2009. – Vol. 43. – P. 143-166.
- 10 Morales-Ruiz T., Ortega-Galisteo A.P., Ponferrada-Marin M.I., Martinez-Macias M.I., Ariza R.R., Roldan-Arjona T. Deme-ter and repressor of silencing 1 encode 5-methylcytosine DNA glycosylases // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2006. – Vol. 103. – P. 6853-6858.
- 11 Babiyuk E., Kushnir S., Van Montagu M., Inze D. The *Arabidopsis thaliana* apurinic endonuclease Arp reduces human transcription factors Fos and Jun // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 1994. – Vol. 91. – P. 3299-3303.
- 12 Cordoba-Canero D., Roldan-Arjona T., Ariza R.R. Arabidopsis ARP endonuclease functions in a branched base excision DNA repair pathway completed by LIG1 // Plant J. – 2011. – Vol. 68. – P. 693-702.
- 13 Joldybayeva B., Prorok P., Grin I.R., Zharkov D.O., Ishchenko A.A., Tudek B., Bissenbaev A.K., Saparbaev M. Cloning and Characterization of a Wheat Homologue of Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease Ape1L // PLoS One. – 2014. – Vol. 9. – P. e92963.
- 14 Bissenbaev A.K., Ishchenko A.A., Taipakova S.M., Saparbaev M.K. Presence of base excision repair enzymes in the wheat aleurone and their activation in cells undergoing programmed cell death // Plant Physiol. Biochem. – 2011. – Vol. 49. – P. 1155-1164.
- 15 Ishchenko A.A., Deprez E., Maksimenko A., Brochon J.C., Tauc P., Saparbaev M.K. Uncoupling of the base excision and nucleotide incision repair pathways reveals their respective biological roles // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2006. – Vol. 103. P. 2564-2569.
- 16 Baker M.A., He S.Q. Elaboration of cellular DNA breaks by hydroperoxides // Free Radic Biol Med. – 1991. – Vol. 11. – P. 563-572.
- 17 Gros L., Ishchenko A.A., Saparbaev M. Enzymology of repair of etheno-adducts // Mutat. Res. – 2003. – Vol. 531. – P. 219-229.
- 18 Hix S., Morais Mda S., Augusto O. DNA methylation by tert-butyl hydroperoxide-iron (II) // Free Radic Biol Med. – 1995. – Vol. 19. – P. 293-301.
- 19 Hix S., Kadiiska M.B., Mason R.P., Augusto O. In vivo metabolism of tert-butyl hydroperoxide to methyl radicals. EPR spin trapping and DNA methylation studies // Chem Res Toxicol. – 2000. – Vol. 13. – P. 1056-1054.
- 20 Gasparutto D., Dherin C., Boiteux S., Cadet J. Excision of 8-methylguanine site-specifically incorporated into oligonucleotide substrates by the AlkA protein of *Escherichia coli* // DNA Repair (Amst). – 2002. – Vol. 1. P. 437-447.
- 21 Bradford M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248-254.
- 22 Murphy T.M., Belmonte M., Shu S., Britt A.B., Hatteroth J. Requirement for abasic endonuclease gene homologues in *Arabidopsis* seed development // PLoS One. – 2009. – Vol. 4. – P. e4297.
- 23 Foyer C.H., Noctor G. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria // Physiol. Plant. – 2003. – Vol. 119. – P. 355-364.
- 24 Jaruga P., Dizdaroglu M. 8,5'-Cyclopurine-2'-deoxynucleosides in DNA: mechanisms of formation, measurement, repair and biological effects // DNA Repair (Amst). – 2008. – Vol. 7. – P. 1413-1425.
- 25 Brooks P.J. The 8,5'-cyclopurine-2'-deoxynucleosides: candidate neurodegenerative DNA lesions in xeroderma pigmentosum, and unique probes of transcription and nucleotide excision repair // DNA Repair (Amst). – 2008. – Vol. 7. – P. 1168-1179.

## References

- 1 Babiyuk E., Kushnir S., Van Montagu M., Inze D. (1994) The *Arabidopsis thaliana* apurinic endonuclease Arp reduces human transcription factors Fos and Jun. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., vol. 91, pp. 3299-303.
- 2 Baker M.A., He S.Q. (1991) Elaboration of cellular DNA breaks by hydroperoxides. Free Radic Biol Med., vol. 11, pp. 563-72.
- 3 Bissenbaev A.K., Ishchenko A.A., Taipakova S.M., Saparbaev M.K. (2011) Presence of base excision repair enzymes in the wheat aleurone and their activation in cells undergoing programmed cell death. Plant Physiol. Biochem., vol. 49, pp. 1155-64.
- 4 Bradford M. M. (1976) A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anal. Biochem., vol. 72, pp. 248-54.
- 5 Brooks P.J. (2008) The 8,5'-cyclopurine-2'-deoxynucleosides: candidate neurodegenerative DNA lesions in xeroderma pigmentosum, and unique probes of transcription and nucleotide excision repair. DNA Repair (Amst), vol. 7, pp. 1168-79.
- 6 Cadet J., Douki T., Gasparutto D., Ravanat J.L. (2003) Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. Mutat. Res., vol. 531, pp. 5-23.
- 7 Cordoba-Canero D., Roldan-Arjona T., Ariza R.R. (2011) Arabidopsis ARP endonuclease functions in a branched base excision DNA repair pathway completed by LIG1. Plant J., vol. 68, pp. 693-702.
- 8 Foyer C.H., Noctor G. (2003) Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. Physiol. Plant, vol. 119, pp. 355-64.
- 9 Friedberg E.C., Walker G.C., Siede W., Wood R.D., Schultz R.A., Ellenberger T. (2006) DNA repair and mutagenesis. ASM Press.
- 10 Gasparutto D., Dherin C., Boiteux S., Cadet J. (2002) Excision of 8-methylguanine site-specifically incorporated into oligonucleotide substrates by the AlkA protein of *Escherichia coli*. DNA Repair (Amst), vol. 1, pp. 437-47.

- 11 Gros L., Ishchenko A.A., Ide H., Elder R.H., Saparbaev M.K. (2004) The major human AP endonuclease (Ape1) is involved in the nucleotide incision repair pathway. *Nucleic Acids Res.*, vol. 32, pp. 73-81.
- 12 Gros L., Ishchenko A.A., Saparbaev M. (2003) Enzymology of repair of etheno-adducts. *Mutat. Res.* vol. 531, pp. 219-29.
- 13 He X.J., Chen T., Zhu J.K. (2011) Regulation and function of DNA methylation in plants and animals. *Cell Res.*, vol. 21, pp. 442-65.
- 14 Hitomi K., Iwai S., Tainer J.A. (2007) The intricate structural chemistry of base excision repair machinery: implications for DNA damage recognition, removal, and repair. *DNA Repair (Amst)*, vol. 6, pp. 410-28.
- 15 Hix S., Kadiiska M.B., Mason R.P., Augusto O. (2000) In vivo metabolism of tert-butyl hydroperoxide to methyl radicals. EPR spin trapping and DNA methylation studies. *Chem Res Toxicol.*, vol. 13, pp. 1056-54.
- 16 Hix S., Morais Mda S., Augusto O. (1995) DNA methylation by tert-butyl hydroperoxide-iron (II). *Free Radic Biol Med.* vol. 19, pp. 293-301.
- 17 Ischenko A.A., Saparbaev M.K. (2002) Alternative nucleotide incision repair pathway for oxidative DNA damage. *Nature*, vol. 415, pp. 183-87.
- 18 Ishchenko A.A., Deprez E., Maksimenko A., Brochon J.C., Tauc P., Saparbaev M.K. (2006) Uncoupling of the base excision and nucleotide incision repair pathways reveals their respective biological roles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 103, pp. 2564-69.
- 19 Jaruga P., Dizdaroglu M. (2008) 8,5'-Cyclopurine-2'-deoxynucleosides in DNA: mechanisms of formation, measurement, repair and biological effects. *DNA Repair (Amst)*, vol. 7, pp. 1413-25.
- 20 Joldybayeva B., Prorok P., Grin I.R., Zharkov D.O., Ishenko A.A., Tudek B., Bissenbaev A.K., Saparbaev M. (2014) Cloning and Characterization of a Wheat Homologue of Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease Ape1L. *PLoS One*, vol. 9, pp. e92963.
- 21 Krokan H.E., Bjoras M. (2013) Base excision repair. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 5, pp. a012583.
- 22 Morales-Ruiz T., Ortega-Galisteo A.P., Ponferrada-Marin M.I., Martinez-Macias M.I., Ariza R.R., Roldan-Arjona T. (2006) Demeter and repressor of silencing 1 encode 5-methylcytosine DNA glycosylases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 103, pp. 6853-58.
- 23 Murphy T.M., Belmonte M., Shu S., Britt A.B., Hatteroth J. (2009) Requirement for abasic endonuclease gene homologues in *Arabidopsis* seed development. *PLoS One*, vol. 4, pp. e4297.
- 24 Vanyushin B.F., Ashapkin V.V. (2011) DNA methylation in higher plants: past, present and future. *Biochim Biophys Acta*, vol. 1809, pp. 360-68.
- 25 Zhu J.K. (2009) Active DNA demethylation mediated by DNA glycosylases. *Annu. Rev. Genet.*, vol. 43, pp. 143-66.



5-бөлім

**АДАМ ЖӘНЕ ЖАНУАРЛАР**

**ФИЗИОЛОГИЯСЫ МЕН БИОХИМИЯСЫ**

---

Раздел 5

**ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ**

**ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

---

Section 5

**HUMAN AND ANIMAL**

**PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY**

МРНТИ 31.27.25; 69.51.03

**Оразова С.Б.<sup>1</sup>, Шарапова Л.И.<sup>2</sup>, Кайрат Б.К.<sup>3</sup>,  
Сержанова С.С.<sup>4</sup>, Омирбекова Н.Ж.<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры биотехнологии,  
e-mail: Saltanat.Orazova@kaznu.kz

<sup>3</sup>магистр биологии, преподаватель кафедры биофизики и биомедицины,  
e-mail: Bakytzhan.Kairat@kaznu.kz

<sup>4</sup>студентка магистратуры кафедры молекулярной биологии и генетики

<sup>5</sup>доктор биологических наук, профессор кафедры молекулярной биологии и генетики  
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>кандидат биологических наук, зав. лабораторией гидробиологии и гидроаналитики  
Казахского НИИ рыбного хозяйства, Казахстан, г. Алматы

## **БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БИОМАССЫ РАЧКА *ARTHEMIA SP.* И ЕГО ЦИСТ ИЗ ПОПУЛЯЦИЙ НЕКОТОРЫХ СОЛЯНЫХ ОЗЕР ПАВЛОДАРСКОЙ ОБЛАСТИ**

В последние годы увеличился спрос на ценный биоресурс гипергалинных водоемов Казахстана – цисты и ракчи *Artemia sp.*, как незаменимом стартовом корме для большинства видов рыб, морских ракообразных, сельскохозяйственных животных. Биомасса артемии отличается высоким содержанием белка со значительным уровнем незаменимых аминокислот, гормонов, каротиноидов, витаминов, ценных жирных кислот. Артемия отличается исключительно быстрым ростом, ускоренным половым созреванием и высокой плодовитостью, что имеет большое значение для поддержания численности популяции. В силу этих причин артемия является ценным источником белка в кормопроизводстве. Ценность артемии, используемой в качестве корма, зависит от ее биохимического состава, на который влияют такие факторы окружающей среды, как температура, концентрация солей, содержание кислорода и др. В связи с этим разные популяции из различных природных источников отличаются по составу и имеют разную кормовую ценность.

В статье рассмотрен биохимический состав биомассы ракча и цист из популяций артемии *Artemia sp.*, отобранных из 12 соляных озер Павлодарской области Казахстана. Установлено, что исследованные объекты отличались высоким содержанием белка (в среднем 42,38 г%), свободных аминокислот (в среднем 114,34 мг%), липидов (в среднем 37,69 г%), при этом содержание общих жиров в цистах оказалось ниже, чем в ракчах в 4,7 раза; среднее значение массовой доли глюкозы в ракчах артемии исследованных популяций не превышал 2,5 г%; цисты содержали не более 1 г% общих углеводов; содержание гликогена в цистах и ракчах артемии оказалось примерно одинаковым. Имели место сезонные колебания в содержании сухого вещества, свободных аминокислот, общих липидов, общих углеводов и гликогена в ракчах изученных популяций.

**Ключевые слова:** артемия, *Artemia sp.*, белки, жиры, углеводы.

Orazova S.B.<sup>1</sup>, Sharapova L.I.<sup>2</sup>, Kairat B.K.<sup>3</sup>, Serzhanova S.S.<sup>4</sup>, Omirbekova N.Zh.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>candidate of biological sciences, senior lecturer of Biotechnology Department, e-mail: Saltanat.Orazova@kaznu.kz

<sup>3</sup>master of biology, lecturer of Biophysics and Biomedicine Department, e-mail: Bakytzhan.Kairat@kaznu.kz

<sup>4</sup>master-student of Department of Molecular biology and Genetics

<sup>5</sup>doctor of biological sciences, professor of Department of Molecular biology and Genetics

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>candidate of biological sciences, head of laboratory of hydrobiology and

hydro analytics of Kazakh Research Institute of Fishery, Kazakhstan, Almaty

### Biochemical analysis of biomass and cysts of brine shrimp *Artemia sp.* from some salt lakes of the Pavlodar area populations

In recent years increased the demand for valuable resources of hyperhaline water bodies of Kazakhstan – cysts and the brine shrimp *Artemia* sp. as an indispensable starter feed for most species of fish, marine crustaceans, farm animals. Brine shrimp biomass has high protein content with a significant level of essential amino acids, hormones, carotenoids, vitamins, valuable fatty acids. *Artemia* is characterized by extremely rapid growth, accelerated puberty and high fertility, which is important for maintaining the population. For these reasons, *Artemia* is a valuable source of protein in feed production. Value of brine shrimp used as feed depends on its biochemical composition, which is influenced by such environmental factors as temperature, salt concentration, oxygen content etc. In this regard, different populations from different natural sources vary in composition and have different feeding value.

The article considers the biochemical composition of the biomass and cysts of brine shrimp selected from 12 salt lakes of Pavlodar region of Kazakhstan. It is established that the investigated objects were characterized by high protein content (average of 42.38 %), free amino acids (average 114.34 mg%), lipids (average of 37.69 g%), while the content of total fats in the cysts was lower than in the crustaceans 4.7 times; the average value of the mass fraction of glucose in *Artemia* populations did not exceed 2.5 g%; the cysts contained more than 1 g% total carbohydrates; glycogen content in cysts and biomass were approximately equal. There were seasonal fluctuations in the content of dry matter, free amino acids, common lipids, common carbohydrates and glycogen in the biomass of the studied populations.

**Key words:** brine shrimp, *Artemia* sp., proteins, lipids, carbohydrates.

Оразова С.Б.<sup>1</sup>, Шарапова Л.И.<sup>2</sup>, Қайрат Б.К.<sup>3</sup>, Сержанова С.С.<sup>4</sup>, Омирбекова Н.Ж.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>биология ғылымдарының кандидаты, биотехнология кафедрасының аға оқытушысы,  
e-mail: Saltanat.Orazova@kaznu.kz

<sup>3</sup>биология магистрі, биофизика және биомедицина кафедрасының оқытушысы, e-mail: Bakytzhan.Kairat@kaznu.kz

<sup>4</sup>молекулалық биология және генетика кафедрасының магистратура студенті

<sup>5</sup>биология ғылымдарының докторы, молекулалық биология және генетика кафедрасының профессоры  
әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>биология ғылымдарының кандидаты, Қазақ балық шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты  
гидробиология және гидроаналитика зертханасының менгерушісі, Қазақстан, Алматы қ.

### Павлодар облысының кейбір түзді көлдеріндегі *Artemia* sp. популяциясы шаяндарының биомассасы мен цисталарының биохимиялық анализі

Соңғы жылдарды Қазақстанның гипергаллинді су қоймаларының құнды биоресурсы – *Artemia* sp. шаяны мен оның цисталарына деген сұраныс артты, себебі олар балықтардың көптеген түрлері мен теңіз шаянтарлары мен сонымен қатар ауыл шаруашылық жануарлары үшін таптырмайтын бастапқы жем санаады. Белоктардың жоғары мөлшері, сонымен қатар құрамында алмастырылмайтын амин қышқылдарының, гормондар мен каротиноидтардың, витаминдер мен құнды май қышқылдары деңгейінің айтарлықтай жоғары болуы артемия биомассасының басты ерекшелігі. Артемия жоғары есү жылдамдығымен, жыныстық жағынан ерте жетілуімен және жоғары есімталдығымен ерекшеленеді, бұл олардың популяциясындағы даралар санын қалыпты ұстаудың қолайлы әсерін тигізеді. Жоғарыда аталған қасиеттеріне байланысты артемия жем өндірісінде белоктың қайнар көзі санаады. Жем ретінде қолданылатын артемияның құндылығы оның биохимиялық құрамына тәуелді. Оны қалыптастыруға судың температурасы мен түзділік, оттегінің мөлшері және т.б. әсер етеді. Осыған байланысты түрлі табиги көздерден алынған артемия популяцияларының құрамы да әртүрлі, демек олардың азықтық құндылығы да өзара ерекшеленеді.

Мақалада Павлодар облысының 12 түзді көлінен алынған артемия *Artemia* sp. популяциясының шаяндары мен цисталарының биохимиялық құрамы көлтірілген. Зерттелген үлгілер белоктар (орташа есеппен, 42,38 %) мен бос аминқышқылдарының (орташа есеппен, 114,34 мг%), сондай-ақ липидтердің (орташа есеппен, 37,69 %) жоғары мөлшерімен ерекшеленеді, ескере кететін жайт, шаяндармен салыстырғанда олардың цисталарындағы жалпы липидтердің мөлшері 4,7 есе төмен; сонымен қатар артемия шаяндарындағы глюкозаның массалық үлесі

2,5 г%, ал цисталарындағы жалпы көмірсулардың мөлшері 1 г% деңгейінен аспайтындығы; гликогеннің мөлшері артемия шаяндары мен олардың цисталарында шамалас мәнде болатындығы анықталды. Зерттеуге алынған популяциялардағы шаяндар мен цисталардың құрамындағы құргақ заттардың, бос амин қышқылдарының, жалпы липидтердің, сонымен қатар жалпы көмірсулар мен гликогеннің мөлшерлерінде маусымдық өзгерістердің орын алатындығы белгілі болды.

**Түйін сөздер:** шаян, *Artemia sp.*, белоктар, майлар, көмірсулар.

## Введение

Спрос на качественные корма для аквакультуры увеличивается с каждым годом (Prasath E.B., 1994: 204). Как правило, предпочтение отдается живым кормам, т.к. они легко усваиваются и не влияют на качество воды (Munuswamy N., 1997: 199). К ним относятся три группы организмов: фитопланктон, а именно микроводоросли (размером 2-20 мкм), и зоопланктон – коловратки (50-200 мкм) и артемия *Artemia sp.* (200 – 300 мкм) (Annon S.E., 2000: 142). Артемия используется при культивировании более 85% всех морских видов (Velu C.S., 2003: 967). К преимуществам артемии как стартового корма можно отнести высокую питательную ценность, устойчивость к действию стресс-факторов окружающей среды (Ясючена Т.Л., 2004: 197). Возрастающий интерес к артемии обусловлен высоким содержанием белка, значительным уровнем незаменимых аминокислот, гормонов, каротиноидов, витаминов, ценных жирных кислот в цистах и рачках.

Известно, что при оценке кормовой ценности рачка особое значение имеют липиды, которые используются в качестве пластического и энергетического материала у культивируемых организмов. В цистах артемии содержится значительное количество липидов, однако их качественный состав неодинаков (Munuswamy N., 1997: 202).

Ценность артемии, используемой в качестве корма, зависит от ее биохимического состава, на который влияют такие факторы окружающей среды, как температура, концентрация солей, содержание кислорода и др. В связи с этим разные популяции из различных природных источников отличаются по составу и имеют разную кормовую ценность.

Целью исследования являлось проведение сравнительной оценки некоторых биохимических показателей рачков и цист популяций артемии *Artemia sp.*, отобранных из 12 соляных озер Павлодарской области. Результаты исследований позволяют эффективнее использовать биологические ресурсы ультрагалинных водоемов

Республики Казахстан при создании высококачественных кормов для аквакультуры. Кроме того, полученные данные могут использоваться в качестве хемотаксономических маркеров для видовой и популяционной классификации.

## Материалы и методы исследования

Объектом исследований служили рачки и цисты артемии *Artemia sp.*, отобранные из 12 озер Павлодарской области, собранные в летний период 2015 года. Для анализа использовались рачки, зафиксированные в 96% этаноле в соотношении 1:2, и цисты, высушенные по стандартной методике (Ясючена Т.Л., 2004: 197).

В качестве биохимических показателей использовались следующие параметры: содержание сухого вещества, золы, общего белка (без минерализации), свободных аминокислот, общих липидов, общих углеводов и гликогена. Сухое вещество определяли гравиметрическим методом после сушки при 105°C, золу при 500°C (Антипова Л.В., 2001: 162). Содержание белка определяли биуретовым методом без минерализации проб в щелочном экстракте. Оптическую плотность растворов измеряли при длине волны 546 нм. Расчет вели по калибровочному графику, в качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин (PAA Laboratories, Австрия). Количественное определение свободных аминокислот проводили на безбелковом экстракте нингидриновым методом (Manual of research methods for Crustacean biochemistry and physiology / ed. by M.H. Ravindranath, 1981: 36). Количественное определение глюкозы проводили в вытяжке по методу Бертрана (Практикум по биохимии /Под ред. С.Е. Северина и др., 1989: 206). При определении содержания гликогена использовали антруновый реагент. Оптическую плотность растворов измеряли при длине волны 620 нм. Расчет вели по калибровочному графику, в качестве стандарта использовали глюкозу. Найденное количество глюкозы умножали на коэффициент 0,9, т.к. молекулярный вес глюкозного остатка в гликогене равен 162, а молекулярный вес глюкозы – 180. Массовую долю липидов

определяли экстракционно-весовым методом, используя бинарную смесь: хлороформ-этанол (2:1) (ГОСТ 7686-35, 1985).

### **Результаты исследования и их обсуждение**

*Содержание органического вещества в раках артемии из различных популяций.* Вода вместе с растворенными в ней органическими и минеральными веществами составляют среду, в которой осуществляются биохимические процессы, обеспечивающие жизнедеятельность организма. Являясь универсальным растворителем для многих соединений и транспортируя их, вода обеспечивает связь всех органов и систем. Значительная ее часть связана, главным образом, с белками, обеспечивая поддержание структуры молекул белков и их устойчивость в коллоидном растворе. Кроме того, вода связана с волокнистыми образованиями межклеточного пространства и с клеточными мембранами, свободная вода входит в состав биологических жидкостей.

Таким образом, определение массовой доли влаги, содержание органического вещества яв-

ляются важными биохимическими показателями при сравнительной оценке особей из различных популяций артемии.

В таблице 2 представлены результаты определения массовой доли влаги, сухих, зольных и органических веществ в раках артемии из различных популяций.

Отмечены сезонные колебания анализированных показателей для раков артемии из различных популяций Павлодарской области. К примеру, повысилась доля сухих веществ, так данное значение для раков артемии из популяции озера Аштыкыр возросло с 18,79 до 36,44 %. Аналогичная тенденция наблюдалась и в изменении массовой доли зольных веществ, в среднем с 31,57 до 36,27 %.

Таким образом, установлено, что пробы артемии из Павлодарской области оказались богаче проб из Большого Аральского моря органическими и минеральными веществами, массовая доля сухих веществ составила для первых 21,92 %, а для вторых 19,22 %. Колебания исследованных показателей можно отнести за счет индивидуальных изменений, а также разницы в условиях обитания.

**Таблица 1 – Влияние сезонных колебаний на массовую долю влаги, сухих, зольных и органических веществ в раках артемии из различных популяций**

| № пробы         | Массовая доля влаги, % |        | Массовая доля сухих веществ, % |        | Массовая доля зольных веществ, % |        | Массовая доля органических веществ, % |        |
|-----------------|------------------------|--------|--------------------------------|--------|----------------------------------|--------|---------------------------------------|--------|
|                 | июнь                   | август | июнь                           | август | июнь                             | август | июнь                                  | август |
| озеро Калатуз   | 79,95                  | 68,66  | 20,05                          | 31,34  | 7,20                             | 19,83  | 12,85                                 | 11,51  |
| озеро Казы      | 74,04                  | 70,60  | 25,96                          | 29,40  | 15,89                            | 17,12  | 10,07                                 | 12,28  |
| озеро Жамантуз  | 71,54                  | 67,38  | 28,46                          | 32,62  | 14,06                            | 21,88  | 14,41                                 | 10,74  |
| озеро Борлы     | 76,95                  | 67,04  | 23,05                          | 32,96  | 8,91                             | 12,83  | 14,14                                 | 20,13  |
| озеро Шарбакты  | 82,28                  | 70,74  | 17,72                          | 29,26  | 8,19                             | 12,45  | 9,53                                  | 16,81  |
| озеро Теренколь | 80,21                  | 69,78  | 19,79                          | 30,22  | 9,71                             | 17,83  | 10,08                                 | 12,40  |
| озеро Айдарша   | 73,49                  | 76,94  | 26,51                          | 23,06  | 16,26                            | 15,67  | 10,25                                 | 7,39   |
| озеро Сейтен    | 80,43                  | 73,11  | 19,57                          | 26,89  | 6,78                             | 10,23  | 12,78                                 | 16,66  |
| озеро Маралды   | 81,42                  | 66,14  | 18,58                          | 33,86  | 7,51                             | 16,24  | 11,07                                 | 17,62  |
| озеро Бура      | 79,45                  | 69,79  | 20,55                          | 30,21  | 7,70                             | 21,64  | 12,85                                 | 8,57   |
| озеро Аштыкыр   | 81,21                  | 63,56  | 18,79                          | 36,44  | 7,08                             | 15,92  | 11,71                                 | 20,52  |
| озеро Моилды    | 75,99                  | 64,98  | 24,01                          | 35,02  | 9,81                             | 30,47  | 14,21                                 | 4,55   |

*Характеристика биохимического состава рачков и цист артемии из различных популяций.* Ценность артемии, используемой в качестве корма для рыб, крабов и креветок, выращиваемых в искусственных условиях аква- и марикультуры, зависит от ее химического состава. В таблице 3 представлены результаты исследования массовой доли белка в рачках и цистах артемии из различных популяций, рассчитанной на 100 г сухого веса.

Сравнительная оценка среднего содержания белка в 100 г сухой массы рачка 12 попу-

ляций из Павлодарской области показал, что наиболее богаты протеинами оказались образцы из 4 популяций Шарбактинского района (пробы №8-11, 50,38 г%), наименьшим содержанием отличалась проба Павлодарского района (проба №12, 29,77±0,6 г%). Рачки популяций Лебяжинского района содержали 39,62 г% белка. Среднее содержание белка в цистах 12 популяций рачка из различных озер Павлодарской области равнялось 42,59 г/100 г сухой массы цист.

**Таблица 2** – Массовая доля белка в рачках и цистах артемии из различных популяций в 100 г сухого веса

| № пробы         | Концентрация белка в 100 г сухой биомассы, г% |            |            |
|-----------------|---|------------|------------|
|                 | рачки   |            | цисты      |
|                 | июнь  | август     | июнь       |
| озеро Калатуз   | 48,52±0,96                                    | 50,70±0,55 | 35,13±0,18 |
| озеро Казы      | 13,72±0,45                                    | 35,72±0,73 | 50,06±0,46 |
| озеро Жамантуз  | 48,00±0,27                                    | 30,88±0,67 | 40,74±0,18 |
| озеро Борлы     | 37,31±0,06                                    | 42,55±0,24 | 53,77±1,37 |
| озеро Шарбакты  | 81,60±0,31                                    | 51,17±0,91 | 26,80±0,36 |
| озеро Теренколь | 39,62±0,17                                    | 41,69±0,55 | 40,84±0,92 |
| озеро Айдарша   | 8,55±0,16                                     | 23,60±0,06 | 63,08±1,00 |
| озеро Сейитен   | 57,95±0,2                                     | 67,09±1,97 | 58,38±0,96 |
| озеро Маралды   | 38,20±0,55                                    | 58,81±0,67 | 37,03±0,09 |
| озеро Бура      | 44,88±0,16                                    | 21,61±0,18 | 43,56±0,09 |
| озеро Аштыкакыр | 60,49±0,08                                    | 30,61±0,67 | 25,63±0,99 |
| озеро Моилды    | 29,77±0,6                                     | 27,30±0,24 | 36,00±0,36 |
| озеро Калатуз   | 16,98±0,54                                    | -          | -          |
| озеро Казы      | 14,79±0,42                                    | -          | -          |

Установлено, что в рачках из популяций Большого Аральского моря (заливы Чернышева и Тузыбас) концентрация белка колебалась в пределах 2,8 и 3,3 г/100 г сырой массы, в то время как данные по 12 популяциям рачка из различных озер Павлодарской области варьировал в интервале от 2,27 до 14,46 г/100 г сырой массы. Отмечено влияние сезонных колебаний на содержание белков в рачках популяций Павлодарской области. В начале лета концентра-

ция белков колебалась от 2,27 до 14,46 г/100 г сырой массы, то к концу уже составляла 5,44-26,11 г/100 г сырой массы. Среднее содержание белка в цистах 12 популяций артемии из различных озер Павлодарской области равнялось 34,09 г/100 г сухо-воздушной массы цист (рисунок 1).

Данные по содержанию свободных аминокислот в цистах и рачках различных популяций артемии представлены в таблице 4.

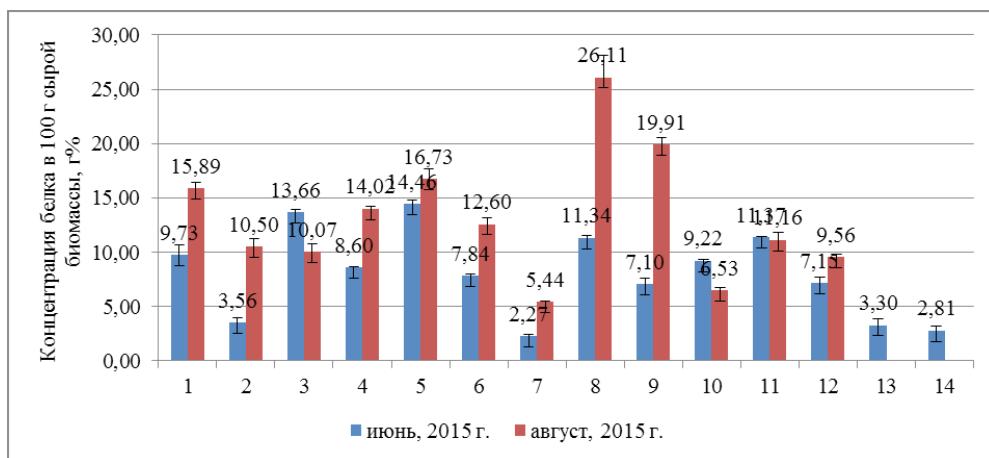


Рисунок 1 – Сезонная динамика содержания белка в раках артемии из различных популяций в расчете на 100 г сырой биомассы

Таблица 4 – Содержание свободных аминокислот в раках и цистах артемии из различных популяций в 100 г сухого веса

| № пробы         | Количество свободных аминокислот на 100 г сухого веса, мг |                 |               |
|-----------------|---|-----------------|---------------|
|                 | ракки   |                 | цисты         |
|                 | июнь, 2015 г.   | август, 2015 г. | июнь, 2015 г. |
| озеро Калатуз   | 103,08±1,45   | 197,98±1,26     | 149,01±1,36   |
| озеро Казы      | 33,38±1,22  | 158,86±1,7      | 104,13±0,97   |
| озеро Жамантуз  | 135,86±1,3  | 47,03±0,21      | 186,07±1,21   |
| озеро Борлы     | 75,20±0,73  | 24,31±0,19      | 50,72±0,32    |
| озеро Шарбакты  | 285,93±1,91   | 44,86±0,14      | 65,49±0,41    |
| озеро Теренколь | 72,43±3,32  | 165,55±1,28     | 23,10±0,09    |
| озеро Айдарша   | 51,55±1,46  | 227,67±1,96     | 74,77±0,44    |
| озеро Сейтен    | 226,54±3,37   | 123,61±0,34     | 95,53±0,73    |
| озеро Маралды   | 130,97±1,22   | 202,87±1,26     | 49,50±0,29    |
| озеро Бура      | 85,97±0,73  | 47,40±0,17      | 115,71±1,11   |
| озеро Аштыакыр  | 97,57±1,18  | 241,84±1,41     | 39,48±0,28    |
| озеро Моилды    | 73,58±0,21  | 16,55±0,9       | 39,49±0,13    |
| озеро Калатуз   | 70,34±0,78  | -               | -             |
| озеро Казы      | 115,73±1,02   | -               | -             |

Для некоторых популяций также можно отметить влияние сезона на количество свободных аминокислот, так, для популяции артемии с озера Калатуз исследованное значение возросло с 103,08±1,45 до 197,98±1,26 мг/100 г сухой массы. Среднее содержание свободных аминокислот в цистах 12 популяций ракка из различных озер

Павлодарской области равнялось 68,06 мг/100 г сухих цист.

Таким образом, ракки и цисты артемии из различных популяций Павлодарской области отличались высоким содержанием белка (в среднем 42,38 г%) и свободных аминокислот (в среднем 114,34 мг%).

Rasawo и Radull (1986: 126) в своих исследованиях также пришли к заключению, что *Artemia* является богатым белковым источником (40%), причем его аминокислотный состав обуславливает пищевую ценность рачка. Ряд авторов исследовали содержание свободных аминокислот в зависимости от стадии развития рачка, отмечая стабильное повышение их концентрации в результате автолитического протеолиза (Vasudevan S., 2012: 10; Gulbrandsen J., 2009: 112).

Известно, что при оценке кормовой ценности рачка особое значение имеют липиды, ко-

торые используются в качестве пластического и энергетического материала у культивируемых организмов. Различные источники описывают первостепенное значение липидов для текущих метаболических процессов в качестве энергетического резерва, играющих важную роль в биохимических реакциях при выходе организма из состояния гидробиоза (Womersley C., 1981: 671).

На рисунках 2 и 3 представлены результаты определения содержания общих липидов в рачках и цистах артемии из популяций Павлодарской области.

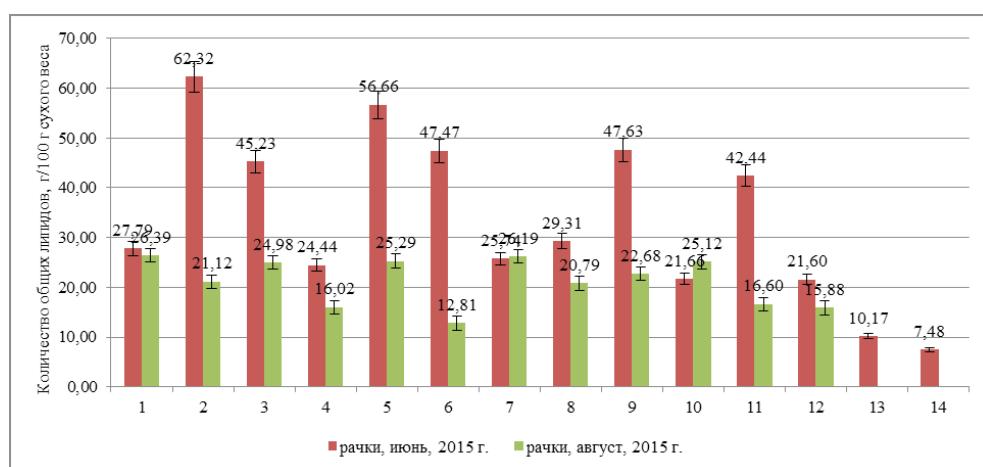


Рисунок 2 – Содержание общих липидов в рачках артемии из различных популяций

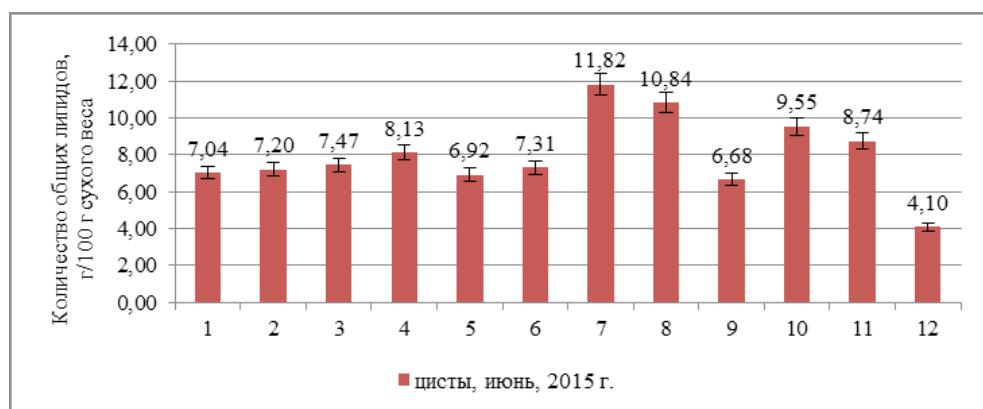


Рисунок 3 – Содержание общих липидов в цистах артемии из различных популяций

Из рисунка 2 видно, что высокое содержание общих липидов в рачках характерно для 7 популяций Лебяжинского района (пробы №1-7, среднее 41,38 г%), наименьшим содержанием отличалась проба Павлодарского района (проба №12,  $21,69 \pm 0,13$  г%). Рачки популяций Шарбактинского района содержали 35,26 г% общих

жиров. Среднее содержание общих липидов в цистах 12 популяций артемии из различных озер Павлодарской области равнялось 7,98 г/100 г сухой массы цист. Отмечено влияние сезонных колебаний на содержании липидов в рачках анализированных популяций Павлодарской области, так, в июне концентрация общих

липидов колебалась от  $21,60 \pm 0,12$  (популяция оз. Моилды) до  $62,32$  г/100 г сухой массы (оз. Казы), при этом среднее значение равнялось  $37,69$  г/100 г сухой массы, к концу августа уже составляла  $15,88 \pm 0,09 - 21,12 \pm 0,14$  г/100 г сухой массы. Среднее содержание жиров в цистах 12 популяций артемии из различных озер Павлодарской области равнялось 7,98 г/100 г сухих цист.

Таким образом, ракки 12 популяций соляных озер Павлодарской области отличались высоким содержанием липидов, в среднем значение составило 37,69 %. Среднее содержание общих жиров в цистах павлодарских популяций оказалось ниже, чем в раках в 4,7 раза.

Углеводы используются как первичный источник энергии для метаболических реакций

при выклеве рачка (Whyte J.N.C., 1989: 335).

На рисунках 4 и 5 представлены данные с массовой долей глюкозы в раках и цистах артемии из различных популяций соляных озер Павлодарской области.

Среднее значение массовой доли глюкозы в раках артемии двух заливов Большого Аральского моря равнялось 2,30 г/100 г сухой массы, данный показатель для популяций из различных озер Павлодарской области составил 2,06 г/100 г сырой массы. С течением времени концентрация глюкозы в исследованных пробах Павлодарской области снизилась в среднем до 0,66 г/100 г сухой массы. Среднее содержание глюкозы в цистах 12 популяций рачка из различных озер Павлодарской области равнялось 6,50 г/100 г сухого веса.

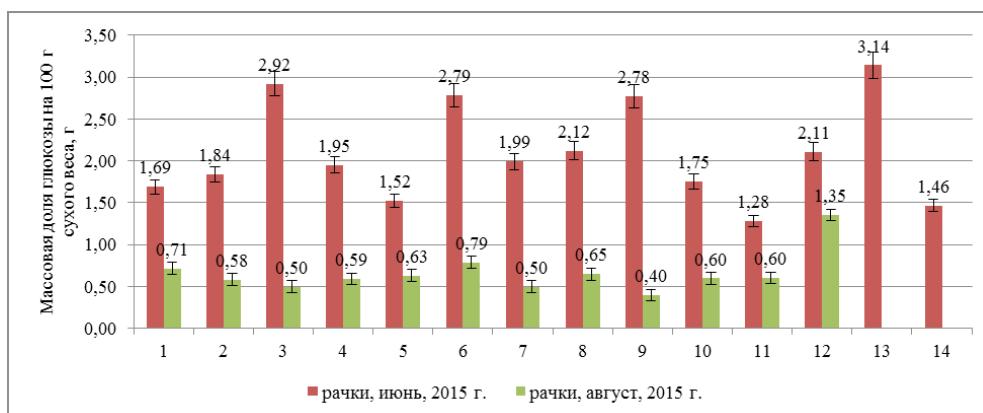


Рисунок 4 – Содержание общих углеводов в раках артемии из различных популяций

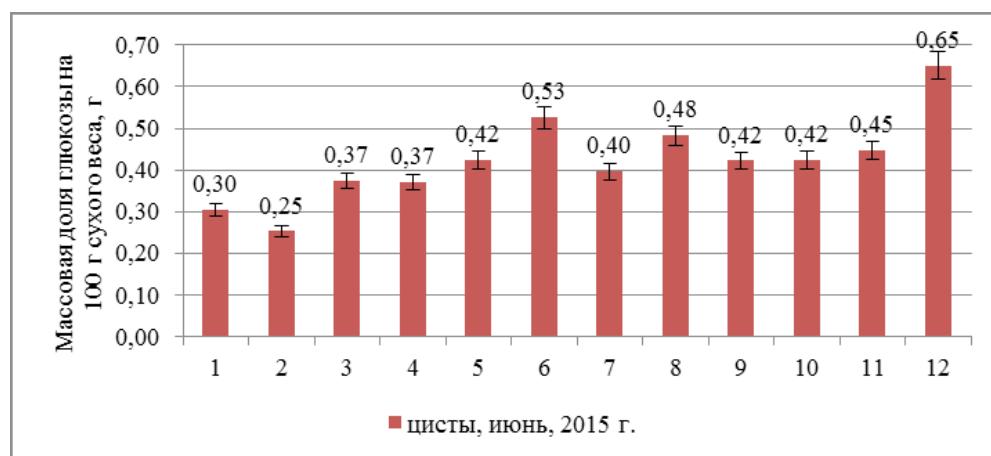


Рисунок 5 – Содержание общих углеводов в цистах артемии из различных популяций

Результаты определения гликогена в раках артемии из различных популяций представлены в таблице 5. Сравнительная оценка среднего содержания гликогена в 100 г сухой массы ракка 12 популяций из Павлодарской области показал, что наиболее богаты полисахаридом оказались образцы из 7 популяций Лебяжинского района (пробы №1-7, 18,33 мг%), пробы Шарбактинского и Павлодарского района содержали примерно

одинаковое количество, 17,39 и 16,24 мг%, соответственно. Ракки морских популяций содержали в среднем 22,85 мг% гликогена. Среднее содержание данного полисахарида в цистах 12 популяций ракка из различных озер Павлодарской области равнялось 16,71 мг/100 г сухой массы цист. С течением времени концентрация гликогена в раках павлодарских популяций снижалась в среднем в 2,4 раза.

**Таблица 5** – Количество гликогена (мг%) в раках и цистах артемии из различных популяций

| № пробы         | Содержание гликогена на 100 г сухого веса, мг |                 |               |
|-----------------|---|-----------------|---------------|
|                 | ракки   |                 | цисты         |
|                 | июнь, 2015 г.                                 | август, 2015 г. | июнь, 2015 г. |
| озеро Калатуз   | 15,52±0,21                                    | 14,05±0,24      | 11,12±0,12    |
| озеро Казы      | 25,03±0,69                                    | 8,35±0,03       | 23,74±0,96    |
| озеро Жамантуз  | 20,06±0,16                                    | 6,26±0,3        | 21,38±0,87    |
| озеро Борлы     | 15,80±0,12                                    | 2,55±0,02       | 13,75±0,02    |
| озеро Шарбакты  | 25,88±0,18                                    | 11,93±0,09      | 19,18±0,11    |
| озеро Теренколь | 20,14±0,13                                    | 3,52±0,12       | 22,07±0,03    |
| озеро Айдарша   | 5,92±0,2                                      | 7,07±0,13       | 4,01±0,01     |
| озеро Сеитен    | 18,66±0,12                                    | 11,09±0,55      | 19,94±0,17    |
| озеро Маралды   | 10,61±0,14                                    | 3,24±0,01       | 9,33±0,05     |
| озеро Бура      | 25,15±0,19                                    | 7,99±0,21       | 25,15±0,15    |
| озеро Аштыкыр   | 15,14±0,17                                    | 5,20±0,37       | 15,71±0,1     |
| озеро Моилды    | 16,24±0,13                                    | 9,41±0,36       | 15,12±0,03    |

Clegg и Conte провели качественный анализ углеводов, выделенных из цист *Artemia*, и установили, что 98% составляет дисахарид трегалоза, причем его содержание снижалось в процессе выклева (Clegg J.S., 1980: 26). Кроме того, Clegg и Campagna предполагают, что трегалоза обеспечивает устойчивость клеток животных к обезвоживанию (Clegg J.S., 2006: 121).

Таким образом, среднее значение массовой доли глюкозы в раках артемии исследованных популяций не превышал 2,5%; цисты из популяций Павлодарской области содержали не более 1% общих углеводов; содержание гликогена в цистах и раках артемии павлодарских популяций оказалось примерно одинаковым.

В заключение, можно отметить, что ракки и цисты артемии из различных популяций Павлодарской области отличались высоким содержанием белка (в среднем 42,38 г%), свободных аминокислот (в среднем 114,34 мг%), липидов (в среднем 37,69 г%), при этом содержание общих жиров в цистах оказалось ниже, чем в раках в 4,7 раза. Среднее значение массовой доли глюкозы в раках артемии исследованных популяций не превышал 2,5%; цисты содержали не более 1% общих углеводов; содержание гликогена в цистах и раках артемии оказалось примерно одинаковым. Имели место сезонные колебания в содержании сухого вещества, свободных аминокислот, общих липидов, общих углеводов и гликогена в раках изученных популяций.

### Литература

- 1 Prasath E.B., Munuswamy N., and Nazar A.K.A. Preliminary studies on the suitability of a fairy shrimp *Streptocephalus dichotomus* as live food in aquaculture // Journal of the World Aquaculture Society. – 1994. – Vol. 25. – P. 204-207.
- 2 Munuswamy N., Nazar A.K.A., Velu C.S., and Dumont H.J. Culturing the fairy shrimp *Streptocephalus dichotomus* Baird using livestock waste – a reclamation study // Hydrobiologia. – 1997. – Vol. 358. – P. 199-203.
- 3 Annon S.E. The state of world fisheries and aquaculture. Food and agriculture organisation of the United Nations, Rome, Italy. – 2000. – p. 142.
- 4 Velu C.S., Munuswamy N. Nutritional evaluation of decapsulated cysts of fairy shrimp (*Streptocephalus dichotomus*) for ornamental fish larval rearing // Aquaculture Research. – 2003. – Vol. 34. – P. 967-974.
- 5 Ясюченя Т.Л. Хозяйственное использование ресурса ракча артемия в озере Большое Яровое: итоги и перспективы // Биоразнообразие артемии в странах СНГ: современное состояние ее запасов и их использование: Сб. докл. – Тюмень, 2004. – С.197
- 6 Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. – Москва: Колос, 2001. – 376 с.
- 7 Manual of research methods for Crustacean biochemistry and physiology / Ed. by M.H. Ravindranath. – Diocesan Press, Madras, 1981. – 50 p.
- 8 Практикум по биохимии /Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. – 2 изд. – М.: Изд.МГУ, 1989. – 509 с.
- 9 ГОСТ 7686-35 Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа. – Москва, 1985
- 10 Rasawo J. and Radull J. Inoculation of brine shrimp, *Artemia salina* (in Kenya): Expected impact on aquaculture development / In: Hulsman (ed) Aquaculture research in African region. – Pudoe, Wageningen, 1986. – P. 126-239
- 11 Vasudevan S. Biometrical, morphological and biochemical characterization of three *Artemia* (Crustacea: Anostraca) populations from South India // International Journal of Artemia Biology. – 2012. – Vol 2, No 2. – P. 7-29
- 12 Gulbrandsen J., Bjerkeng B., Kim J., Scott T.M. and Rust M.B, Post mortem changes in the concentration of free amino acids in *Artemia franciscana* at different temperatures // Aquaculture. – 2009. – Vol. 291. – P. 111-114.
- 13 Womersley C. Biochemical and physiological aspects of anhydrobiosis // Comp. Biochem. Physiol. – 1981. – Vol. 70B. – P. 669-678.
- 14 Whyte J.N.C., Bourne N. and Hodgson C.A. Influence of algal diets on biochemical composition and energy reserves in *Patinopecten yessogengis* (Jay) larvae // Aquaculture. – 1989. – Vol. 78. – P. 333-347.
- 15 Clegg J.S., Conte F.P. A review of the cellular and developmental biology of *Artemia* / In: Persoone, Sorgeloos, Roels and Jaspers (eds) The Brine Shrimp Artemia. – Physiology, Biochemistry, Molecular biology, Universa Press, Wetteren, Belgium, 1980. – P. 11-54.
- 16 Clegg J.S., Campagna V. Comparisons of stress proteins and soluble carbohydrate in encysted embryos of *Artemia franciscana* and two species of *Parartemia* // Comp. Biochem. Physiol. – 2006. – Vol. 145. – P. 119-125.

### References

- 1 Annon S.E. The state of world fisheries and aquaculture. (Food and agriculture organisation of the United Nations, Rome, Italy, 2000), pp. 142.
- 2 Antipova L.V., Glotova I.A., Rogov I.A. (2001) Metody issledovaniia miasa i miasnykh produktov (Moscow, Kolos) [Research methods of meat and meat products], pp. 376.
- 3 Clegg J.S., Campagna V. (2006) Comparisons of stress proteins and soluble carbohydrate in encysted embryos of *Artemia franciscana* and two species of *Parartemia*. Comp. Biochem. Physio, vol. 145, pp. 119-125.
- 4 Clegg J.S., Conte F.P. (1980) A review of the cellular and developmental biology of *Artemia*, in: Persoone, Sorgeloos, Roels and Jaspers (eds) The Brine Shrimp Artemia. Physiology, Biochemistry, Molecular biology (Universa Press, Wetteren, Belgium, 1980), pp. 11-54.
- 5 GOST 7686-35 Ryba, morskie mlekopitaushchie, morskie bespozvonochnye i produkty ikh pererabotki. Metody analiza [State standard 7686-35 Fish, marine mammals, marine invertebrates and their by-products. Methods of analysis] (Moscow, 1985).
- 6 Gulbrandsen J., Bjerkeng B., Kim J., Scott T.M. and Rust M.B. (2009) Post mortem changes in the concentration of free amino acids in *Artemia franciscana* at different temperatures. Aquaculture, vol. 291, pp. 111-114.
- 7 Ясиученя Т.Л. (2004) Khoziaistvennoe ispol'zovanie resursa rachka artemii v ozere Bol'shoe Yarovoe: itogi i perspektivy [Rational utilization of resource in Great Lake Artemia breviceps Yarovoye: results and prospects], Bioraznoobrazie artemii v stranakh SNG: sovremennoe sostoianie ee zapasov i ikh ispol'zovanie, pp.197.
- 8 Manual of research methods for Crustacean biochemistry and physiology, ed. by M.H. Ravindranath (Diocesan Press, Madras, 1981), pp. 50.
- 9 Munuswamy N., Nazar A.K.A., Velu C.S., and Dumont H.J. (1997) Culturing the fairy shrimp *Streptocephalus dichotomus* Baird using livestock waste – a reclamation study. Hydrobiologia. vol. 358, pp. 199-203.

- 10 Praktikum po biokhimii [Workshop on biochemistry], ed. by S.E. Severin, G.A. Solov'eva (Moscow, MSU, 1989), pp. 509
- 11 Prasath E.B., Munuswamy N., and Nazar A.K.A. (1994) Preliminary studies on the suitability of a fairy shrimp *Streptocephalus dichotomus* as live food in aquaculture. Journal of the World Aquaculture Society. vol. 25, pp. 204-207.
- 12 Rasawo J., Radull J. (1986) Inoculation of brine shrimp, *Artemia salina* (in Kenya): Expected impact on aquaculture development, in: Hulsman (ed) Aquaculture research in African region (Pudoc, Wageningen, 1986), pp. 126-239.
- 13 Vasudevan S. (2012) Biometrical, morphological and biochemical characterization of three *Artemia* (Crustacea: Anostraca) populations from South India. International Journal of Artemia Biology, vol 2, no 2, pp. 7-29.
- 14 Velu C.S., Munuswamy N. (2003) Nutritional evaluation of decapsulated cysts of fairy shrimp (*Streptocephalus dichotomus*) for ornamental fish larval rearing. Aquaculture Research, vol. 34, pp. 967-974.
- 15 Whyte J.N.C., Bourne N. and Hodgson C.A. (1989) Influence of algal diets on biochemical composition and energy reserves in *Patinopecten yessogengis* (Jay) larvae. Aquaculture, vol. 78, pp. 333-347.
- 16 Womersley C. (1981) Biochemical and physiological aspects of anhydrobiosis. Comp. Biochem. Physiol, vol. 70B, pp. 669-678.

FTAMP 34.39.01; 34.17.01

**Төлеуханов С.Т.<sup>1</sup>, Салатова О.И.<sup>2</sup>, Жанабаев З.Ж.<sup>3</sup>,  
Оралбек А.Н.<sup>4</sup>, Жексебай Д.М.<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>биология ғылымдарының докторы, профессор, e-mail: kazgu.kz@gmail.com

<sup>3</sup>физика-математика ғылымдарының докторы, профессор, e-mail: kazgu.kz@gmail.com

<sup>4</sup>2 курс магистратураның студенті, e-mail: aiko-22.03.1993@mail.ru

<sup>5</sup>магистрант, e-mail: dauren\_92\_05@mail.ru

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

<sup>2</sup>биология ғылымдарының кандидаты, А. Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті, Қазақстан, Қостанай қ., e-mail: salatova@bk.ru

**ФИЗИКАЛЫҚ ЖҮКТЕМЕГЕ ДЕЙІНГІ ЖӘНЕ  
КЕЙІНГІ АДАМДАРДЫҢ КАРДИОИНТЕРВАЛ  
ТЕРБЕЛІМДЕРІ МЕН ПУЛЬСТЕРІНІҢ ТӘУЛІКТІК ДИНАМИКАСЫНЫҢ  
ЭНТРОПИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІН ЗЕРТТЕУ**

Физикалық жүктемеге дейінгі және физикалық жүктемеден кейінгі жас адамдардың кардиоинтервалдарының тербелімдері мен пульстерінің орта мәндерінің тәуліктік (циркадианды) динамикасының ерекшеліктері алғаш рет осы жұмыста анықталып, талданды. Физикалық жүктемеден кейін жүрек жиырылу жылдамдығының көлемі статистикалық маңызы бар көлемге дейін жоғарылады ( $P \leq 0,05$ ). Сонымен, физикалық жүктемеге дейін пульстің көрсеткіштері  $69,7 \pm 3,9$  соққы/мин-тан  $77,5 \pm 5,5$  соққы/мин-қа, ал физикалық жүктемеден кейін  $101,7 \pm 6,5$  соққы/мин-тан  $110,1 \pm 6,0$  соққы/мин-қа дейін өзгерді. Кардиоинтервал тербелімінің көлемі физикалық жүктемеге дейін  $0,127 \pm 0,09$  сек-тан  $0,127 \pm 0,09$  сек-қа дейін өзгерді, ал физикалық жүктемеден кейін  $0,087 \pm 0,01$  сек-тан  $0,111 \pm 0,08$  сек-қа дейін өзгерді. Кардиоинтервал көлемі физикалық жүктемеге дейінгігө қарағанда, физикалық жүктемеден кейін тәмендігі анықталды. Физикалық жүктемеге дейін және кейін жас адамдардың пульстерінің орта мәндерінің тәуліктік динамикасы мен кардиоинтервал тербелімдерінің мәндерінің энтропиясы алғаш рет есептелінді. Сонымен, пульстің энтропиясының көлемі физикалық жүктемеге дейін – 0,6165, физикалық жүктемеден кейін – 0,6668 тең, ал кардиоинтервал тербелімдерінің көлемі физикалық жүктемеге дейін – 0,5749, ал физикалық жүктемеден кейін – 0,5432. Пульстің тәуліктік динамикасының көрсеткіштері физикалық жүктемеден кейін жоғарылады, ал кардиоинтервал тербелімі, керісінше азаяды.

**Түйін сөздер:** адам, тәуліктік (циркадианды ритмдер), пульс, кардиоинтервал тербелімі, физикалық жүктеме, энтропия.

Tuleukhanov S.T.<sup>1</sup>, Salatova O.I.<sup>2</sup>, Zhanabayev Z.Zh.<sup>3</sup>, Oralbek A.N.<sup>4</sup>, Zhexebay D.M.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>doctor of biological sciences, professor, e-mail: kazgu.kz@gmail.com

<sup>3</sup>doctor of physics and mathematical sciences, professor, e-mail: kazgu.kz@gmail.com

<sup>4</sup>master student, e-mail: aiko-22.03.1993@mail.ru

<sup>5</sup>master, e-mail: dauren\_92\_05@mail.ru

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>candidate of biological sciences, A. Baitursynov's Kostanay State University, Kazakhstan, Kustanay, e-mail: salatova@bk.ru

**The research of entropy characteristics of circadian dynamics with pulse and motion of rr interval from peoples before and after physical load**

First, the features of circadian dynamics of mean value with pulse and motion of RR interval have been formed and analyzed from young people before and after physical load. It is indicated that sizes of heart rates after physical load increased with respect of norm to statistically authentic value ( $P \leq 0,05$ ).

Thus, the characteristics of pulse are varied from  $69,7 \pm 3,9$  beats per minute up to  $77,5 \pm 5,5$  beats per minute before physical load, and after physical load they are varied from  $101,7 \pm 6,4$  beats per minute up to  $110,1 \pm 6,0$  beats per minute. The value of motion of RR interval before physical load are varied from  $0,127 \pm 0,09$  sec up to  $0,147 \pm 0,12$  sec and after physical load they are varied from  $0,087 \pm 0,01$  sec up to  $0,111 \pm 0,08$  sec. It is discovered that the values of motion of RR interval after physical load are lower than before physical load. So, the values of pulse entropy before physical load are equal to 0,6165 and after physical load to 0,6668 and the value of motion of RR interval before physical load is equal to 0,5749 and after load equal to 0,5432. The entropy characteristics of circadian dynamics with pulse after physical load grows and motion of RR interval reduces alternatively.

**Key words:** man, circadian rhythms, pulse, motion of RR interval, physical load, entropy.

Тулеуханов С.Т.<sup>1</sup>, Салатова О.И.<sup>2</sup>, Жанабаев З.Ж.<sup>3</sup>, Оралбек А.Н.<sup>4</sup>, Жексебай Д.М.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>доктор биологических наук, профессор, e-mail: kazgu.kz@gmail.com

<sup>3</sup>доктор физико-математических наук, профессор, e-mail: kazgu.kz@gmail.com

<sup>4</sup>студент магистратуры, e-mail: aiko-22.03.1993@mail.ru

<sup>5</sup>магистрант, e-mail: dauren\_92\_05@mail.ru

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

<sup>2</sup>кандидат биологических наук, Костанайский государственный университет имени А. Байтурсынова, Казахстан, г. Кустанай, e-mail: salatova@bk.ru

### Исследование энтропийных показателей суточной динамики пульса и размаха кардиоинтервала у людей до и после физической нагрузки

Впервые установлены и проанализированы особенности суточной (циркадианной) динамики средних значений пульса и размаха кардиоинтервала у молодых людей до и после физической нагрузки. Показано, что величины частоты сердечных сокращений после физической нагрузки повышаются относительно нормы на статически достоверную величину ( $P \leq 0,05$ ). Так, до физической нагрузки показатели пульса варьируют от  $69,7 \pm 3,9$  уд/мин до  $77,5 \pm 5,5$  уд/мин, а после физической нагрузки колеблются от  $101,7 \pm 6,4$  уд/мин до  $110,1 \pm 6,0$  уд/мин. Величины размаха кардиоинтервала до физической нагрузки варьируют от  $0,127 \pm 0,09$  сек до  $0,147 \pm 0,12$  сек, а после физической нагрузки колеблются от  $0,087 \pm 0,01$  сек до  $0,111 \pm 0,08$  сек. Выявлено, что величины размаха кардиоинтервала после физической нагрузки ниже, чем до физической нагрузки. Так, величина энтропии пульса до физической нагрузки равна 0,6165, а после физической нагрузки 0,6668, а величина размаха кардиоинтервала до физической нагрузки равна 0,5749, а после физической нагрузки 0,5432. Энтропийный показатель суточной динамики пульса после физической нагрузки вырастает, а размах кардиоинтервала, наоборот, уменьшается.

**Ключевые слова:** человек, суточные (циркадианные) ритмы, пульс, размах кардиоинтервала, физическая нагрузка, энтропия.

## Kіріспе

Қазіргі уақытта әлемде қалыпты жағдайда және стресс жағдайында (патологиялық) организмде болатын ритмдік процестерді үйренуге қызығушылық өте жоғары. Біздің елімізде және шет елдерде хронобиология және хрономедицина проблемаларына арналған үлкен жұмыстар жарияланған (Тулеуханов, 2002а:14, Тулеуханов, 2002б:95, Төлеуханов, 2006б:60, Рапопорт, 2012:480, Хайтун, 2013:62, Чайка, 2013:55, Цфасман, 2010:305, Степанова, 1989:34).

Қазіргі уақытқа дейін адамда уақытқа байланысты ырақтылығы өзгеретін жүзделген физиологиялық процестер анықталған. Бүгінгі таңда хронобиология мен хрономедицинаның теориялық қана емес, практикалық жетістіктері жайлы нақты айтуға болады.

Организмдегі көптеген стресстік (патологиялық) процестер физиологиялық функция-

лардың уақытқа байланысты ұйымдастырының бұзылуымен анықталады. Сол уақытта организмде көрінген патологиялық процестердің дамуының бір себебі, ритмдердің сәйкес келмеуі болып табылады. Ол десинхроноз деп атала-ды. Ал десинхроноздың деңгейін энтропия көмегімен анықтауга болады, яғни энтропия-оның ретсіздігінің өлшемі болып табылатын жүйе жағдайының термодинамикалық функциясы. Жүйе ретсіздігі қанша жоғары болса, оның энтропиясы соншалықты жоғары болады (Slomczynski, 200:180). Энтропияны анықтау ритмдердің десинхронизациясының деңгейін орнатудың ең объективті әдісі болып табылады.

Осыған байланысты ғалымдардың хронобиологияның мәселелеріне қызығушылықтары түсінікті болады.

Қазіргі жұмыс жас, дені сау адамдардың физикалық жүктемеге дейінгі және физикалық жүктемеден кейінгі жүрек-қантамырлар жүйе-

сінің функционалдық көрсеткіштерінің тәуліктік динамикасының энтропиялық көрсеткіштерін зерттеуге арналған.

### **Зерттеу материалдары мен әдістері**

Зерттеудің объектісі ретінде университеттің деңе салмағы  $70 \pm 5$  кг болатын, жынысы- ерек, 17-20 жас аралығындағы 1-3 курс студенттері алынды. Үш рет қайталанылған бақылауда 15 адам болды. Барлық зерттелушілер жүрек-қантамырлар жүйесі бойынша нормадан ауытқымаған, зиян әдеттері жоқ, денсаулық жағдайы бойынша дені сай топқа жатады. Зерттеу студенттердің келісімімен, жылдың күз мезгілінде (қыркүйек, казан, қараша), лабораториялық жағдайда жүргізілді. Адамның жүрек-қантамырлар жүйесінің кейбір көрсеткіштерінің тәуліктік динамикасын анықтау мақсатында өлшем тәулік ішінде үш қайтара, сағат- 08; 09; 10; 11; 12; 13; 14; 15; 16; 17; 18; 19; 20; 21; 22; 23; 00; 01; 02; 03; 04; 05; 06, яғни 12 рет жүргізілді. Хронодинамика бойынша маңызды көрсеткіштердің бірі, жүрек-қантамырлар жүйесінің жұмысын көрсететін пульстің нақты мәліметтері анықталды.

Негізгі мәліметтер вариациялық пульсометрия әдісімен және оның сапалық сипатымен (фазалық анализ әдісі) алынды. Ол үшін жүрек-қантамырлар жүйесінің физиологиялық тестілеу жүйесі – «ДОКТОР МАУС» (Наумов В.А., Клевцов В.А., Ресей) деп аталағын бағдарлама-аппараттық комплекс қолданылды. Бұл әдіс диагностикалық мақсатта қолданылатын, жалпыға танылған, заманауи әдіс. Жүрек-қантамырлар жүйесінің сипатын өлшеу әдісі инфракызыл (ИК) сәулелендіргіштің және толқын ұзындығы шамамен 0,9 мкм болатын жарық қабылдағыштың көмегімен қолдың саусақтарының капиллярларының қанға толуын тіркеуге бағытталған.

Қалыптасқан сигнал программа арқылы онделеді және виртуалды осциллограф режимінде жұмыс істейтін компьютер экранына шығарылады. Осылай жүрек-қантамырлар жүйесінің негізгі параметрлерінің өлшемдері, анализі, сакталуы жүзеге асырылады. Ритмнің анализінің қорытындысы бойынша келесі параметрлер «Pentium 4, 1.7 GHz» (Intel компаниясы, АҚШ) компьютерінің жүрек-қантамырлар жүйесінің функционалдық жағдайын және физикалық еңбекке қабілеттілігін анықтайтын бағдарламасы арқылы есептелді: пульс, кардиоинтервал тербелімі, жүректің соққы көлемі, тұрақтылық көрсеткіштері, қауырттылық индексі және вегетативті көрсеткіш.

Физикалық жүктеме (ФЖ) қуаты 800 Вт, уақыт интервалы 5 минут, жылдамдығы 12 км/сағ, дистанциясы 1,1 км болатын велоэргометрдін (Proteus Cycle Rec 3000, Proteus компаниясы, Тайвань) көмегімен берілді.

Нәтижелерді Microsoft Excel программасының көмегімен, орташа арифметикалық параметрлерді, орташа квадраттық ауытқуларды, орташа арифметикалық қатені есепке ала отырып өндедік. Нәтижелерді нақты  $P \leq 0,05$  есептедік.

Энтропиялық көрсеткіштерді MATLAB (Matrix Laboratory, АҚШ, Нью-Мексико) – есептерді шешуге арналған программалар пакетінің көмегімен есептедік. Бұл пакетті миллионнан аса инженерлік және ғылыми жұмысшылар қолданады (Жанабаев, 2013:58, Zhanabaev, 2013:29, Аширбаев, 2017:206).

### **Зерттеу нәтижелері және оларды талдау**

1-кестеде көрсетілгенде пульстің орта мәндерінің тәуліктік динамикасы тыныштық жағдайында біркелкі емес мәнге ие. Егер пульстің тәуліктік динамикасының таңғы периодтан (08 сағ) кешкіге бағытталған жалпы бейнесін қарайтын болсақ, тәуліктік қисықтың формасы толқын тәрізді сипатта, минималды көрсеткіші- сағат 04:00 және максималды көрсеткіші- 20:00, ал пульстің көрсеткіштері тәулік ішінде  $69,7 \pm 3,9$  сок/мин-тан  $77,5 \pm 5,5$  сок/мин-ка дейін өзгереді. ( $P \leq 0,05$ ).

Осылайша, жоғарыда көрсетілген мәліметтерді есептей келе, сағат 08:00-ден 20:00 дейінгі аралықта зерттелушілердің жүрек-қантамырлар жүйесінің жұмысының активациясы, сонымен катар жүректің жиырылу жиілігінің (ЖЖЖ) өсуі байқалды.

Қисықтың басқа сипатын зерттелушінің велоэргометрмен дозаланған физикалық жүктеме жасалғаннан кейін пульстің өзгергенін 1-кестеден көруге болады. ФЖ кейін зерттелушілерде пульстің орта мәндерінің өсетіндігі анықталды. Тәулік ішінде ФЖ кейін пульстің көрсеткіштері  $101,7 \pm 6,4$  сок/мин-тан  $110,1 \pm 60$ , сок/мин-ка дейін өзгеріп, минималды көрсеткіштері сағат 02:00, ал максималды таңғы 08:00 байқалды. Алынған мәліметтер нақты. ( $P \leq 0,05$ ).

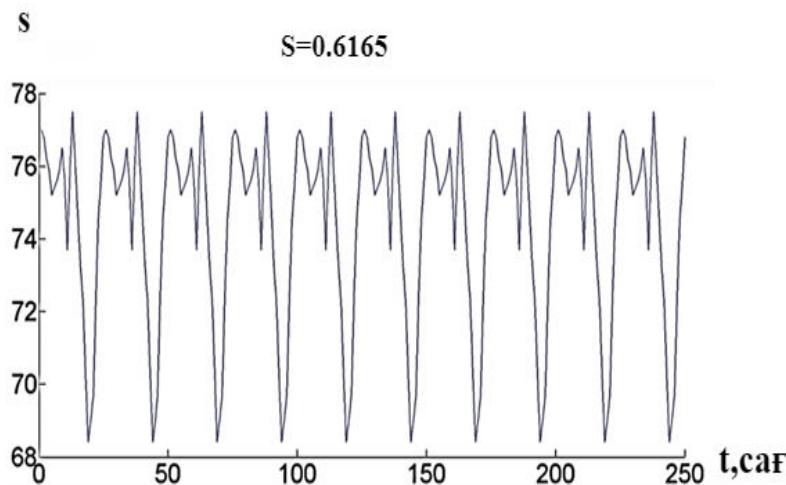
Жүрек-қантамырлар жүйесінің циркадианды ритмдерін зерттеген кейбір авторлардың айтуынша (Aschoff, 1981:320, Haus, 2006:489, De Scalzi, 1984:465, Smith, 2002:36), дені сай адамдардың физиологиялық функциясының бір гана акрофазасы болған, ал біздің мәлімет бойынша екі акрофаза болды (1-кестені караңыз). Физикалық жүктемеден кейінгі пульстің орташа өсуі 31,6% құрайды.

1-кесте – Физикалық жүктемеге (ФЖ) дейінгі және кейінгі адамның пульсінің орта мәндерінің тәуліккі динамикасы, сок/мин

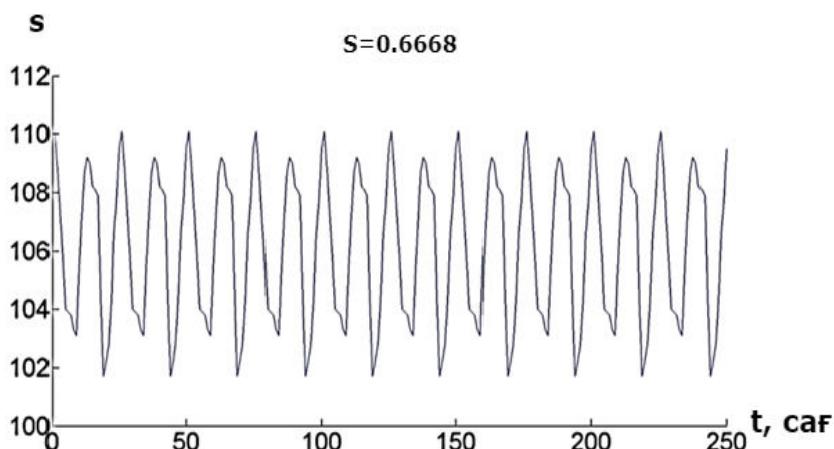
|          |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |           |
|----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----------|
| t (сағ)  | 08         | 09         | 10         | 11         | 12         | 13         | 14         | 15         | 16         | 17         | 18         | 19         | 20         | 21         | 22         | 23         | 00         | 01         | 02         | 03         | 04         | 05         | 06         | 07         | 08         |           |
| ФЖ дейін | 77,0 ±5,3  | 76,8 ±5,6  | 76,2 ±5,9  | 75,9 ±3,7  | 75,2 ±3,6  | 75,4 ±3,9  | 75,6 ±4,1  | 75,9 ±4,4  | 76,5 ±4,8  | 75,6 ±4,4  | 73,7 ±4,8  | 75,5 ±4,8  | 75,9 ±5,3  | 75,5 ±5,0  | 76,1 ±5,1  | 74,7 ±5,1  | 73,3 ±2,9  | 72,3 ±3,1  | 70,3 ±3,2  | 68,4 ±3,3  | 69,0 ±3,6  | 69,7 ±3,9  | 72,4 ±4,0  | 74,5 ±4,2  | 75,5 ±4,4  | 76,8 ±4,5 |
| ФЖ кейін | 110,1 ±6,0 | 108,8 ±5,9 | 107,3 ±5,7 | 105,8 ±6,1 | 104,0 ±6,3 | 103,9 ±6,2 | 103,8 ±6,4 | 103,3 ±6,7 | 103,1 ±7,0 | 105,4 ±6,8 | 107,2 ±7,1 | 108,7 ±6,6 | 109,0 ±7,4 | 109,2 ±7,0 | 108,2 ±6,7 | 108,1 ±6,9 | 107,9 ±7,5 | 104,4 ±6,5 | 101,7 ±6,4 | 102,2 ±6,2 | 102,8 ±6,0 | 104,3 ±6,1 | 106,6 ±6,3 | 107,7 ±6,4 | 109,5 ±6,5 |           |

2-кесте – Физикалық жүктемеге (ФЖ) дейінгі және кейінгі адамның кардиоинтервал тербелімінің (КИТ) тәуліккі динамикасы, сек.

|          |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| t(сағ)   | 08          | 09          | 10          | 11          | 12          | 13          | 14          | 15          | 16          | 17          | 18          | 19          | 20          | 21          | 22          | 23          | 00          | 01          | 02          | 03          | 04          | 05          | 06          | 07          | 08          |
| ФЖ дейін | 0,143 ±0,02 | 0,140 ±0,02 | 0,135 ±0,02 | 0,133 ±0,02 | 0,131 ±0,01 | 0,132 ±0,01 | 0,133 ±0,02 | 0,134 ±0,02 | 0,130 ±0,02 | 0,131 ±0,02 | 0,129 ±0,01 | 0,127 ±0,02 | 0,128 ±0,01 | 0,129 ±0,02 | 0,138 ±0,01 | 0,143 ±0,02 | 0,141 ±0,01 | 0,139 ±0,01 | 0,136 ±0,01 | 0,134 ±0,01 | 0,137 ±0,01 | 0,140 ±0,02 | 0,140 ±0,02 | 0,141 ±0,01 | 0,142 ±0,01 |
| ФЖ кейін | 0,089 ±0,02 | 0,088 ±0,02 | 0,087 ±0,02 | 0,095 ±0,02 | 0,099 ±0,02 | 0,097 ±0,02 | 0,096 ±0,02 | 0,094 ±0,02 | 0,092 ±0,02 | 0,091 ±0,02 | 0,090 ±0,02 | 0,092 ±0,02 | 0,091 ±0,02 | 0,097 ±0,02 | 0,096 ±0,02 | 0,094 ±0,02 | 0,092 ±0,02 | 0,097 ±0,03 | 0,091 ±0,03 | 0,092 ±0,02 | 0,091 ±0,03 | 0,090 ±0,02 | 0,090 ±0,02 | 0,093 ±0,02 | 0,095 ±0,02 |



**1-сурет** – Қалыпты жағдайдағы адамдар пульсінің орта мәндерінің (сок/мин) тәуліктік динамикасы. Бұл жерде абциssa осі – уақыт ( $t$ , сағ), ордината осі – энтропия ( $S$ , Дж/К).



**2-сурет** – Адамдардың физикалық жүктемеден кейінгі пульстериңін орта мәндерінің (сок/мин) тәуліктік динамикасының энтропиялық көрсеткіштері. Бұл жерде абциssa осі- уақыт ( $t$ , сағ), ордината осі – энтропия ( $S$ , Дж/К).

1- суретте тәулік ішінде адамдардың қалыпты жағдайда, яғни ФЖ дейінгі пульстериңін (сок/мин) орта мәндерінің энтропиялық көрсеткіштері бейнеленген. 1- суреттен пульстің энтропиялық мәндері тәулік ішінде екі ортодозамен және екі акрофазамен анық бейнеленген 68,3-тен 77,7 бірлікке дейін өзгереді. Ал, 2- суретте жас адамдардың ФЖ кейінгі тәулік ішінде пульстік көрсеткіштерінің (сок/мин) энтропиялық мәндері көрсетілген. Пульстің энтропиясының көрсеткіштері тәулік ішінде ФЖ кейін анық байқалған терт ортодозамен және торт акрофазамен 102,0-ден 110,0 бірлікке дейін өзгергенін

байқауға болады. Суреттерден пульстің энтропиясының көрсеткіштері нормада және ФЖ кейін бір-бірінен шамасымен, жиілігімен ерекшеленетінін көруге болады. ФЖ кейінгі пульстің энтропиясының мәндері нормадан ( $S=0,6668$  Дж/К) жоғары ( $S=0,6165$  Дж/К) және ФЖ дейінгі энтропияның жиілігінің сипаты ФЖ кейінгіге қарағанда аз. Алынған нәтижелерде ФЖ кейін бос энергияның кинетикалық энергия түрінде шығуы нормага қарағанда жоғары екендігі байқалады.

Осылайша, адамдардың ФЖ дейінгі және ФЖ кейінгі пульстериңін (сок/мин) тәуліктік

динамикасының энтропиясының мәндері және физиологиялық мәліметтерге сәйкес, олардың ерекше қасиеттері анықталды.

Кардиоинтервал тербелімі (KIT) – өлшеу кезінде алынған кардиоинтервалдардың ең ұзыны мен ең қысқасының уақытқа байланысты айырмашылығы. Бұл көрсеткіш қозудың электрлі импульстері пайда болатын синустық түйінмен байланысты, бұл ритмнің негізгі жүргізушісі. KIT нормасы 0,16 секундтан аспайды. Нормадан өсуі синустық аритмияның бар екенін көрсетеді. Синустық аритмия- бұл ауру емес, тыныс алу процесімен байланысты болатын кейбір физиологиялық жағдайлар (Durgan, 2010:647). KIT мәндерінің нормадан жоғарылауы экстрасистоланы білдіру мүмкін. Экстрасистола- бұл керебой сияқты сезілетін, жүректің уақытынан бұрын жиырылуы. Экстрасистолалар әрдайым пульсограммада көрінеді. Олар ең алдымен, амплитуданың төмендеуі мен соққы арасындағы интервалдың азаюымен немесе бөлек сокқылардың өтуімен байқалады.

2-кестеде жас адамдардың ФЖ дейінгі және ФЖ кейінгі кардиоинтервал тербелімінің тәуліктік динамикасының орта мәндерінің хронодинамикасы көрсетілген. KIT көрсеткіштері тәулік ішінде организмнің барлық функционалдық жағдайында физиологиялық нормада болды. Тыныштық күйде алынған көрсеткіштердің 98% ФЖ кейін алынған көрсеткіштерден жоғары болды. Суреттегі қисықтар тұрақты емес екендігі анықталды және де күрьым тәуліктік цикл ішінде өзгеріп отырады. KIT тәуліктік ритмдерінің тербелісінің амплитудасы 6,4 % тең. KIT акрофазасы қалыпты жағдайда танғы сағат 08:00 және кешкі 20:00 болады. Дозаланған физикалық жүктеме жасалғаннан кейін (2-кестені қараңыз) ең ұзын және ең қысқа кардиоинтервалдардың арасындағы уақыт бойынша айырмашылығы қалыпты жағдайға қарағанда төмен, ал тәулік бойынша тербелістің амплитудасы 26,7% тең болды.

2-кестеде біз бір және екі төбелі, акрофазасы сағат 08, 20 және 24 болатын қисықты байқаймыз. Бұл факт осы уақытта көптеген жағдайларда симпатикалық жүйке жүйесінің тонусының жоғарылауы болатындығын көрсетеді.

Алынған мәліметтер бойынша қорытындылай келе: тыныштық жағдайында KIT тәулік ішінде аз ғана өзгеретіндігі, ал ФЖ кейін параметрдің тербелісінің амплитудасы жоғары болатындығы анықталды. ФЖ кейін ең қысқа және ең ұзын кардиоинтервалдың

арасындағы уақыт бойынша айырмашылығы азайды, ал тәулік ішінде тербелістің амплитудасы жоғарылады, яғни бұл синустық түйіннің қозуы нәтижесінде электрлі импульстардың күшеюінен кардиореспираторлық жүйенің жұмысының активтенгенін көрсетеді.

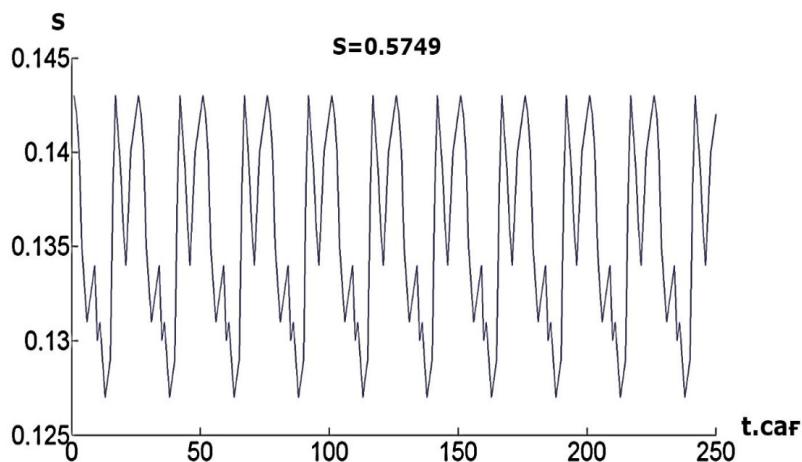
Зерттелушілерде көптеген ғалымдармен дәлелденгендей (Wertheimer, 1974:742, Kohno, 1998:337, Germano, 1988:266), тәулік ішінде кем дегенде бір акрофаза болды. Физикалық жүктемeden кейін зерттелушілердің көбісінде KIT тәуліктік ритмдерінің мәндері төмендегені байқалды. Орташа көрініс былай көрінеді (2- кестені қараңыз): ФЖ дейін KIT физиологиялық нормадан жоғарылағаны, тіпті 0,143 секундқа дейін жоғарылағаны байқалды. ФЖ кейін көрініс жақсарды- жоғарылаған көрсеткіштердің пайызы орташа есеппен төртке дейін төмендеді. Барлық критикалық көрсеткіштер тәулік ішінде бірдей бөлінді. Сондай-ақ, тәулік ішінде KIT 64% құрады. Тыныштық жағдайда KIT тәулік ішінде аз ғана өзгеріп, ФЖ кейін тербелістің амплитудасы жоғарырақ болды.

Сонымен, адамдардың тәулік ішінде ФЖ дейін және ФЖ кейін KIT ерекшеліктерін анықтадық.

3 және 4 суреттерде адамның ФЖ дейінгі және ФЖ кейінгі KIT тәуліктік динамикасының энтропиялық көрсеткіштері көрсетілген. Суреттерден адамның әртүрлі функционалдық жағдайларда KIT тәуліктік динамикасының энтропиялық көрсеткіштерінің бір-бірінен ерекшеленетіні көрінеді. Қалыпты жағдайда KIT энтропиялық көрсеткіштері 70,3-тен 77,2 бірлікке дейін, ал ФЖ кейін – 92,6-дан 99,1 бірлікке дейін өзгереді, сонымен қатар олар бір-бірінен қисықтың конфигурациясы бойынша да ерекшеленеді. Энтропия көрсеткіштерінің төмендеуі энергияның жылу түрінде шығуның төмендеуін көрсетеді.

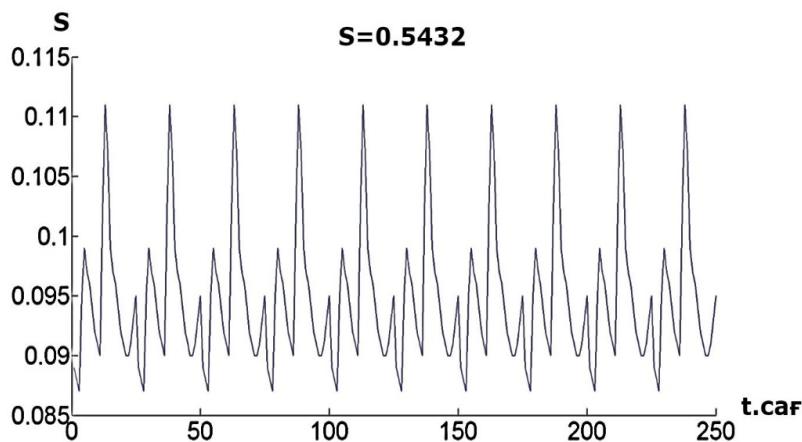
## Қорытынды

Адамның KIT-н ФЖ дейінгі және ФЖ кейінгі энтропиялық мәндерін анықтадық. ФЖ кейінгі энтропия мәндері ФЖ дейінгі энтропия мәндерінен төмендеуі физикалық жүктеменің кардиоинтервал көрсеткіштеріне әсерінен организмнің бос энергиясының шығуның төмендеуін көрсетеді. Кардиоинтервалдың көрсеткіштер пульске қарағанда физикалық жүктемеге тұрақты.



**3-сурет** – Қалыпты жағдайдағы адам кардиоинтервал тербелімінің мәндерінің тәуліктік динамикасының энтропиялық көрсеткіштері.

Бұл жерде абсцисса осі – уақыт ( $t, \text{caF}$ ), ордината осі – энтропия ( $S, \text{Дж/К}$ ).



**4-сурет** – Физикалық жүктемеден (ФЖ) кейінгі адамдардың кардиоинтервал құлашының мәндерінің тәуліктік динамикасының энтропиялық көрсеткіштері.

Бұл жерде абсцисса – уақыт ( $t, \text{caF}$ ), ордината – энтропия ( $S, \text{Дж/К}$ ).

Адам организмінде қозғалмалы және инертті ритмдер болады. Бізді қызықтыратыны қозғалмалы ритмге жататын еңбекке қабілеттілік, жүрек жиырылу жиілігі және басқалары, яғни қозғалмалы ритмдерге жататындар, осы параметрлер адаптациялық-гомеостатикалық процестердің жағдайын бейнелейді. Пульсограммамен жасалған анализ бойынша барлық зерттелушілерде ФЖ кейін пульстің мәндері өсті, бірақ та оның көлемі тәуліктік уақытқа байланысты: жоғарылауы таңғы уақыттарда (46,5% дейін өсті) және түн ортасында (өсім – 48,7% дейін). Азырақ өсуі кешкі сагаттарда (ЖЖЖ өзгерісі 25,1% ғана болды). Функционалды индивидуалды активтілікке қарамай,

барлық зерттелушілерде кем дегенде бір акрофаза байқалды, бұл дегеніміз олардың функционалдық күйі тербеліс жағдайында. Осыған үқсас фактілер әдебиеттерде көрсетілген. (Brown, 1970:198, Khalsa, 2000:524, Rimmer, 2000:279, Culic, 2014:417, Curtis, 2007:3450)

Зерттелушілерге жасалған физикалық жүктеме КИТ азайтып, жүрек ритмін жоғарылатты. ФЖ кезінде КИТ мәндерінің өзгерісінің тәуліктік динамикасы КИТ максималды азауы түстен кейін (25% дейін), ал КИТ минималды азауы кешкі уақыттарда байқалды.

Сондай-ақ, есептелеңген функционалды көрсеткіштер әдetteгідей хронотәуелділікті көрсетеді, осылайша пульстің және КИТ тәуліктік

динамикасы бірынғай емес, сзызықтық емес, өзіндік бейнеге ие.

Пульстің және КИТ энтропиялық көрсеткіштерінің тәуліктік динамикасы ФЖ дейін және ФЖ кейін бір-бірінен ерекшеленеді. Сонымен, пульстің энтропиялық көрсеткіштері

қалыпты жағдайда ФЖ кейінгіге қарағанда төмен, ал КИТ көрсеткіштері көрісінше, ФЖ кейін төмен. Тәулік ішінде қалыпты жағдайда, ФЖ кейін КИТ көрсеткіштерінің тұрақтырақ, ал пульстің көрсеткіштерінің тұрақсызыдау болатыны анықталды.

### Әдебиеттер

- 1 Тулеуханов С.Т. Биологические ритмы- фундаментальный закон живой природы // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская.- Алматы,2002- №6(234). – С.3-16.
- 2 Тулеуханов С.Т. Хронофизиология: достижения и перспективы развития // Вестник КазНУ. Серия биологическая,- 2002-№1(16).- С.94-101.
- 3 Төлеуханов С.Т. Биологиялық ырғак- тірі табигаттың іргелі заны // Ғылым көкжиеңінде: ғылыми-көпшілік жинақ.- Алматы, 2006 – 59-68 б.
- 4 Хронобиология и хрономедицина // Руководство.- под редакцией С.И. Рапопорта, В.А. Фролова, Л.Г. Хетагуровой.- М.: МИА, 2012-480с.
- 5 Жанабаев З.Ж. Критерии самоподобия и самоаффинности динамического хаоса// Вестник КазНУ. Серия физическая. – 2013- №1 (44). – С. 58-66.
- 6 Zhanabaev Z.Zh, Kozhagulov Y.T, Khokhlov S.A. Scale invariance criteria of dynamical chaos // International Journal of mathematics and physics 4.-2013- №2.- P.29-37.
- 7 Ашираев Х.К., Кабылбеков Х.А., Абдрахманова А.И., Кыдырбекова Ж.Б. Организация компьютерной лабораторной работы по исследованию электрического и магнитного полей с использованием пакета программ MATLAB // Известия НАН РК, серия физ.мат.- Алматы,2017- №4. – С.206-213.
- 8 Хайтун С. Д. Трактовка энтропии как меры беспорядка и ее воздействие на современную научную картину мира // Вопросы философии. – 2013.- №2. –С.62-74.
- 9 Чайка В. Я. Биоритмы человека – ключ к прогнозированию работоспособности, надежности, совместимости // Научно-методический сборник. – Караганда, 2013. -№3. – С. 55.
- 10 Цфасман А.З., Алпаев Д.В. // Циркадная ритмика артериального давления при измененном суточном ритме жизни. Репроцентр М, М.: 2010 -T.2 -C. 305-358.
- 11 Степанова С. И. Суточные ритмы показателей кардиореспираторной системы человека / Проблемы космической биологии. – 1989.- Т.64 – С.34-60.
- 12 Aschoff Y. Biological rhythms. – №Y-L., 1981-P.320.
- 13 Haus E., Smolensky M. // Biological clock and shift work: circadian dysregulation and potential long-term effects. Cancer Causes and Control -2006.- №5. – P.489-500.
- 14 De Scalzi M, De Leonards V., Calzolari F., Barchielli M., Cinelli P., Chiodi L., Fabiano F.S., Vergassola R. Heart rate and premature beats: a chronobiologic study // Giornale Italiano di Cardiologia, – 1984 – Vol.14(7). – P. 465–470.
- 15 Smith, S. Characterizing the effects of airborne vibration on human body vibration response // Aviation, Space, and Environmental Medicine. – 2002 – №73 (1). – P. 36-45.
- 16 Wertheimer, L, Hassen A, Delman A., et al. Cardiovascular circadian rhythm in man // Chronobiology, Igaku Shoin. Tokyo, -1974. – P. 742-747.
- 17 Kohno I, Iwasaki H, Okutani M., et al. Circadian blood pressure and heart rate profiles in normotensive patients with mild hyperthyroidism // Chronobiol. Int.- 1998- vol.15. – №4. – P. 337-347.
- 18 Germano G., Cornelissen G., Scarpelli P. T., et al. Age effects upon circadian characteristics of human blood pressure // Chronobiolog. – 1988. -vol. 15-№3.- P.266.
- 19 Brown F.A. The biological clock. Two views // F. A. Brown jun., J. W Hastings, J. D. Palmer. — N. Y.; London: Acad.,- 1970. — P.198.
- 20 Khalsa SBS, Jewett ME, Duffy JF, et al. The timing of the human circadian clock is accurately represented by the core body temperature rhythm following phase shifts to a three-cycle light stimulus near the critical zone. // J. Biol Rhythms. – 2000.- №15(6). -P.524–530.
- 21 Rimmer DW, Boivin DB, Shanahan TL, et al. Dynamic resetting of the human circadian pacemaker by intermittent bright light. // Am J Physiol.- 2000.-№3.- P.279
- 22 Culic V. Chronobiological rhythms of acute cardiovascular events and underlying mechanisms // Int. J. Cardiol. -2014.- №174. -P. 417–419.
- 23 Curtis A.M., Cheng Y., Kapoor S., Reilly D., Price T. S., Fitzgerald G. A. Circadian variation of blood pressure and the vascular response to asynchronous stress // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.- 2007. № 104. -P. 3450–3455.
- 24 Durgan D. J., Young M. E. The cardiomyocyte circadian clock: emerging roles in health and disease // Circ. Res. -2010.- №106.- P.647–658.
- 25 Slomczynski W., Kwapier J., Zyczkowski K. Entropy Computing Via Integration over Fractal Measures // Chaos. – 2000. – Vol.10, №1. -P. 180-188.

### References

- 1 Aschoff J. (1981) Biological rhythms, no Y-L., pp.320.
- 2 Ashirbaev Ch. K., Kabylbekov Ch. A., Abdurakhmanova A. I., Kydyrbekova Zh. B. (2017) Organizatsiya komp'iuternoi laboratornoi raboty po issledivaniu elektricheskogo i magnitnogo polei s ispol'zovaniem paketa program MATLAB [The organization of computer laboratory work on a research electric and magnetic field with use of the software package of MATLAB]. Izvestiya NAN RK, physical. mat series. no.4. – pp.206-213.
- 3 Brown F.A. The biological clock. Two views (1970) F. A. Brown jun., J. W Hastings, J. D. Palmer. N. Y.; London: Acad.,pp.198.
- 4 Cfasman A. Z., Alpaev D. V. (2010) Circadian rhythmika arterial'nogo davleniya pri izmenennom sutochnom ritme zhizni [Circadian rhythmicity of arterial blood pressure at the changed daily rhythm of life]. Reprocentr M, vol.2, pp. 305-358.
- 5 Chaika V. Ya. (2013) Bioritm cheloveka- kliuch k prognozirovaniyu rabotosposobnosti, nadezhnosti, sovmestimosti [Bio-rhythms of the person – a key to forecasting of working capacity, reliability, compatibility]. Nauchno-metodicheski sbornik, no 3, pp. 55.
- 6 Chaitin S. D. (2013) Traktovka entropii kak mery besporyadka I ee vozdeistvie na sovremennuiu nauchnuiu kartinu mira [Interpretation of entropy as measures of disorder and her impact on a modern scientific picture of the world]. Voprosy filosofii, no 2, pp. 62-74.
- 7 Chronobiologiya and Chronomedicina (2012) [Chronobiology and chronomedicine]. Rukovodstvo-pod redakciei S.I. Rapoporta, V.A. Frolova, L.G. Hetagurovoi. - M.: MIA. – pp.480.
- 8 Culic V. (2014) Chronobiological rhythms of acute cardiovascular events and underlying mechanisms. Int. J. Cardiol., no 174, pp. 417–419.
- 9 Curtis A.M., Cheng Y., Kapoor S., Reilly D., Price T. S., Fitzgerald G. A. (2007) Circadian variation of blood pressure and the vascular response to asynchronous stress. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A, no 104, pp. 3450–3455.
- 10 De Scalzi M, De Leonardi V., Calzolari F., Barchielli M., Cinelli P., Chiodi L., Fabiano F.S., Vergassola R. (1984) Heart rate and premature beats: a chronobiologic study. // Giornale Italiano di Cardiologia, Vol.14(7), P. 465–470.
- 11 Durgan D. J., Young M. E. (2010) The cardiomyocyte circadian clock: emerging roles in health and disease. Circ. Res., no 106, pp.647–658.
- 12 Germano G., Cornelissen G., Scarpelli P. T., et al. (1988) Age effects upon circadian characteristics of human blood pressure. Chronobiolog.vol.15, no 3, pp.266.
- 13 Haus E., Smolensky M. (2006) Biological clock and shift work: circadian dysregulation and potential long-term effects. Cancer Causes and Control. №5.- P.489-500.
- 14 Khalsa SBS, Jewett ME, Duffy JF, et al. (2000) The timing of the human circadian clock is accurately represented by the core body temperature rhythm following phase shifts to a three-cycle light stimulus near the critical zone. J. Biol Rhythms., no15(6). pp.524–530.
- 15 Kohno I, Iwasaki H, Okutani M., et al. (1998) Circadian blood pressure and heart rate profiles in normotensive patients with mild hyperthyroidism. Chronobiol. Int. vol. 15, no 4, pp. 337-347.
- 16 Rimmer DW, Boivin DB, Shanahan TL, et al. (2000) Dynamic resetting of the human circadian pacemaker by intermittent bright light. Am J Physiol., no 3, pp.279
- 17 Slomczynski W., Kwapiet J., Zyczkowski K. (2000) Entropy Computing Via Integration over Fractal Measures. Chaos, vol.10, no 1, pp.180-188.
- 18 Smith S. (2002) Characterizing the effects of airborne vibration on human body vibration response. Aviation, Space, and Environmental Medicine, no 73 (1), pp. 36-45.
- 19 Stepanova S. I. (1989) Sutochnye ritmy pokazatelei kardiorespiratornoi sistemy cheloveka [Daily rhythms of indicators of cardiorespiratory system of the person]. Problemy kosmicheskoi biologii, vol.64, pp.34-60.
- 20 Toleukhanov S.T. (2006) Biologiyalyk yrgak- tiri tabigattyn irgeli zany [ Biorhythm - the fundamental law of wildlife]. Gylym kokjieginde- gylymi kopshilik zhinak. - pp.59-68
- 21 Tuleukhanov S.T. (2002) Biologicheskie ritmy- fundamental'nyi zakon zhivoi prirody [Biological rhythms - the fundamental law of wildlife]. Izvestiya NAN RK. Series biological and medical. no. 6(234), pp. 3-16.
- 22 Tuleukhanov S.T. (2002) Chronofiziologiya: dostizheniy i perspektivy razvitiy [Chronofisiology: achievements and prospects of development]. Vestnik KazNU. Biological series- no 1(16), pp. 94-101.
- 23 Wertheimer L, Hassen A, Delman A., et al. (1974) Cardiovascular circadian rhythm in man. Chronobiology, Igaku Shoin. Tokyo., pp.742-747.
- 24 Zhanabaev Z. Zh, Kozhagulov Y.T, Khokhlov S.A. (2013). Scale invariance criteria of dynamical chaos // International Journal of mathematics and physics 4.-no 2.- pp.29-37.
- 25 Zhanabayev Z. Zh. (2013) Kriterii samopodobiya I samoaffinosti dinamicheskogo haosa [Criteria of self-similarity and self-affinity of dynamic chaos]. Vestnik KazNU. Physical series, no 1(44), pp. 58-66.



6-бөлім  
**МИКРОБИОЛОГИЯ**

---

Раздел 6  
**МИКРОБИОЛОГИЯ**

---

Section 6  
**MICROBIOLOGY**

МРНТИ 34.35.25, 34.35.51

**Гончарова А.В.<sup>1</sup>, Карпенюк Т.А.<sup>2</sup>, Туфуминова Я.С.<sup>3</sup>,  
Карелова Д.С.<sup>4</sup>, Калбаева А.М.<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>кандидат биологических наук, доцент кафедры биотехнологии, e-mail: Alla.Goncharova@kaznu.kz

<sup>2</sup>доктор биологических наук, профессор кафедры биотехнологии, e-mail: Tatyana.Karpenyuk@kaznu.kz

<sup>3</sup>PhD, научный сотрудник, e-mail: yanatufuminova@gmail.com

<sup>4</sup>стажер-исследователь, e-mail: dasha.karelova310197@gmail.com

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

<sup>5</sup>магистр техники и технологии, преподаватель Костанайского государственного университета имени А. Байтурсынова, Казахстан, г. Костанай, e-mail: akalbyeva@list.ru

## **ИЗУЧЕНИЕ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩЕГО ПОТЕНЦИАЛА АССОЦИАЦИЙ БАКТЕРИЙ КАСПИЙСКОГО РЕГИОНА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ**

На современном этапе развития нефтедобывающей и нефтеперерабатывающей промышленностей Казахстана не представляется возможным полностью исключить загрязнения окружающей среды нефтью и нефтепродуктами, что делает актуальным проведение работ, направленных на решение данной экологической проблемы. В качестве эффективного средства охраны окружающей среды хорошо зарекомендовал себя биологический способ очистки. Все чаще для биоремедиации используют аборигенные микроорганизмы конкретных мест загрязнения, поскольку эти культуры адаптированы к сложившимся климатическим и экологическим условиям, что дает ряд преимуществ составленным на их основе консорциумам.

В данной работе изучен углеводородокисляющий потенциал аборигенных бактерий Каспийского региона Казахстана и их ассоциаций, и отобраны наиболее эффективные консорциумы для создания препаратов для биоремедиации.

У 12 штаммов бактерий, выделенных из проб воды и почв, отобранных в районе месторождений Каражанбас и Каламкас, продемонстрировавших стабильный и интенсивный рост на среде с нефтью были изучены характеристики: процент деградации нефти, индекс эмульгирования, гидрофобность клеточной поверхности, антагонистическая активность. На основе данных штаммов составлены ассоциации бактерий, у которых исследован ростовой потенциал и углеводородокисляющая активность в условиях лабораторных модельных экспериментов. Отобраны консорциумы с наибольшей деградирующей способностью: *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21*, *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* и *Ochrobactrum sp.wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54*. Ассоциация *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21* деградировала  $73,1 \pm 6,9\%$  нефтяных углеводородов,  $94,6 \pm 8,6\%$  углеводородов дизельного топлива,  $79,7 \pm 6,2\%$  бензиновых углеводородов. Комплекс *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* разрушал  $96,8 \pm 5,7\%$  фракций нефти,  $97,8 \pm 7,9\%$  фракций дизеля и  $86,2 \pm 7,3\%$  фракций бензина. Консорциум *Ochrobactrum sp.wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54* приводил к уменьшению содержания нефтяных углеводородов на  $83,5 \pm 7,2\%$ , дизельных на  $88,7 \pm 8$  и бензиновых на  $74,3 \pm 6,9\%$ .

Данные бактериальные ассоциации перспективны в качестве биодеструкторов углеводородов и могут использоваться в биоремедиации загрязнений окружающей среды.

**Ключевые слова:** биоремедиация, ассоциации бактерий, углеводородокисляющий потенциал, индекс эмульгирования, гидрофобность клеточной поверхности.

Goncharova A.V.<sup>1</sup>, Karpenyuk T.A.<sup>2</sup>, Tufuminova Ja.S.<sup>3</sup>, Karellova D.S.<sup>4</sup>, Kalbaeva A.M.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>PhD of biological sciences, associated professor of Biotechnology Department, e-mail: Alla.Goncharova@kaznu.kz

<sup>2</sup>doctor of biological sciences, professor of Biotechnology Department, e-mail: Tatyana.Karpenyuk@kaznu.kz

<sup>3</sup>PhD, researcher, e-mail: yanatufuminova@gmail.com

<sup>4</sup>trainee researcher, e-mail: dasha.karellova310197@gmail.com

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>5</sup>teacher of A. Baitursynov Kostanay State University, Kazakhstan, Kostanay, e-mail: akalbyeva@list.ru

### **Studying of the hydrocarbon-oxidizing potential of Caspian region bacteria associations for creation of preparations for bioremediation**

At the present stage of development of the oil-producing and oil-refining industries in Kazakhstan, it is not possible to completely exclude environmental pollution by oil and oil products, which makes it urgent to carry out works aimed to solving this environmental problem. As an effective means of the environment protecting, the biological method of purification has proved itself. Increasingly bioremediation uses aboriginal microorganisms from specific pollution sites, as these cultures are adapted to the prevailing climatic and ecological conditions, which gives a number of advantages to the consortia formed on their basis.

In this work the hydrocarbon-oxidizing potential of native bacteria from Caspian region in Kazakhstan and its associations was studied and the most effective consortia were selected to create preparations for bioremediation.

12 strains of bacteria isolated from water and soil samples collected in the Karazhanbas and Kalamkas fields were demonstrated stable and intensive growth on the medium with oil. In these cultures several characteristics such as oil degradation percentage, emulsification index, cell surface hydrophobicity and antagonistic activity were studied. On the basis of these strains bacterial associations were compiled. The growth potential and hydrocarbon-oxidizing activity under laboratory model experiments were investigated in these associations. The consortia with the greatest degradation capacity were selected: *Achromobacter denitrificans skar13* + *Rhodococcus fascians skar21*, *Roseomonas mucosa wkal24* + *Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* and *Ochrobactrum sp.wkal48* + *Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54*. The association of *Achromobacter denitrificans skar13* + *Rhodococcus fascians skar21* degraded  $73.1 \pm 6.9\%$  of oil hydrocarbons,  $94.6 \pm 8.6\%$  of diesel fuel hydrocarbons,  $79.7 \pm 6.2\%$  of gasoline hydrocarbons. Complex of *Roseomonas mucosa wkal24* + *Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* destroyed  $96.8 \pm 5.7\%$  of oil fractions,  $97.8 \pm 7.9\%$  of diesel fractions and  $86.2 \pm 7.3\%$  of gasoline fractions. The consortium of *Ochrobactrum sp.wkal48* + *Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54* reduced the content of petroleum hydrocarbons on  $83.5 \pm 7.2\%$ , diesel on  $88.7 \pm 8$  and gasoline on  $74.3 \pm 6.9\%$ .

These bacterial associations are promising as bio destructors of hydrocarbons and can be used in bioremediation of environmental pollution.

**Key words:** bioremediation, bacterial associations, hydrocarbon-oxidizing potential, emulsification index, cell surface hydrophobicity.

Гончарова А.В.<sup>1</sup>, Карпенюк Т.А.<sup>2</sup>, Туфуминова Я.С.<sup>3</sup>, Карелова Д.С.<sup>4</sup>, Калбаева А.М.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>биология ғылымдарының кандидаты, биотехнология кафедрасының доценті, e-mail: Alla.Goncharova@kaznu.kz

<sup>2</sup>биология ғылымдарының докторы, биотехнология кафедрасының профессоры,  
e-mail: Tatyana.Karpenyuk@kaznu.kz

<sup>3</sup>PhD, ғылыми қызметкер, e-mail: yanatufuminova@gmail.com

<sup>4</sup>зерттеуші-тәжірибе жинақтаушы, e-mail: dasha.karellova310197@gmail.com

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

<sup>5</sup>А. Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университетінің оқытушысы,  
Қазақстан, Қостанай қ., e-mail: akalbyeva@list.ru

### **Биоремедиацияға арналған препараттарды жасау үшін Каспий аймағындағы бактериялар қауымдастырының көмірсүтегін тотықтыру потенциалын зерттеу**

Қазіргі кезеңде Қазақстандағы мұнай өндіру және мұнай өндеу салаларының дамуына байланысты мұнай мен мұнай өнімдерімен қоршаған ортаның ластануын толығымен алып тастау мүмкін емес. Сол себептен аталған экологиялық проблеманы шешуге бағытталған жұмыстар өзекті болып табылады. Қоршаған ортаның ортаудың ішіндегі құралыретіндегі газартудың биологиялық әдісі өзін жақсы жағынан көрсете білді. Жергілікті биоремедиация үшін нақты ластану участкерінен алынған микроорганизмдер көбіне пайдаланады, ойткени бұл дақылдар сол аймақтың климаттық және экологиялық жағдайларына бейімделген. Сондықтан микроорганизмдердің бұрынғы штаммдарына негізделген консорциумдар бірқатар артықшылықтарға ие.

Берілген жұмыста Қазақстанның Каспий аймағындағы аборигенді бактериялар қауымдастырының көмірсүтекті тотықтыру потенциалы зерттелді және биоремедиацияға арналған

препараттарды жасауға ең тиімді консорциумдар іріктеліп алынды. Қаражанбас және Қаламқас кен орындарында жиналған су және топырақ үлгілерінен алынған және мұнай ортасында тұрақты мен қарқынды өсімді көрсеткен 12 бактериялардың штаммдарының келесі сипаттамалары зерттелді: мұнай деградациясының жылдамдығы, эмульсиялану индексі, жасуша беткейінің гидрофобтығы және антагонистік белсенделілігі. Осы штаммдардың негізінде бактериялық қауымдастықтар құрылды, онда өсу потенциалы және көмірсуге тотықтыру белсенделілігі зертханалық модельдік эксперимент жағдайында зерттелді. Ең үлкен деградация сыйымдылығы бар консорциум іріктеліп алынды: *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21, Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* және *Ochrobactrum sp.wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54*. *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar 21* бірлестігі мұнай көмірсуге тектерінің  $73,1 \pm 6,9\%$ , дизель отыны көмірсуге тектерінің  $94,6 \pm 8,6\%$ , бензин көмірсуге тектерінің  $79,7 \pm 6,2\%$ -ын ыдыратты. *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* бірлестігі май фракцияларының  $96,8 \pm 5,7\%$ , дизель фракцияларының  $97,8 \pm 7,9\%$  және бензин фракцияларының  $86,2 \pm 7,3\%$ -ын жойды. *Ochrobactrum sp.wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54* бірлестігі мұнай көмірсуге тектерінің құрамының  $83,5 \pm 7,2\%$ -на, дизельді  $88,7 \pm 8\%$ -на және бензиннің  $74,3 \pm 6,9\%$ -на төмендеуіне әкелді. Аталған бактериалды қауымдастықтарды көмірсуге тектердің биодеструкторлары ретінде қолданудың келешегі зор болып табылады және қоршаған ортаның ластануын биоремедиациялау үшін пайдалануға ұсынылады.

**Түйін сөздер:** биоремедиация, бактерия қауымдастықтары, көмірсуге тотықтыру потенциалы, эмульсиялану индексі, жасуша беткейінің гидрофобтылығы.

## Введение

Благосостояние всех прикаспийских государств напрямую связано с освоением углеводородных богатств, добыча которых с каждым годом растет, поэтому проблема создания эффективных и доступных средств для устранения опасных нефтяных загрязнений весьма актуальна для Казахстана (Гаджиев, 2003: 245). Биодеградация углеводородов путем целенаправленного применения селективных нефтеокисляющих микроорганизмов – перспективное направление очистки вод и почв от примесей нефти и нефтепродуктов (Бутаев, 2002: 16).

Чаще всего в производстве биопрепаратов нефтеокисляющего действия используют штаммы бактерий, относящиеся к родам *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Stenotrophomonas* (Федоренко, 2016: 6). Основными недостатками существующих биопрепаратов являются: узкий диапазон температур / pH; неустойчивость к росту в соленой среде; неспособность деструктировать нефтепродукты в условиях аридного климата; неспособность микроорганизмов, входящих в состав биопрепаратов, производить биосurfактанты; медленная деградация высоких концентраций нефти и нефтепродуктов; относительно неполная очистка загрязненных

участков и т.д. Поэтому, несмотря на наличие коммерческих бактериальных препаратов, существует необходимость по созданию новых консорциумов и способов их использования в качестве деструкторов углеводородов для очистки объектов окружающей среды от нефтяных загрязнений, как в местах добычи нефти, так и в местах переработки, транспортировки и непосредственного потребления (Айткельдиева, 2007: 252), (Ибатуллина, 2012: 377).

В последнее время активно ведутся работы не только по составлению «искусственных» ассоциаций микроорганизмов – нефтедеструкторов, но по выделению и использованию различных природных нефтедеструкторов, ориентированных на применение в тех или иных климатических условиях. Преимущества применения природных аборигенных микроорганизмов и их сообществ связаны с их устойчивостью к действию биотических факторов, адаптированностью к условиям среды. Именно поэтому для каждого региона перспективно разрабатывать собственный биопрепарат на основе аборигенных штаммов микроорганизмов (Мухаматдьярова, 2016: 3).

Целью настоящего исследования являлось изучение углеводородокисляющего потенциала бактерий, выделенных на территории прибрежной части Казахстанской акватории Каспийского моря и их ассоциаций для отбора наиболее эффективных консорциумов для создания препаратов для биоремедиации.

## Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили пробы воды и почв, отобранные в районе нефтяных месторождений Каражанбас и Каламкас. Объектами исследования – бактерии разных таксономических групп, выделенные из данных проб: *Ochrobactrum sp. skar4*, *Agrobacterium radibacter skar7*, *Achromobacter sp. skar8*, *Achromobacter denitrificans skar13*, *Rhodococcus fascians skar21*, *Roseomonas mucosa wkal24*, *Ochrobactrum sp. wkal48*, *Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49*, *Stenotrophomonas chelatiphaga wkal51*, *Stenotrophomonas sp. wkal52*, *Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54*, *Achromobacter spanius wkar55*. Бактерии были идентифицированы по морфолого-культуральным и физиолого-биохимическим признакам. Видовая принадлежность микроорганизмов была уточнена с помощью генетической идентификации на основании анализа прямой нуклеотидной последовательности фрагмента 16S rRNA гена, с последующим определением нуклеотидной идентичности с последовательностями, депонированными в международной базе данных Gene Bank.

Микроорганизмы культивировали на питательной и минеральной средах: мясопептонный агар (МПА), среда Ворошиловой – Диановой (Егоров, 1976: 89), (Поляк, 2008: 153).

Для получения накопительной культуры бактерий и их ассоциаций штамм/-ы высаживали на минеральную среду Ворошиловой – Диановой (ВД) следующего состава (г/л):  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 1;  $\text{MgSO}_4$  – 0,2;  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  – 0,01;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  – 3 капли (Файзуллина, 2014: 26). Дополнительно в среду вносили  $\text{NaCl}$  в концентрации 7%. В качестве единственного источника углерода добавляли 1% стерильную нефть месторождений Каражанбас и Каламкас (в зависимости от источника отбора проб) или 1% толуол/дизельное топливо/бензин (в зависимости от эксперимента). Для этого посевной материал вносили в колбы объемом 250 мл, добавляли 99 мл среды ВД и затем 1 мл углеводорода. Культивировали на качалке в течение 10 суток (Нетрусов, 2005: 303).

Массовую концентрацию нефтепродуктов определяли флуориметрически на приборе «Флюорат – 02-2М», согласно (ПНД Ф 14.1:2:4.128-98, 2007: 10), (Law, 2014: 2). Суспензию микроорганизмов инкубировали на среде ВД с углеводородом (1% нефть/толуол/дизельное топливо/бензин) в течение 10 суток, затем 100 мл исследуемой пробы переносили в

делительную воронку. Колбу, в которой находилась пробы, ополаскивали 10 мл гексана и его такжесливали в делительную воронку. Смесь экстрагировали встряхиванием в течение 1 минуты. Затем, отстаивали до полного разделения фаз, верхнюю гексановую фракцию отбирали, переносили в кювету и проводили измерение.

Массовую концентрацию нефтепродуктов в пробе вычисляли по формуле:

$$X = (X_{\text{изм}} * V_g * K) / V_{\text{пр}},$$

где  $X$  – массовая концентрация нефтепродуктов в пробе, мг/л;

$X_{\text{изм}}$  – массовая концентрация нефтепродуктов в гексановом экстракте пробы, мг/л;

$V_g$  – объем гексана, взятый для экстракции, мл (10);

$K$  – коэффициент разбавления экстракта (при необходимости). Если экстракт не разбавляли, то  $K = 1$ ;

$V_{\text{пр}}$  – объем пробы, мл (100).

Концентрацию остаточных нефтепродуктов в исследуемой пробе пересчитывали в процентах, принимая контрольную пробу за 100%. Затем, высчитывали концентрацию деструктированных микроорганизмами нефтепродуктов, вычитая концентрацию остаточных нефтепродуктов из 100.

Индекс эмульгирования определяли, как описано в работе (Gupte, 2015: 346). Значение индекса эмульгирования выражали в процентах как отношение высоты эмульсионного слоя (мм) к общей высоте жидкости в пробирке (мм).

Гидрофобную активность измеряли по методу, описанному Rosenberg M. и соавторами в модификации Никовской (Rosenberg, 1980: 31). Процент гидрофобности рассчитывали как отношение разницы между начальным и конечным значением оптической плотности к начальному значению.

Для определения антагонистической активности отобранных штаммов бактерий применяли метод перпендикулярных штрихов (Иркитова, 2012: 42), при котором заранее известный или предполагаемый антагонист засевается полосой по диаметру чашки с питательным агаром. Микроорганизмы, проверяемые по чувствительности к антагонистическому действию, засеваются перпендикулярными штрихами. Степень чувствительности определяется по величине расстояния от центральной полосы культуры антагониста до начала выраженного роста бактерий, засеянных перпендикулярными штрихами.

Оптическую плотность суспензии бактерий определяли нефелометрически на приборе КФК-3-«ЗОМЗ» (фотоколориметрирование при длине волны 590 нм) при культивировании суспензии на жидкой среде при постоянном перемешивании на качалке при 220 об/мин.

Для определения сухой биомассы микроорганизмов культивирование бактерий проводили в чашках Петри, а затем инокулировали их в качестве посевного материала в колбу, содержащую 50 мл минеральной среды ВД с добавлением 0,5 мл углеводорода. На 0-е, 6-е и 10-е сутки культивирования, образцы фильтровали через мембранные фильтры (NC 45, Whatmann®, Germany, 0,45 мкм, диаметр 24 мм). Фильтры с культурой высушивали при температуре 100°C до постоянного веса, охлаждали в эксикаторе с силикагелем при комнатной температуре и взвешивали. В контрольных вариантах фильтры высушивали, охлаждали и взвешивали перед использованием для фильтрации. Разница в весе между первым и вторым взвешиванием фильтров была использована для расчета сухой биомассы микроорганизмов.

Экспериментальный материал был обработан статистически с вычислением среднего арифметического значения и стандартного отклонения.

### Результаты исследования и их обсуждение

Перспективность микроорганизма – нефедеструктора определяется набором его физиолого – биохимических свойств. Прежде всего, это способность интенсивно утилизировать углеводороды нефти, широта спектра их потребления, возможность экономически оправданного масштабирования наработки биомассы, синтез биоПАВ, гидрофобность клеточной стенки и другие свойства.

Бактериальные культуры для составления консорциумов были отобраны по нескольким параметрам: 1) способность к эффективной деградации нефтепродуктов; 2) продуцирование биологических поверхностно-активных веществ при культивировании в нефтезагрязненных средах; 3) показатель гидрофобности клеточной поверхности; 4) отсутствие антагонистической активности при составлении ассоциаций из монокультур.

Изучение данных показателей показало следующие результаты.

Одним из методов количественного химического анализа, применяемым в настоящее время для определения нефтепродуктов, является флуориметрический метод. Он основан на экстракции нефтепродуктов гексаном с последующим измерением интенсивности флуоресценции экстракта, возникающей в результате оптического возбуждения. В формировании аналитического сигнала участвуют ароматические углеводороды. Поскольку они обладают различными условиями возбуждения и регистрации флуоресценции, наблюдается изменение спектра флуоресценции экстракта в зависимости от длины волны возбуждающего света.

В таблице 1 представлены данные по концентрации деструктированных нефтепродуктов в среде культивирования микроорганизмов.

Исследование степени деструкции нефтепродуктов в жидкой минеральной среде показало, что исследуемые штаммы способны разлагать от  $13,4 \pm 0,4\%$  до  $91,1 \pm 4,5\%$  ароматических углеводородов нефти. Так, наименьшую способность к деструкции продемонстрировали культуры *Achromobacter spanius wkar55*, *Achromobacter sp. skar8* и *Rhodococcus fascians skar21*, процент деградации которых варьировал в интервале от  $13,4 \pm 0,4$  до  $26,6 \pm 3,6\%$ . В то время как остальные культуры были способны разлагать достаточно высокое количество углеводородов нефти месторождений после 7-10 суток культивирования – более  $45,2 \pm 3,3\%$ . Наибольшие значения наблюдались у культур *Roseomonas mucosa wkal24*, *Ochrobactrum sp. wkal48* и *Sphingobacterium kita-hiroshimense wkar54* ( $67,7 \pm 5,8$  –  $91,1 \pm 4,5\%$ ).

Способность микроорганизмов расти на углеводородном субстрате, как правило, связана с синтезом ими биоПАВ, облегчающих поглощение углеводородов клетками бактерий за счет диспергирования нефтепродуктов и увеличения биодоступности углеводородов (Кайырманова, 2016: 145). Первичная оценка способности микроорганизмов образовывать поверхностно-активные вещества оценивается по эмульгирующей активности (индекс эмульгирования), который основывается на свойстве ПАВ образовывать эмульсию при встряхивании культуральной жидкости микроорганизмов с углеводородом (Бектурова, 2013: 56). Согласно, данным литературы микроорганизмы, имеющие индекс эмульгирования больше 50%, считаются перспективным продуcentами поверхностно-активных веществ (Desai, 1997: 49).

**Таблица 1** – Характеристики отобранных штаммов микроорганизмов

| Штамм   | % деградации нефтепродуктов | Индекс эмульгирования, % | Прирост гидрофобности, % |
|---|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <i>Ochrobactrum sp. skar4</i>                   | 45,2±3,3                    | 50,0±1,7                 | 52,3                     |
| <i>Agrobacterium radoibacter skar7</i>          | 49,7±3,5                    | 52,7±0,9                 | 10,7                     |
| <i>Achromobacter sp. skar8</i>                  | 21,5±1,4                    | 50,0±1,9                 | 56,3                     |
| <i>Achromobacter denitrificans skar13</i>       | 47,1±3,7                    | 46,9±2,2                 | 44,3                     |
| <i>Rhodococcus fascians skar21</i>              | 26,6±3,6                    | 50,0±4                   | 35,6                     |
| <i>Roseomonas mucosa wkal24</i>                 | 91,1±4,5                    | 50,8±2,3                 | 46,1                     |
| <i>Ochrobactrum sp. wkal48</i>                  | 67,7±5,8                    | 49,1±0,9                 | 7,0                      |
| <i>Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49</i>     | 48,3±3,6                    | 53,6±5,4                 | 49,5                     |
| <i>Stenotrophomonas chelatiphaga wkal51</i>     | 47,5±3,7                    | 43,1±5,3                 | 29,4                     |
| <i>Stenotrophomonas sp. wkal52</i>              | 57,6±5,6                    | 47,7±1                   | 6,7                      |
| <i>Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54</i> | 74,1±6,1                    | 43,9±1,5                 | 21,4                     |
| <i>Achromobacter spanius wkar55</i>             | 13,4±0,4                    | 49,8±3,8                 | 51,9                     |

Результаты измерения индекса эмульгирования показали хороший потенциал большинства культур к образованию эмульсии нефти, что отражено в таблице 1.

Для всех бактерий значение индекса эмульгирования превышало 40%. Максимальными показателями обладали штаммы *Agrobacterium radoibacter skar7* – 52,7±0,9 и *Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* – 53,6±5,4%. Минимальное значение данного показателя было у культур *Stenotrophomonas chelatiphaga wkal51* – 43,1±5,3 и *Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54* – 43,9±1,5%. У оставшихся штаммов индекс эмульгирования был в пределах 46,9±2,2 – 50,8±2,3%.

Способность микроорганизмов деградировать углеводороды в значительной степени определена особенностями строения клеточной оболочки (Tsitko, 2003: 853). Известно, что нефтеокисляющие бактерии способны к непосредственному контакту с углеводородом за счет гидрофобной клеточной поверхности, обусловленной наличием в ней липидных компонентов (Karaseva, 2012: 3). При культивировании на углеводородных субстратах нередко происходят изменения в составе липидных комплексов клеточной оболочки нефтеокисляющих бактерий, вследствие чего меняется гидрофобность клеточной поверхности. Для прямого контакта клеток и углеводородов необходима повышенная гидрофобность поверхности клеток, способствующая проникновению в клетку углеводородов в виде субмикроскопических капель. А

увеличение гидрофобности клеток приводит к снижению уровня поверхностного натяжения и росту эмульгирующей активности жидких культур (Волченко, 2006: 7).

Результаты определения показателя гидрофобности клеточной стенки изучаемых культур микроорганизмов представлены в таблице 1.

При росте в присутствии нефти гидрофобность клеточной стенки увеличивалась к концу культивирования у всех культур, однако прирост гидрофобности изменялся в широких пределах – от 6,7 % у штамма *Stenotrophomonas sp. wkal52* до 56,3 % у штамма *Achromobacter sp. skar8*. Незначительное увеличение индекса гидрофобности – до 10,7 % наблюдалось у культур *Agrobacterium radoibacter skar7*, *Ochrobactrum sp. wkal48*, *Stenotrophomonas sp. wkal52*. В то время, у культур *Ochrobactrum sp. skar4*, *Achromobacter sp. skar8* и *Achromobacter spanius wkar55* наблюдалось максимальное увеличение показателя гидрофобности – более 50 %. Остальные культуры имели промежуточные значения. Активный прирост данного показателя говорит о том, что изначально, вне контакта с гидрофобным субстратом, клеточная поверхность была гидрофильна, что удобно с точки зрения манипуляций с биомассой, а повышение ее гидрофобности в процессе культивирования на среде с нефтью обеспечило создание условий для эффективной ассимиляции и поглощения углеводородов как единственного источника углерода и энергии (Karaseva, 2012: 3).

Далее была изучена антагонистическая активность отобранных перспективных штаммов бактерий.

Микроорганизмы в естественных биоценозах находятся в определенных взаимоотношениях друг с другом. Явление антагонизма широко распространено в природных сообществах микроорганизмов. Среди бактерий антагонизм был выявлен у *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Serratia marcescens*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus brevis* и других. Также антагонисты встречаются среди группы неспоровых грамотрицательных бактерий и у таких специфических групп, как молочнокислые бактерии, уробактерии и некоторые другие виды. Наибольшее число антагонистов с широким спектром действия обнаружено среди актиномицетов. Антагонизм может проявляться по разным причинам: исчерпание питательных веществ, физико-химические изменения среды – подкисление или подщелачивание, потребление кислорода, выделение в среду протеолитических ферментов, токсических веществ, антибиотиков (Гоготов, 2006: 108).

Для разработки высокоэффективного консорциума на основе активных углеводородокисляющих микроорганизмов обязательным условием является исключение возможности антагонистических взаимоотношений между микробными культурами.

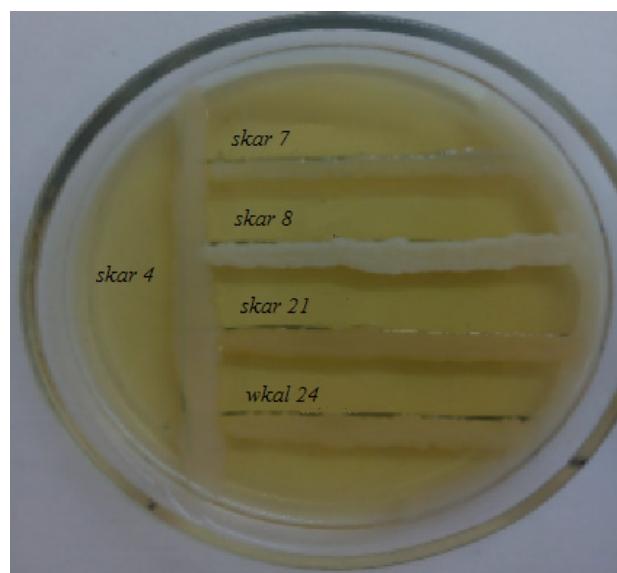
В ходе изучения конкурирующих взаимодействий штаммов-нефтедеструкторов с использованием метода штрихового посева было обнаружено, что все отобранные культуры не оказывают антагонистического влияния на рост друг друга (данные не приведены) и могут быть использованы для создания на их основе ассоциаций. Типичная картина эксперимента представлена на рисунке 1.

Между гетеротрофными микроорганизмами, способными окислять нефтепродукты, существует кооперативная связь, которая определяет интенсивность и степень бактериальной деградации нефтяных загрязнений до конечных продуктов окисления – углекислого газа и воды (Волченко, 2007: 126), что подтверждается результатами данного исследования.

После проведенного теста на антагонистическую активность нами были составлены ассоциации бактерий.

При создании консорциумов могут использоваться как клетки отдельных штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов (например

«Путидойл», «Олеворин»), так и бактериальные ассоциации («Деворойл»). Недостатком использования монокультур является менее эффективная деструкция нефтепродуктов, а использование большого количества микроорганизмов в одном комплексе затрудняет процесс наработки биомассы биопрепарата (Olivera, 2003: 71), (Киреева, 2007: 58), (Андреева, 2006: 46). В большинстве случаев, для повышения эффективности биодеградации нефти и нефтепродуктов, используются смешанные культуры, состоящие из двух и более штаммов микроорганизмов.



**Рисунок 1 – Тест на антагонистическую активность отобранных штаммов бактерий**

На этой основе, нами были созданы 6 консорциумов из 12 активных углеводородокисляющих непатогенных штаммов микроорганизмов, по 2 штамма в каждом консорциуме, взятых в соотношении 1:1 по сухой биомассе:

- *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp. skar8,*
- *Agrobacterium radoibacter skar7 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal51,*
- *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21,*
- *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49,*
- *Ochrobactrum sp. wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54,*
- *Stenotrophomonas sp. wkal52 + Achromobacter spanius wkar55.*

У созданных консорциумов была изучена динамика роста (рисунок 2), оцененная по пока-

зателю прироста оптической плотности в среде культивирования микроорганизмов.

Все сформированные консорциумы имели положительную динамику роста в течение 7 суток выращивания на среде ВД с добавлением 1% нефти в качестве единственного источника углерода. Наибольший прирост оптической плотности в среде культивирования наблюдался у консорциумов *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21*, *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* и *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp. skar8*. Оптическая плотность ассоциации *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21* выросла в 7,7 раз по сравнению с начальным значением и достигла 767% к концу

культивирования. Оптическая плотность в среде культивирования биокомплекса *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* достигла 634% к концу культивирования, что в 6,3 раза больше по сравнению с начальным значением. Консорциум *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp. skar8* к 7 суткам культивирования имел оптическую плотность, составившую 434% от начального показателя. Оптическая плотность оставшихся комплексов к концу культивирования возрастила незначительно – в 1,5-2,5 раза. Наименьшими значениями характеризовались консорциумы *Agrobacterium radioibacter skar7 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal51* и *Stenotrophomonas sp.wkal52 + Achromobacter spanius wkar55*.

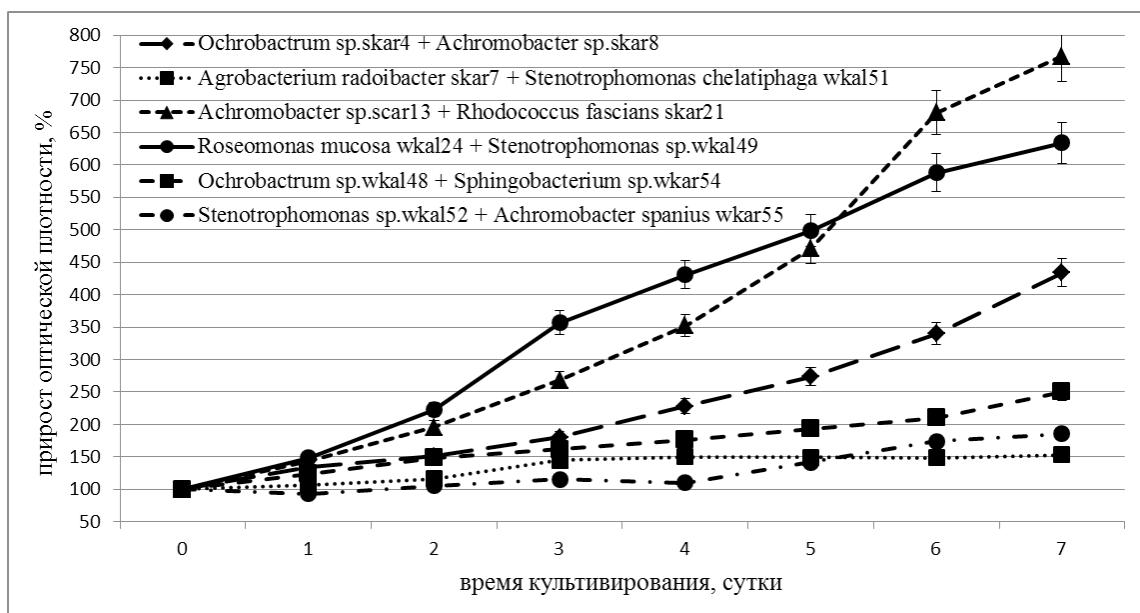
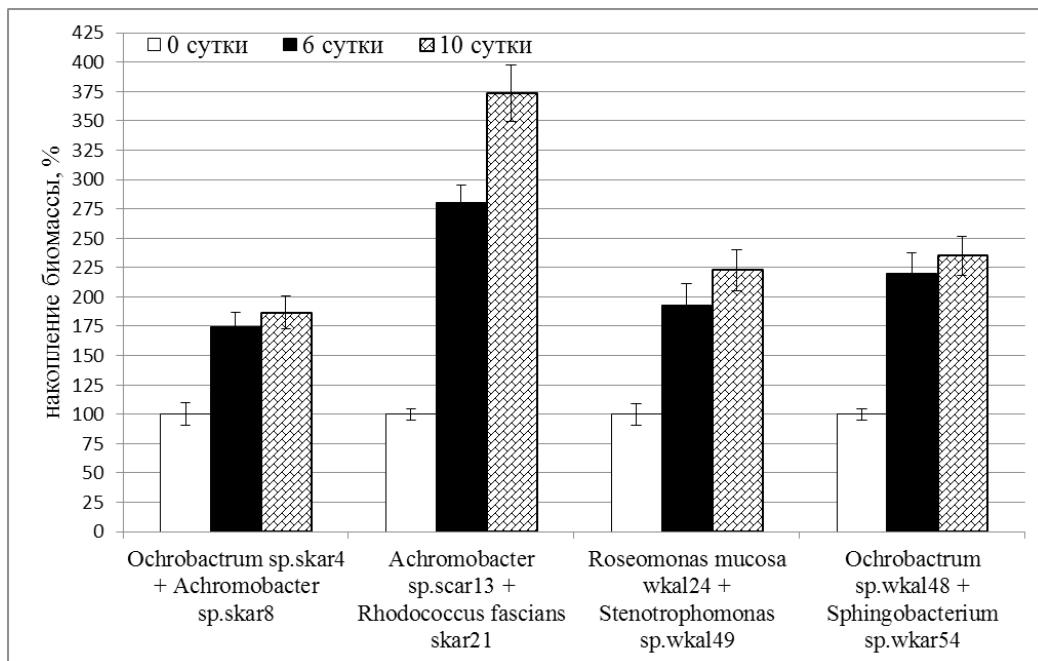


Рисунок 2 – Динамика роста консорциумов микроорганизмов на среде ВД с 1% нефтью

Исходя из данных по оптической плотности, в ассоциаций, имевших преимущества в росте на среде с нефтью (*Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp. skar8*, *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21*, *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49*, *Ochrobactrum sp. wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54*), был изучен углеводородокисляющий потенциал по двум параметрам – динамике накопления биомассы и количеству остаточной нефти и нефтепродуктов (бензина, дизельного топлива, толуола). На-

чальная биомасса, соответствующая оптической плотности 0,2, была принята за 100%.

При выращивании на среде ВД с добавлением в качестве единственного источника углерода 1% нефти все консорциумы бактерий имели положительную динамику накопления биомассы (рисунок 3). Наибольший прирост биомассы наблюдался у *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21* на 10 сутки, биомасса увеличилась в 3,7 раза по сравнению с начальным значением. У остальных ассоциаций биомасса увеличилась в 1,8-2,3 раза (рисунок 3).



**Рисунок 3 – Динамика накопления биомассы бактериями при выращивании на среде ВД с добавлением 1% нефти**

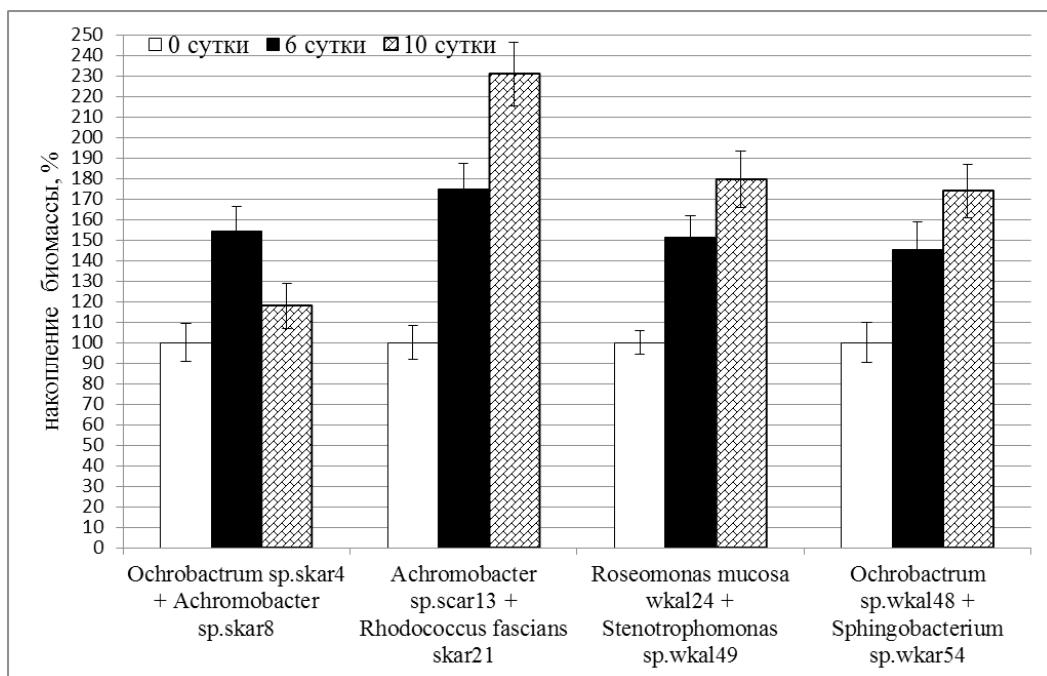
На рисунке 4 показана динамика накопления биомассы консорциумами при выращивании на среде ВД с добавлением 1% дизельного топлива.

При культивировании на среде с дизельным топливом для ассоциаций *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21*, *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* и *Ochrobactrum sp. wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54* наблюдался прирост биомассы, которая к 10 суткам культивирования микроорганизмов превысила начальные значения в 2,3; 1,8 и 1,7 раз, соответственно (рисунок 4). Для консорциума *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp. skar8* максимум прироста биомассы наблюдался на 6 сутки культивирования, значение возросло в 1,5 раза по сравнению с начальным. Это может быть связано с тем, что дизельное топливо является менее токсичным и более легкоусваиваемым субстратом по сравнению с нефтью, также штаммы данной ассоциации могут разрушать преимущественно фракции, содержащиеся в дизеле, тем самым утилизировав его за более короткий промежуток времени. Наибольшую биомассу к концу культивирования накопил консорциум *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21* –  $1,94 \pm 0,18$  г/л, а наименьшую – *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp. skar8* –  $1,32 \pm 0,18$  г/л.

При культивировании на среде с бензином у трех консорциумов (кроме *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp. skar8*) наблюдался прирост биомассы в течение всего периода культивирования (рисунок 5). Так, у *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21* биомасса увеличилась в 1,3 раза, у *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* и у *Ochrobactrum sp. wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54* в 1,5 раза по сравнению с начальным значением. Для ассоциации *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp. skar8* достоверных изменений в количестве биомассы за весь период культивирования выявлено не было.

На рисунке 6 представлены данные по динамике накопления биомассы ассоциациями при выращивании на среде ВД с добавлением 1% толуола.

В присутствии в среде культивирования толуола, как единственного источника углерода и энергии, рост всех отобранных консорциумов микроорганизмов был незначительным по сравнению с ростом на нефти (рисунок 6), а в консорциуме *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp. skar8* толуол полностью подавлял ростовые процессы. Это может быть связано с тем, что циклические углеводороды, к которым относится толуол, являются одними из наиболее



**Рисунок 4 – Динамика накопления биомассы бактериями при выращивании на среде ВД с добавлением 1% дизельного топлива**

быстро действующих токсичных нефтепродуктов, а также в связи с отсутствием в бактериальной плазмиде гена, отвечающего за разложение толуола (Логинова, 2010: 131), (Ветрова, 2008: 188).

Для консорциума *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21* в течение всего периода культивирования большого прироста биомассы не наблюдалось (увеличилась на 26% по сравнению с начальным значением), к концу культивирования биомасса ассоциации составила  $1,3 \pm 0,2$  г/л. В биокомплексе *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* биомасса увеличилась на 56% по сравнению с начальной и достигла значения  $1,06 \pm 0,07$  г/л. У консорциума *Ochrobactrum sp. wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54* биомасса достигла максимального значения к 6 суткам культивирования – увеличилась на 54%, тогда как к концу культивирования ее прирост составил 42% от исходного значения ( $0,77 \pm 0,1$  г/л).

На рисунке 7 представлены данные флуориметрического измерения остаточного содержания нефтепродуктов в среде ВД с 1% углеводородом после роста на ней консорциумов микроорганизмов.

Количество углеводородов, деструктированных консорциумами микроорганизмов при росте

на среде с нефтью, варьировало от  $59,3 \pm 5,2$  % у *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp.skar8* до  $96,8 \pm 5,7$  % у *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* (рисунок 7).

Определение остаточного содержания компонентов дизельного топлива в среде после 10 суток культивирования в ней, показало что, у ассоциации *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp.skar8* процент разрушения дизельного топлива был наименьшим и равнялся  $76,5 \pm 5,5$ . У консорциумов *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21* и *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* показатель деструкции дизельного топлива был самым высоким и составил в среднем  $96,2 \pm 8,6$  %. Процент разрушения дизеля консорциумом *Ochrobactrum sp. wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54* составил  $88,7 \pm 8$ .

Наибольший показатель деградации бензина наблюдался у консорциумов *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21* –  $79,7 \pm 6,2$  % и у *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* –  $86,2 \pm 7,3$  %, а наименьший –  $44,6 \pm 3,1$  % у *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp.skar8* (рисунок 7).  $74,3 \pm 6,9$  % – составил данный показатель у биокомплекса *Ochrobactrum sp. wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54*.

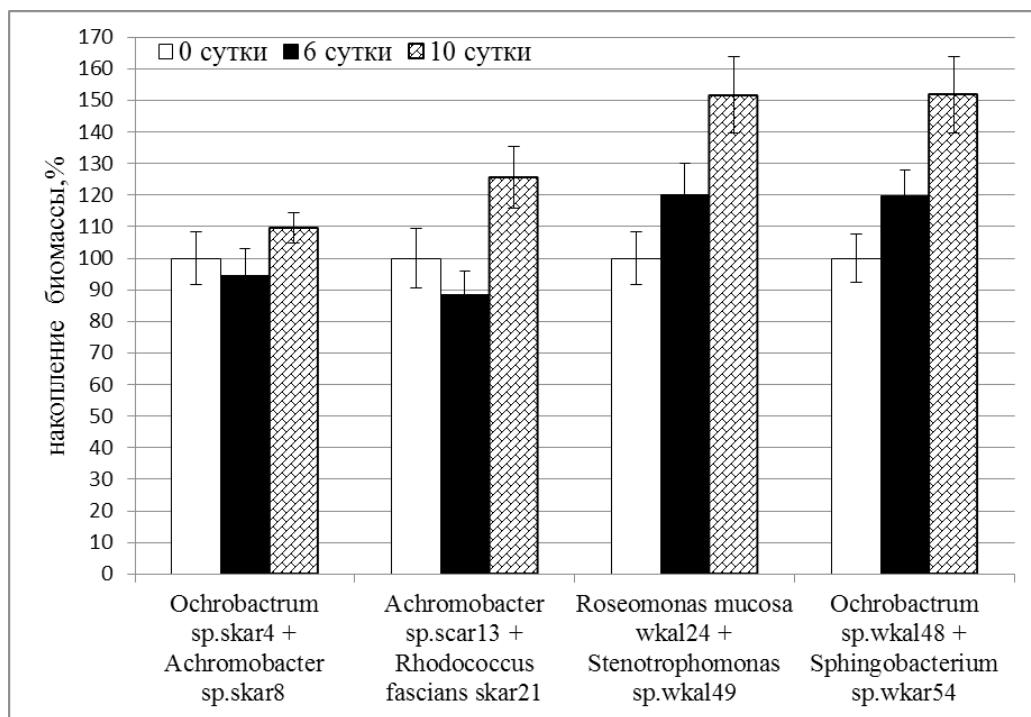


Рисунок 5 – Динамика накопления биомассы бактериями при выращивании на среде ВД с добавлением 1% бензина

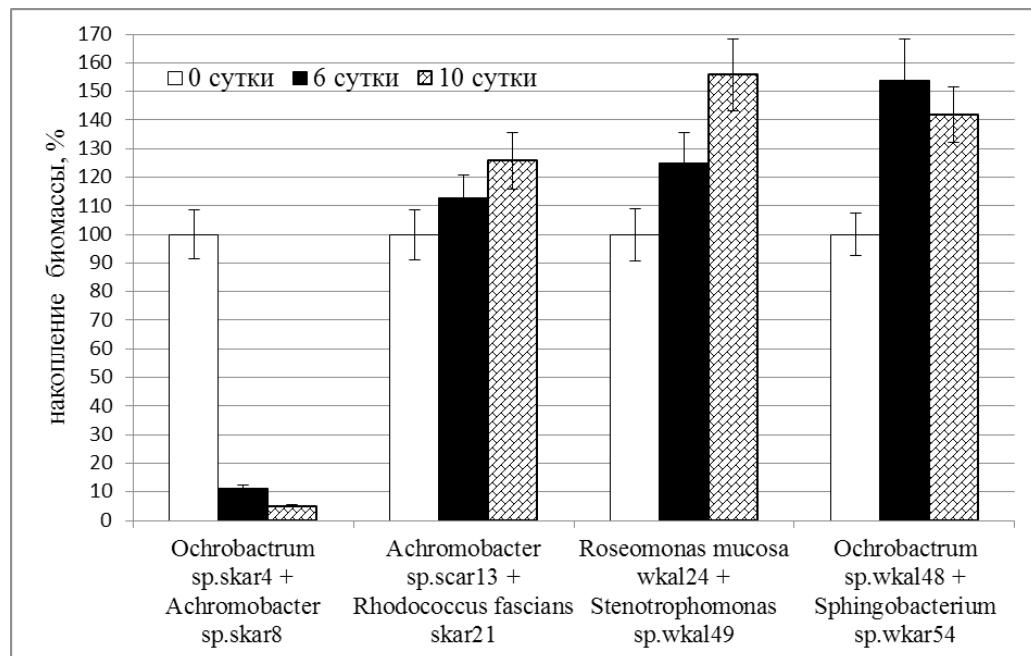


Рисунок 6 – Динамика накопления биомассы бактериями при выращивании на среде ВД с добавлением 1% толуола

Процент разрушения толуола в консорциумах был наименьшим по сравнению с другими углеводородами и не превышал 26, что, вероятно, связано с его высокой токсичностью для живых

клеток. Наибольшую деструкцию толуола вызывал консорциум *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* – 25,1±2,2 %, а наименьшим показателем характеризовался кон-

сорциум *Ochrobactrum sp. skar4 + Achromobacter sp.skar8* –  $6,4 \pm 1,1\%$ . У остальных ассоциаций % деструкции толуола варьировал от  $12,7 \pm 1,1$  до  $17,5 \pm 1,3\%$  к 10 суткам культивирования.

Таким образом, показано, что наибольшими показателями прироста биомассы и процента

деструкции нефтепродуктов обладали 3 консорциума: *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21*, *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* и *Ochrobactrum sp. wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54*.

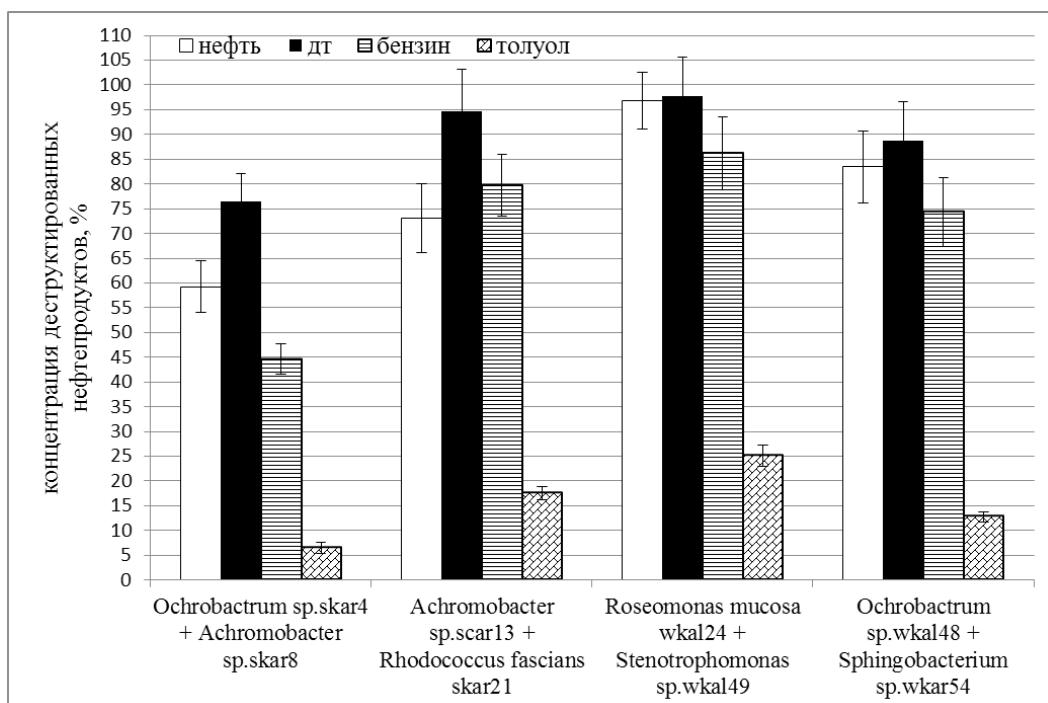


Рисунок 7 – Концентрация деструктированных микроорганизмами нефтепродуктов при культивировании в течение 10 суток на среде ВД с 1% углеводородом

## Заключение

Бактерии созданных консорциумов являются постоянными и доминирующими компонентами естественных биоценозов нефтяных загрязнений Казахстанской территории Каспийского моря, что позволяет избегать необходимости учета климатических условий данного региона, свойств добываемой Казахстанской нефти, проблем взаимодействий и уживаемости применяемых микроорганизмов.

Высокая эмульгирующая активность отобранных бактерий говорит о доступности нефтепродуктов как источника питательных веществ для клеток микроорганизмов, а высокая гидрофобная активность говорит о значительной аффинности клеточной стенки бактерий и субстрата, то есть нефтепродуктов, что облегчает

процесс взаимодействия клеток с молекулами нефтепродуктов и, соответственно, способствует биодеградации углеводородов отобранными микроорганизмами.

Высокий процент разрушения различных классов углеводородов, а также значительный прирост биомассы в течение 10 суток культивирования говорит о высокой деградирующей способности консорциумов бактерий *Achromobacter denitrificans skar13 + Rhodococcus fascians skar21*, *Roseomonas mucosa wkal24 + Stenotrophomonas chelatiphaga wkal49* и *Ochrobactrum sp. wkal48 + Sphingobacterium kitahiroshimense wkar54*.

Таким образом, высокий углеводородокисляющий потенциал позволяет использовать данные бактериальные ассоциации в качестве основы для создания препаратов для биоремедиации нефтезагрязнений Каспийского региона.

## Литература

- 1 Гаджиев А.А., Шихшабеков М.М., Абдурахманов Г.М., Мунгиеv А.А.. Анализ экологического состояния Каспия и проблем воспроизводства рыб. - М.: Наука, 2003. - 424 с.
- 2 Бутаев А.М., Кабыш Н.Ф. О роли углеводородокисляющих микроорганизмов в процессах самоочищения прибрежных вод дагестанского побережья Каспийского моря от нефтяного загрязнения // Вестник Дагестанского научного центра РАН. - 2002. - №11. - С. 15-19.
- 3 Федоренко В.Н. Выделение и оценка биотехнологического потенциала микроорганизмов для утилизации нефтяных загрязнений Северных морей: афореф. дис....к. б. н.: 03.02.03, 03.01.06. – Москва: Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 2016. – 27 с.
- 4 Айткельдиева С.А., Файзуллина Э.Р. Изучение углеводородокисляющей активности микроорганизмов, выделенных из нефтезагрязненных почв Атырауской области (Казахстан) // Материалы II международной научной конференции «Современные проблемы загрязнения почв». - Москва: Изд-во МГУ, 2007. - Т. 2. - С. 252-256.
- 5 Ибатуллина И.З., Семенова Т.А., Яковлев А.С. Особенности биодеградации нефти в лугово- каштановых почвах Ставропольского края // Почвоведение. - 2012. - №3. - С. 376-384.
- 6 Мухаматдьярова С.Р. Консорциум углеводородокисляющих микроорганизмов как основа биопрепарата для очистки отходов нефтеперерабатывающей промышленности: афореф. ...к. б. н.: 03.02.03. - Уфа: Уфимский государственный нефтяной технический университет, 2016. - 28 с.
- 7 Егоров Н.С. Практикум по микробиологии. – М.: Изд-во МГУ, 1976. - С. 56 – 124.
- 8 Поляк М., Сухаревич В., Сухаревич М. Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008. – 352 с.
- 9 ПНД Ф 14.1:2:4.128-98. Методика выполнения измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах природных, питьевых, сточных вод флуориметрическим методом на анализаторе жидкости «Флюорат-02». – Москва, 2007. - 23 с.
- 10 Law R. The use of fluorimetric and other techniques for the in-situ determination of hydrocarbons in the water column // Technical Guideline. - 2014. – №. 5. - P. 1-4.
- 11 Gupte A., Sonawdecar S. Study of oil degrading bacteria isolated from oil contaminated sites // International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology. - 2015. - Vol. 3, No. 2. - P. 345-349.
- 12 Rosenberg M., Gutnick D., Rosenberg E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity // FEMS Microbiology Letters. - 1980. - Vol. 9, No. 1. - P.29-33.
- 13 Иркитова А.Н., Каган Я.Р., Соколова Г.Г. Сравнительный анализ методов определения антиагонистической активности молочнокислых бактерий // Известия Алтайского Государственного университета. – 2012. - № 3-1. – С. 41-44.
- 14 Кайырманова Г.К., Мустапаева Ж.О., Ерназарова А.К., Амангаликызы А. Эколо-функциональные свойства аборигенных микроорганизмов нефтепластов // East European Scientific journal. - 2016. - №7. - С. 145-149.
- 15 Бектурова А.Ж., Масалимов Ж.К., Мархаметова Ж.Ж., Еркасов Р.Ш., Оразбаева Р.С., Дарибай А.О. Эмульгирующая активность некоторых углеводородокисляющих микроорганизмов // Вестник КазНУ. Серия биологическая. - 2013. - №3/1 (59). - С.56-58.
- 16 Desai J., Banat I. Microbial production of surfactants and their commercial potential // Microbiol and Molecular Biology Reviews. - 1997 - Vol. 61. - No. 1. - P. 47-64.
- 17 Tsitko I.V., Zaitsev G.M., Lobanok A.G., Salkinoja-Salonen M.S. Effect of aromatic compounds on cellular fatty acid compositing of Rhodococcus opacus // Applied and Environmental Microbiology. - 2003. - Vol.65.- No. 2. - P. 853-855.
- 18 Karaseva E.V., Volchenko N.N., Khudokormov A.A., Samkov A.A., Karasev S.G., Batina E.V., Samkova S.M. Oil-degrading strain Rhodococcus erythropolis B2 as a base of biopreparation used for elimination of hydrocarbon contaminates and soil recultivation // KubNAU research journal. - 2012. - Vol. 83(09).- P. 1-14.
- 19 Волченко Н.Н., Карапес С.Г., Нимченко Д.В., Карапеса Э.В. Гидрофобность клеток как критерий отбора бактерий-продуцентов биосурфактантов // Микробиология. - 2007. - Т. 76. - № 1. - С. 126-128.
- 20 Гоготов И.Н., Белоножкин С.В., Ходаков Р.С., Шкидченко А.Н. Биосурфактанты: продуценты, свойства и практическое использование // Материалы 3-й Международной конференции «Международное сотрудничество в биотехнологии: ожидания и реальность». – Пущино: Биоресурсы и экология, 2006. – С. 104–111.
- 21 Волченко Н.Н. Влияние условий культивирования на поверхностно-активные свойства углеводородокисляющих актинобактерий: афореф. ... к. б. н.: 03.00.23. - Ставрополь: Кубанский государственный университет, 2006. – 21 с.
- 22 Olivera N.L., Commendatore M.G., Moran A.C., Esteves J.L. Biosurfactant-enhanced degradation of residual hydrocarbons from ship bilge wastes // Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. - 2003. - No. 25. - P. 70-73.
- 23 Киреева Н.А., Рафикова Г.Ф. Разнообразие спорообразующих микроорганизмов в условиях нефтяного загрязнения почвы // Тезисы международной конференции «Микроорганизмы и биосфера». – Москва, 2007. – С. 58-59.
- 24 Логинова О.О., Данг Т.Т., Белоусова Е.В., Шалимова С.С., Шевченко М.Ю., Грабович М.Ю. Биодеградация нефтепродуктов в почве штаммами микроорганизмов рода *Acinetobacter* // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: межрегиональный сборник научных работ. - 2010. - Вып. 12. – С. 129–136.
- 25 Ветрова А.А., Овчинникова А.А., Филонов А.Е., Пунгус И. Ф., Боронин А. М. Деструкция нефти бактериями рода *Pseudomonas*, содержащими различные плазмиды биодеградации // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. - 2008. - Вып. 2. - С. 186–193.

26 Андреева И.С., Емельянова И.К., Загребельный С.Н. Психротолерантные штаммы-нефтедеструкторы для биоремедиации почв и водной среды // Биотехнология. – 2006. – № 1. – Р. 46-48.

27 Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М., Колотилова Н.Н. и др. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студентов высших учебных заведений. - М.: Академия, 2005. - 608 с.

28 Файзуллина Э.Р., Аузэрова О.Н., Татаркина Л.Г., Свирко Е.А., Даuletova А.А., Айткельдиева С.А. Нефтеокисляющая активность и идентификация микроорганизмов, выделенных из Каспийского моря // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – 2014. - №3. - С. 25-29.

#### References

- 1 Aitkeldieva S.A., Faizullina E.R. (2007) Izuchenie uglevodorodokislyayushei aktivnosti mikroorganizmov, videlennikh iz neftezagryaznenikh pochv Atirauskoi oblasti (Kazakhstan) [Study of the hydrocarbon-oxidizing activity of microorganisms isolated from oil-contaminated soils of the Atyrau region (Kazakhstan)]. Proceedings of the II International Scientific Conference "Sovremennye problemy zagryazneniya pochv". Moskva: Izd-vo MGU, is. 2, p. 252-256.
- 2 Andreeva I.S., Emelyanova I.K., Zagrebelyn S.N. (2006) Psikhrotolerantnye shtammy-neftedestruktory dlya bioremediatsii pochv i vodnoi sredy [Psychrotolerant strains-oil destructors for bioremediation of soils and aquatic environments]. Biotekhnologiya, no. 1, p. 46-48.
- 3 Bekturova A.Zh., Masalimov Zh.K., Markhametova Zh.Zh., Erkasov R.Sh., Orazbaeva R.S., Daribai A.O. (2013) Emulgiruyushaya aktivnost nekotorikh uglevodorodokislyayushikh mikroorganizmov [Emulsifying activity of some hydrocarbon-oxidizing microorganisms]. Vestnik KazNU. Biologicheskaya seriya, no. 3/1 (59), p.56-58.
- 4 Butaev A.M., Kabysh N.F. (2002) O roli uglevodorodokislyayushikh mikroorganizmov v protsesakh samoochishcheniya priobrezhnikh vod dagestanskogo poberezhya Kaspiiskogo morya ot neftyanogo zagryazneniya [About role of hydrocarbon-oxidizing microorganisms in the self-purification processes of coastal waters of the Dagestan coast of the Caspian Sea from oil pollution]. Vestnik Dagestanskogo nauchnogo tsentra RAN, no. 11, p. 15-19.
- 5 Desai J., Banat I. (1997) [Microbial production of surfactants and their commercial potential]. Microbiol and Molecular Biology Reviews, vol. 61. no. 1, p. 47-64.
- 6 Egorov N.S. (1976) Praktikum po mikrobiologii [Workshop on microbiology]. Moskva: Izd-vo MGU, p. 56 - 124.
- 7 Environmental regulatory document of the federal level 14.1: 2: 4.128-98 (2007) Metodika vypolneniya izmerenii massovoi kontsentratsii nefteproduktov v probakh prirodnykh, pityevykh, stochnykh vod fluorimetricheskim metodom na analizatore zhidkosti Flyuorat-02 [Method for performing measurements of mass concentration of oil products in samples of natural, drinking, waste water by fluorimetric method on the Fluorat-02 liquid analyzer]. Moskva, 23 p.
- 8 Faizullina E.R., Auezova O.N., Tatarkina L.G., Svirko E.A., Dauletova A.A., Aytkeleyeva S.A. (2014) Nefteokislyayushaya aktivnost i identifikatsiya mikroorganizmov, vydelennykh iz Kaspiiskogo morya [Oil-oxidizing activity and identification of microorganisms isolated from the Caspian Sea]. Izvestiya NAN RK. Seriya biologicheskaya i meditsinskaya, no. 3, p. 25-29.
- 9 Fedorenko V.N. (2016) Videlenie i otsenka biotekhnologicheskogo potentsiala mikroorganizmov dlya utilizatsii neftyanikh zagryaznenii Severnykh morei [Isolation and assessment of the biotechnological potential of microorganisms for the utilization of oil pollution in the North Seas]. Abstract of the diss. ... c.b.s.: 03.02.03, 03.01.06, Moskva: Moskovskii gosudarstvennyi universitet imeni M.V. Lomonosova, 27 p.
- 10 Gadzhiev A.A., Shikhshabekov M.M., Abdurakhmanov G.M., Mungiev A.A. (2003) Analiz ekologicheskogo sostoyaniya Kaspiya i problemi vosproizvodstva rib [Analysis of the Caspian Sea ecological state and problems of fish reproduction]. Moskva: Nauka, 424 p.
- 11 Gogotov I.N., Belonozhkin S.V., Khodakov R.S., Shkidchenko A.N. (2006) Biosurfaktanty: produtsenty, svoistva i prakticheskoe ispolzovanie [Biosurfactants: producers, properties and practical use]. Proceedings of the 3rd International Conference "Mezhdunarodnoe sotrudnichestvo v biotekhnologii: ozhidaniya i realnost", Pushino: Bioresursi i ekologiya, p. 104-111.
- 12 Gupte A., Sonawdecar S. (2015) [Study of oil degrading bacteria isolated from oil contaminated sites]. International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology, vol. 3, no. 2, p. 345-349.
- 13 Ibatullina I.Z., Semenova T.A., Yakovlev A.S. (2012) Osobennosti biodegradatsii nefti v lugovo-kashtanovikh pochvakh Stavropolskogo kraya [Features of oil biodegradation in meadow chestnut soils of the Stavropol Territory]. Pochvovedenie, no. 3, p. 376-384.
- 14 Irkitova A.N., Kagan Ya.R., Sokolova G.G. (2012) Sravnitelnyi analiz metodov opredeleniya antagonisticheskoi aktivnosti molochnokislykh bakterii [Comparative analysis of methods for determining the antagonistic activity of lactic acid bacteria]. Izvestiya Altaiskogo Gosudarstvennogo universiteta, no. 3-1, p. 41-44.
- 15 Kaiyrmanova G.K., Mustapaeva Zh.O., Ernazarova A.K., Amangalikyzy A. (2016) Ekologo-funktionalnye svoistva aborigennikh mikroorganizmov nefteplastov [Ecological and functional properties of aboriginal microorganisms of oil-layers]. East European Scientific journal, no. 7, p. 145-149.
- 16 Karaseva E.V., Volchenko N.N., Khudokormov A.A., Samkov A.A., Karasev S.G., Batina E.V., Samkova S.M. (2012) [Oil-degrading strain Rhodococcus erythropolis B2 as a base of biopreparation used for elimination of hydrocarbon contaminates and soil recultivation]. KubNAU research journal, vol. 83 (09), p. 1-14.
- 17 Kireeva N.A., Rafikova G.F. (2007) Raznoobrazie sporoobrazuyushikh mikroorganizmov v usloviyah neftyanogo zagryazneniya pochvy [Variety of spore-forming microorganisms in conditions of oil contamination of soil]. Abstracts of the international conference "Mikroorganizmy i biosfera", Moskva, p. 58-59.

- 18 Law R. (2014) [The use of fluorimetric and other techniques for the in-situ determination of hydrocarbons in the water column]. Technical Guideline, no. 5, p. 1-4.
- 19 Loginova O.O., Dang T.T., Belousova E.V., Shalimova S.S., Shevchenko M.Yu., Grabovich M.Yu. (2010) Biodegradatsiya nefteproduktov v pochve shtammami mikroorganizmov roda Acinetobacter [Biodegradation of oil products in soil with strains of microorganisms of the genus Acinetobacter]. Organizatsiya i regulatsiya fiziologo-biokhimicheskikh protsessov: mezhregionalnyi sbornik nauchnikh rabot, is. 12, p. 129-136.
- 20 Mukhamatdyarova S.R. (2016) Konsortium uglevodorodokislyayushikh mikroorganizmov kak osnova biopreparata dlya očistki otkhodov neftepererabatyvayushei promyshlennosti [Consortium of hydrocarbon-oxidizing microorganisms as the basis of biological product for the purification of waste from the oil refining industry]. Abstract of the diss. ... c.b.s.: 03.02.03, Ufa: Ufimskii gosudarstvennii tekhnicheskii universitet, 28 p.
- 21 Netrusov A.I., Egorova M.A., Zakharchuk L.M., Kolotilova N.N. and others. (2005) Praktikum po mikrobiologii: uchebnoe posobie dlya studentov vysshikh uchebnikh zavedenii [Workshop on microbiology: a textbook for students of higher educational institutions]. Moskva: Academiya, 608 p.
- 22 Olivera N.L., Commendatore M.G., Moran A.C., Esteves J.L. (2003) [Biosurfactant-enhanced degradation of the hydrocarbons from the ship bilge wastes]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, no. 25, p. 70-73.
- 23 Polyak M., Suharevich V., Suharevich M. (2008) Pitatelnye sredy dlya meditsinskoi i sanitarnoi mikrobiologii [Nutrient media for medical and sanitary microbiology]. - SPb.: ELBI-SPb, 352 p.
- 24 Rosenberg M., Gutnick D., Rosenberg E. (1980) [Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity]. FEMS Microbiology Letters, vol. 9, no. 1, p.29-33.
- 25 Tsitko I.V., Zaitsev G.M., Lobanok A.G., Salkinoja-Salonen M.S. (2003) [Effect of aromatic compounds on cellular fatty acid composition of Rhodococcus opacus]. Applied and Environmental Microbiology, vol.65, no. 2, p. 853-855.
- 26 Vetrova A.A., Ovchinnikova A.A., Filonov A.E., Puntus I.F., Boronin A.M. (2008) Destruktsiya nefti bakteriyami roda Pseudomonas, soderzhashimi razlichnye plazmidy biodegradatsii [Oil destruction with bacteria of the genus Pseudomonas containing various biodegradation plasmids]. Izvestiya Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki, is. 2, p. 186-193.
- 27 Volchenko N.H., Karasev S.G., Nimchenko D.V., Karaseva E.V. (2007) Gidrofobnost kletok kak kriterii otbora bakterii-produtsentov biosurfaktantov [Hydrophobicity of cells as a criterion for the selection of bacteria-producers of biosurfactants]. Mikrobiologiya, is. 76, no. 1, p. 126-128.
- 28 Volchenko N.N. (2006) Vliyanie uslovii kultivirovaniya na poverkhnostno-aktivnye svoistva uglevodorodokislyayushikh aktinobakterii [Influence of cultivation conditions on the surface-active properties of hydrocarbon-oxidizing actinobacteria]. Abstract of the diss. ... c.b.s.: 03.00.23, Stavropol: Kubanskii gosudarstvennyi universitet, 21 p.

**Еликбаев Б.К.<sup>1</sup>, Мусина У.Ш.<sup>2</sup>, Джамалова Г.А.<sup>3</sup>, Мусина Г.Ш.<sup>4</sup>,  
Тоганбай А.Н.<sup>5</sup>, Курбанова Л.С.<sup>6</sup>, Сарсенбаев С.О.<sup>7</sup>, Сыбанбаева М.А.<sup>8</sup>**

<sup>1</sup>доктор биологических наук, доцент, e-mail: bek29@outlook.com

<sup>8</sup>кандидат биологических наук, доцент, e-mail: sybanbayeva@mail.ru

Казахский национальный аграрный университет, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>кандидат технических наук, доцент, e-mail: 07061960@mail.ru

<sup>3</sup>кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, ассоциированный профессор, e-mail: j.ga@bk.ru

<sup>4</sup>кандидат ветеринарных наук, генеральный директор, e-mail: gmussina@aeg-lab.kz

ТОО «Научно-диагностический центр A-ExpertGroup», Казахстан, г. Алматы,

<sup>5</sup>студентка бакалавриата, e-mail: alinatoganbai@mail.ru

<sup>6</sup>кандидат технических наук, сенior лектор, e-mail: k\_lau@mail.ru

<sup>7</sup>лектор, e-mail: fyrcan@mail.ru

Satbaev University, Казахстан, г. Алматы

## **БИОРЕМЕДИАЦИЯ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНОГО И ТЕХНОГЕННОГО УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩЕГО БИОАКТИВАТОРА – КОКСУСКОГО ШУНГИТА**

Восстановление нефтезагрязненных почв является актуальной задачей, особенно для нефтедобывающих предприятий, имеющих риск загрязнения окружающей среды в результате санкционированного и несанкционированного размещения нефтеотходов, нефтепроливов и других нештатных ситуаций. Среди методов снижения и ликвидации загрязнения почв и техногенных грунтов нефтью и нефтепродуктами наиболее эффективными являются микробиологические, агро-фито-мелиоративные и другие методы очистки почв с использованием качественных сорбентов нефти. Перспективным нетрадиционным мелиорантом нефтезагрязненных почв могут стать бурые угли и шунгиты, которые являются одновременно эффективными сорбентами токсикантов и углекомпонентами удобрениями почв – биоактиваторами. Целью исследования являлось изучение процесса биоремедиации нефтезагрязненных почв на основе природного и техногенного углеродсодержащего биоактиватора – коксусского шунгита. Впервые проведены научные исследования влияния природного биоактиватора (коксусский шунгит, представляющий собой мусковит-кварц-углеродистый сланец) и техногенного биоактиватора (термоактивированной механической смеси коксусского шунгита и нефти) на процесс очистки почв от сырой нефти, отобранной из нефтяного месторождения «Елемес Южный» Мангистауского региона, а также выявлены факторы, влияющие на процесс очистки почвы от углеводородов нефти. Были изучены физико-химические характеристики нефти и микробиоценоз отобранных для эксперимента почв. Экспериментальные образцы почвы были загрязнены нефтью до экологически бедственного состояния с превышением допустимых норм 88,1 ПДК. Проведен модельный эксперимент, состоящий из двух вариантов опыта: в первом варианте опыта был использован природный биоактиватор – минерал (сланцевый шунгит), во втором варианте опыта – техногенный биоактиватор (термоактивированная при температуре 600 °C механическая смесь коксусского шунгита и нефти). Применение шунгита и термофильный режим благоприятно влияют на процесс биоремедиации почв от нефтезагрязнений, т.к. достигается высокий процент очистки – 97,3 %. Результаты исследований позволили разработать способ биоремедиации нефтезагрязненных почв конкретного нефтяного месторождения «Елемес Южный» Мангистауского региона с использованием биоактиватора – коксусского шунгита, являющегося товарным продуктом горнорудной компании «Коксу» – единственного промышленно-освоенного месторождения Казахстана.

**Ключевые слова:** биоремедиация, нефть, углеродсодержащий композит, почва, микробиоценоз, коксусский шунгит, биоактиватор.

Yelikbayev B.K.<sup>1</sup>, Mussina U.Sh.<sup>2</sup>, Jamalova G.A.<sup>3</sup>, Mussina G.Sh.<sup>4</sup>,  
Toganbai A.N.<sup>5</sup>, Kurbanova L.S.<sup>6</sup>, Sarsenbaev S.O.<sup>7</sup>, Sybanbaeva M.A.<sup>8</sup>

<sup>1</sup>doctor of biological sciences, associate professor, e-mail: bek29@outlook.com

<sup>8</sup>candidate of biological sciences, associate professor, e-mail: sybanbayeva@mail.ru

Kazakh National Agrarian University, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>candidate of technical sciences, associate professor, e-mail: 07061960@mail.ru

<sup>3</sup>candidate of agricultural sciences, associate professor, e-mail: j.ga@bk.ru

<sup>4</sup>candidate of veterinary sciences, e-mail: gmussina@aeg-lab.kz

LLP «Scientific and Diagnostic Center A-ExpertGroup», Kazakhstan, Almaty

<sup>5</sup>bachelor-student, e-mail: alinatoganbai@mail.ru

<sup>6</sup>candidate of technical sciences, senior lecturer, e-mail: k\_lau@mail.ru

<sup>7</sup>lecturer, e-mail: fyrcan@mail.ru

Satbaev University, Kazakhstan, Almaty

### **Bioremediation of oil-polluted soils based on natural and technogenic carbon-containing bioactivator – koks shungite**

Restoration of oil-contaminated soils is an urgent task especially for oil-producing enterprises that are at risk of environmental pollution as a result of authorized and unauthorized disposal of oil spills, oil spills and other contingencies. Among the methods for reducing and eliminating soils and technogenic soils contamination with oil and oil products, microbiological, agro-phyto-meliorative and other methods of soil purification using high-quality oil sorbents are most effective. A promising unconventional ameliorant for oil-contaminated soils can be brown coals and shungites, which are both effective sorbents of toxicants and coal-humic fertilizers of soils – bioactivators. The purpose of the study was to study the process of bioremediation of oil contaminated soils on the basis of a natural and man-made carbonaceous bioactivator, the koks shungite. For the first time, scientific research has been carried out on the effect of a natural bioactivator (koksu schungite, which is a muscovite-quartz-carbonaceous shale) and a technogenic bioactivator (a thermoactivated mechanical mixture of koksu shungite and oil) on the process of soil purification from crude oil extracted from the oil deposit «Elemes South» of the Mangistau region, as well as factors influencing the process of soil purification from petroleum hydrocarbons were revealed. The physicochemical characteristics of the oil and the microbiocenosis of the soils selected for the experiment were studied. The experimental soil samples were contaminated with oil to an environmentally hazardous state with an excess of permissible norms of 88.1 MPC. A model experiment consisting of two variants of the experiment was carried out: in the first variant of the experiment, a natural bioactivator was used – a mineral (shale schungite), in the second variant of the experiment – a technogenic bioactivator (thermoactivated at 600 oC mechanical mixture of cokshun shungite and oil). The use of schungite and the thermophilic regime favorably influence the process of bioremediation of soils from oil contamination, a high purification percentage is achieved – 97.3%. The results of the research made it possible to develop a method for bioremediation of oil-contaminated soils of a particular oil field «Elemes Southern» in the Mangistau region using a bioactivator – a coks schungite, which is a commodity product of the mining company «Koksu», the only industrial-developed deposit in Kazakhstan.

**Key words:** bioremediation, oil, carbon-containing composite, soil, microbiocenosis, coks schungite, bioactivator.

Елікбаев Б.К.<sup>1</sup>, Мусина У.Ш.<sup>2</sup>, Джамалова Г.А.<sup>3</sup>, Мусина Г.Ш.<sup>4</sup>,  
Тоганбай А.Н.<sup>5</sup>, Курбанова Л.С.<sup>6</sup>, Сарсенбаев С.О.<sup>7</sup>, Сыбанбаева М.А.<sup>8</sup>

<sup>1</sup>биология ғылымдарының докторы, доцент, e-mail: bek29@outlook.com

<sup>8</sup>биология ғылымдарының докторы, доцент, e-mail: sybanbayeva@mail.ru

Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>техникалық ғылымдарының кандидаты, e-mail: 07061960@mail.ru

<sup>3</sup>ауыл-шаруашылық ғылымдарының кандидаты, доцент, e-mail: j.ga@bk.ru

<sup>4</sup>ветеринария ғылымдарының кандидаты, e-mail: gmussina@aeg-lab.kz

«A-ExpertGroup» ғылыми-диагностикалық орталығы ЖШС, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>5</sup>бакалавриат студенті, e-mail: alinatoganbai@mail.ru

<sup>6</sup>техникалық ғылымдарының кандидаты, сензор лекторы, e-mail: k\_lau@mail.ru

<sup>7</sup>оқытушы, e-mail: fyrcan@mail.ru

Satbaev University, Kazakhstan, Almaty қ.

### **Құрамында көміртегі бар табиғи және техногенді биоактиватор – коксу шунгиті негізінде мұнаймен ластанған торпырақтың биоремедиациясы**

Мұнай төгінділерін, мұнай қалдықтарын және басқа да төтенше жағдайларда рүқсатты және рүқсатсыз орналастыру нәтижесінде, қоршаған ортанды ластау қаупі бар мұнай өндіретін кәсіпорындар үшін мұнаймен ластанған торпырақты қалпына келтіру өзекті мәселе болып табылады. Торпырак және техногенді торпырақтың мұнай және мұнай өнімдерімен ластануын төмендету және

жою әдістерінің қатарында микробиологиялық, агрофио-мелиоративті және басқа да жоғары сапалы мұнай сорбенттерімен топырақты тазалау әдістері ең тиімді болып келеді. Мұнаймен ластанған топырақта арналған перспективалық дәстүрлі мелиоранттар – қоңыр көмір мен шунгит болуы мүмкін, олар бір мезетте токсиканттардың тиімді сорбенттері және топырақтың көмір-гуминді тыңдайтыштары – биоактиваторлар болып табылады. Зерттеудің негізгі мақсаты мұнаймен ластанған топырақты құрамында табиғи және техногенді көміртегі бар биоактиватор – көксу шунгиті негізінде биоремедиациялау процесін зерттеу. Алғаш рет Манғыстау аймағындағы «Оңтүстік Елемес» мұнай кен орнынан алынған топырақты мұнай шикізатынан тазарту процесіне табиғи биоактиватордың (мусковит-кварц-көміртекті сланеці болып табылатын кокс шунгиті) және техногендік биоактиватордың (коксты шунгит және мұнайдың термомоторлы механикалық қоспасы) әсеріне ғылыми зерттеулер жүргізілді, сонымен қатар мұнай көмірсүтектерінен топырақты тазалау процесіне әсер ететін факторлар анықталды. Экспериментке іріктел алған топырақ үшін микробиоценоз және мұнайдың физика-химиялық сипаттамалары зерттелді. Эксперименттік топырақ үлгілері рұқсат етілген нормативтен шамадан тыс жоғары мөлшерде, ШРК 88.1, қауіпті экологиялық құйде мұнаймен ластанған. Екі нұсқалы тәжірибеден тұратын моделді эксперимент жүргізілді: тәжірибенің бірінші нұсқасында табиғи биоактиватор – минерал (сланецті шунгит), тәжірибенің екінші нұсқасында – техногендік биоактиватор (600 оС градусқа дейін коксу шунгитімен және мұнайдың механикалық қоспасымен термоактивтелген) пайдаланылды. Мұнаймен ластанған топырақтың биоремедиациясы процесіне шунгит пен термофиді режимді қолдану оң әсер етеді, яғни жоғары тазарту пайзына қол жеткізілді – 97,3%. Зерттеудің нәтижелері Манғыстау облысындағы «Елемес Оңтүстік» мұнай кен орнындағы мұнаймен ластанған топырақты биоремедиациялау әдісін Қазақстандағы жағыз өндірістік иерілген кен орны – «Көксу» тау-кен-рудалық компаниясының тауарлық өнімі болып табылатын, кокс шунгитінің көмегімен биоактиваторды пайдалану әдісін өзірлеуге мүмкіндік береді.

**Түйін сөздер:** биоремедиация, мұнай, құрамында көміртегі бар композит, топырақ, микробиоценоз, көксу шунгиті, биоактиватор.

## Введение

Земли Казахстана на 60 % подвержены деградации в разной степени (Пачикин, 2011: 10). Причина этому кроется в географических особенностях (расположен в засушливой зоне) и усиленным давлением демографического (рост населения) и антропогенного (развитие индустрии, урбанизация) фактора. При этом наибольший вклад в загрязнение и нарушение земель вносит добыча полезных ископаемых, в частности, нефтедобыча (Голицын, 2010, С.28: 3).

Наряду с фитомелиорацией и микробиологическими методами очистки нефтезагрязненных почв на предприятиях нефтедобычи разрабатываются и внедряются естественные и искусственные сорбенты нефти. Для сорбирования нефти широко используются синтетические поглотители типа активированного угля, пенопласта, вспученный перлит, гелеобразователи и различные отвердители и др. (Bento, 2005: 19; Цомбуева, 2017: 15; Гуславский, 2011: 4). Однако перспективными являются шунгиты, которые одновременно являются эффективными сорбентами токсикантов, углекоминовыми удобрениями почв, биоактиваторами (Мусина, 2014: 7).

**Цель исследования:** изучение процесса биоремедиации нефтезагрязненных почв на основе

природного и техногенного углеродсодержащего биоактиватора – коксусского шунгита.

**Задачи исследования:** 1) изучение влияния природного (коксусский сланцевый шунгит) биоактиватора на процесс очистки почв от сырой нефти, отобранной из нефтяного месторождения Елемес Южный Мангистауского региона; 2) изучение влияния техногенного биоактиватора (термоактивированная при температуре 600 °C механическая смесь коксусского шунгита и нефти) на процесс очистки почв от сырой нефти, отобранной из нефтяного месторождения Елемес Южный Мангистауского региона; 3) разработка способа биоремедиации нефтезагрязненных почв на основе природного и техногенного углеродсодержащего биоактиватора – коксусского шунгита.

## Материалы и методы исследования

**Объекты исследования:** сырая нефть – тяжелая и относится к типу 3, смолистая, сернистая, парафиновая, отобранная с нефтяного месторождения Елемес Южный на юге Прикаспийской впадины Мангистауского региона; темно-каштановые почвы, отобранные для проведения модельного эксперимента с экологически чистого Талгарского района Алматинской области; природный коксусский сланцевый шунгит-биоак-

тиватор крупностью 5 мм; техногенный биоактиватор (термоактивированная при температуре 600 °С механическая смесь коксуского шунгита и нефти).

**Методы исследования:** Исследования основывались на применении следующих ГОСТов и методических указаний (МУ):

- отбор проб нефти и нефтепродуктов: ГОСТ Р 52659-2006; ГОСТ 2517-2012;
- отбор проб почв (ГОСТ 28168-89; ГОСТ 53123-2008 (ИСО 10381-5:2005);
- постановка модельного лабораторного эксперимента (ГОСТ 12.4.113-82; ГОСТ ISO 9000-2011; ГОСТ ISO 9001-2011; ГОСТ 1.5-2001; ГОСТ Р 8.563-2009);
- физико-химическая характеристика нефти (ГОСТ 3900-85; ASTM D 445-2011; ГОСТ 20287-91; ГОСТ 5985-79; ГОСТ 19932-99; ГОСТ 11851-85; ASTM D 4294-11; ГОСТ 2477-65; ГОСТ 6370-83; ГОСТ 21534-76; М-049-П/10);
- химические методы исследования почв: МУ 03-03-97;
- микробиологические исследования: ГОСТ ISO 7218-2015, (Eldor A. Paul, 2015: 21);
- аналитические исследования (Jain, 2011:25).

Рентгенографические исследования сланцевого коксуского шунгита выполнялись на рентгеновском дифрактометре X'PertPRO фирмы Phillips (Голландия). В качестве образцов для исследований использовались порошки, которые устанавливались в держатель дифрактометра для плоских образцов. Рентгенограммы полного спектра в интервале углов  $2\theta = 5\text{--}120^\circ$  снимались с использованием медной рентгеновской трубки при напряжении на ней 30 kV и токе 10 mA. Шаг сканирования – 0,02 градуса, время измерения интенсивности дифрагированного излучения при этом шаге – 1.0 секунда. Расшифровка рентгенограмм осуществлялась в полуавтоматическом режиме с помощью программного обеспечения X'PertQuantify и выбором кандидатов из базы данных вручную, прилагаемой к дифрактометру.

Модельный эксперимент. В день отбора проб почв был поставлен эксперимент по разработке технологии биоремедиации нефтезагрязненных почв в модельном эксперименте по схеме, представленной на рисунке 1.

Модельный эксперимент состоял из двух идентичных по условиям вариантов, за исключением температурного режима: первый вариант эксперимента проходил в условиях терmostата ТС-1/80 СПУ (РФ) при температуре 23 °C, второй – при 50 °C. Условия первого варианта

соответствовали комнатной температуре, условия второго варианта приближены к температуре почвы, прогреваемой в самый жаркий месяц. Опыт имел две повторности. В каждом опыте количество испытуемой почвы составило 200 г. Влагоемкость почвы 40 %, влажность 46 %, освещение отсутствовало.

Каждый эксперимент, в свою очередь, состоял из контрольной (почва + сырая нефть (88,1 г/кг)) и опытной группы, при этом опыт состоял из трех подгрупп:

- опыт № 1: Почва + сырая нефть (88,1 г/кг) + техногенный биоактиватор (80 г/кг),
- опыт № 2: Почва + сырая нефть (88,1 г/кг) + природный биоактиватор (80 г/кг),
- опыт № 3: Почва + сырая нефть (88,1 г/кг) + техногенный биоактиватор (40 г/л) + природный биоактиватор (40 г/кг).

Эксперимент занял семь дней (168 часов). По истечении 168 часов исследованные пробы почв были подвергнуты химическому и микробиологическому анализу.

Такой короткий срок дополнительно исходил из следующих суждений: в производственных условиях нефтедобывающей промышленности будут успешно практиковаться только те биоремедиационные технологии, которые, во-первых, по продолжительности будут занимать короткое время, во-вторых, будут просты в эксплуатации и, в-третьих, по себестоимости не будут дорогими. Поэтому, разрабатывая новый подход в биоремедиации нефтезагрязненных почв, мы исходили из этих трех ключевых аспектов в целях успешного продвижения нашей разработки в производство.

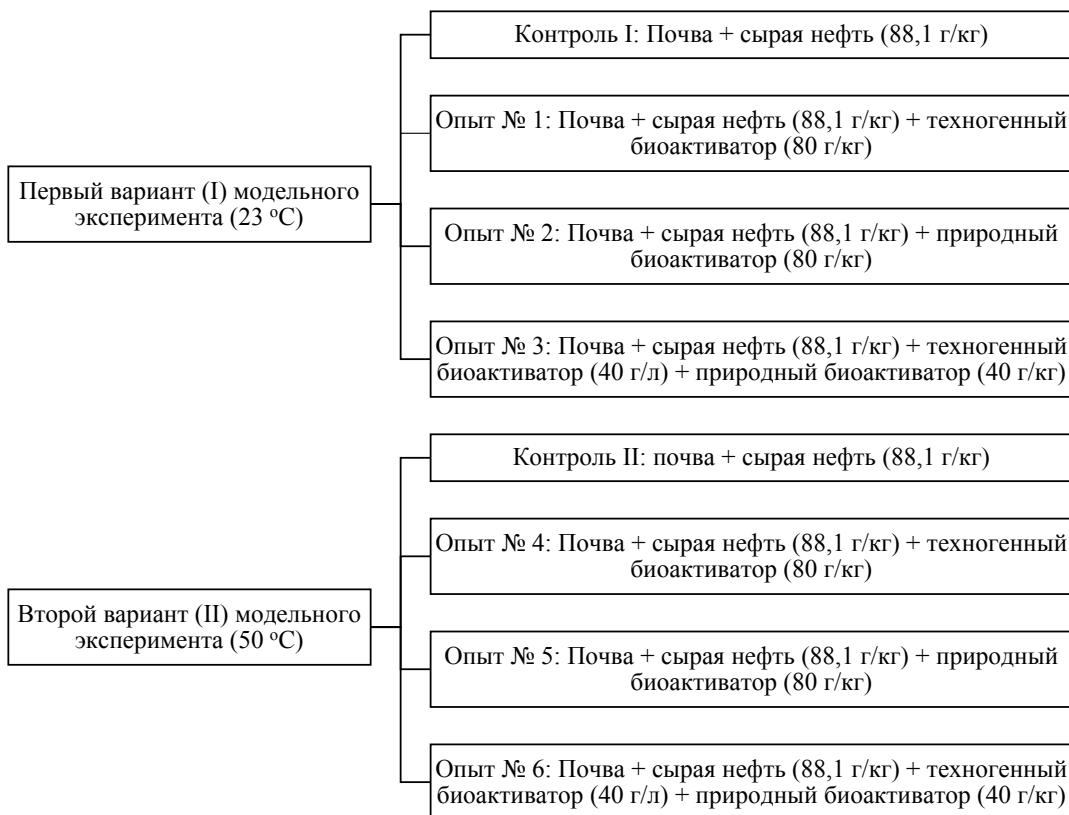
## Результаты исследования и их обсуждение

**Физико-химическая характеристика нефти,** отобранная из скважины месторождения Елемес Южный (интервал перфорации – 1985-1994 м.; 1998-2015 м.; 2221-2227,8 м согласно паспортов бурения) представлена в таблицах 1 и 2.

Исследованные пробы нефти, как это видно из таблицы 1 и 2, по плотности равной 0,8888-0,8898 г/см<sup>3</sup>, характеризуются как тяжелые и относятся к типу 3 (СТ РК 1347-2005).

Кинематическая вязкость, определенная при 20°C, варьирует от 21,74 до 24,84 мм<sup>2</sup>/с.

Пробы нефти по обнаруженному массовому содержанию силикагелевых смол (17,06-17,27%) относят к смолистым, серы (1,31-1,39%) – к сернистым, парафинов (2,45-2,52%) – к парафиновым.



**Рисунок 1 – Схема модельного эксперимента по разработке технологии биоремедиации нефтезагрязненных почв**

**Таблица 1 – Физико-химическая характеристика нефти, отобранный на месторождении «Елемес Южный» на юге Прикаспийской впадины Мангистауского региона**

| Показатель                   | Ед. изм.        | Значение | Методика        |
|------------------------------|-----------------|----------|-----------------|
| Плотность                    | при 20°C, г/см³ | 0,8888   | ГОСТ 3900-85    |
| Вязкость кинематическая      | при 20°C, мм²/с | 21,74    | ASTM D 445-2011 |
| Температура застывания нефти | °C              | -21      | ГОСТ 20287-91   |
| Кислотное число              | мг. KOH/г.      | 0,04     | ГОСТ 5985-79    |
| Коксуемость                  | % масс.         | 3,92     | ГОСТ 19932-99   |

**Таблица 2 – Химическая характеристика нефти, отобранный на месторождении «Елемес Южный» на юге Прикаспийской впадины Мангистауского региона**

| Показатель           | Ед. изм. | Значение | Методика       |
|----------------------|----------|----------|----------------|
| Силикагелевые смолы  | % масс.  | 17,06    | ГОСТ 11851-85  |
| Асфальтены           | % масс.  | 2,29     | ГОСТ 11851-85  |
| Сера                 | % масс.  | 1,39     | ASTM D 4294-11 |
| Парафин              | % масс.  | 2,52     | ГОСТ 11851-85  |
| Вода                 | % масс.  | 0,03     | ГОСТ 2477-65   |
| Механические примеси | % масс.  | 0,0530   | ГОСТ 6370-83   |
| Хлористые соли       | % масс.  | 208,70   | ГОСТ 21534-76  |

Продолжение таблицы 2

| Показатель | Ед. изм. | Значение | Методика   |
|------------|----------|----------|------------|
| Свинец     | ppm      | 0,74223  | М-049-П/10 |
| Цинк       | ppm      | 0,93668  |            |
| Железо     | ppm      | 3,3905   |            |
| Ванадий    | ppm      | 24,834   |            |
| Марганец   | ppm      | 0,66386  |            |
| Никель     | ppm      | 6,2682   |            |

Температура застывания колеблется от -12<sup>0</sup>С до -21<sup>0</sup>С; температура вспышки, определенная в закрытом тигле от -2<sup>0</sup>С до -5<sup>0</sup>С. Коксумость обнаружена в количестве от 3,92 до 4,33% масс. Массовое содержание воды определено от 0,03 до 9,6%, концентрация хлористых солей от 208,70 до 42939,56 мг/л соответственно. Механические примеси содержатся в незначительном количестве от 0,0530 до 0,0582% масс. Сероводород, метил и этилмеркаптаны не обнаружены.

Выход светлых фракций, выкипающих до 300<sup>0</sup>С от 36,0 до 40,0% объемных, в том числе бензиновых фракций, выкипающих до 200<sup>0</sup>С – 17,0% объемных.

Отобранные для модельного эксперимента пробы почв были подвергнуты химическому и микробиологическому анализу.

Согласно результатам химического анализа, проведенного по МУ 03-03-97, содержание нефтепродуктов в отобранных для модельного эксперимента почвах, обнаружено не было.

*Природный биоактиватор* – сланцевый коксуский шунгит содержит, %: С – 6; SiO<sub>2</sub> – 70; Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – 8; CaO – 6; Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – 4; Ti – 0,5; K<sub>2</sub>O – 0,5; Na<sub>2</sub>O – 0,5; Mn – 0,1; Ba – 0,06; Zr – 0,05; Sr – 0,04; V – 0,015; B – 0,01. Микропримеси, ppm: Zn – 60; Ni – 50; Y – 50; Sc – 50; P – 40; Cr – 40; Co – 25; Mo – 20; Li – 20; Pb – 15; Cu – 10; Nb – 8; Ga – 8; Sn – 4; Be – 3; W – 3; Bi – 1; As – 1.

Результаты расшифровки дифрактограммы мусковит-кварц-углеродистого сланца: muskovite-2T: Al<sub>3</sub>Si<sub>3</sub>K(OH)<sub>2</sub>O<sub>10</sub> – 21%; muskovite-2M1: (K<sub>0,82</sub>Na<sub>0,18</sub>)(Fe<sub>0,03</sub>Al<sub>1,97</sub>)(AlSiO<sub>3</sub>)O<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub> – 21%; quartz, syn: SiO<sub>2</sub> – 16%; Getit : FeOOH – 1%; Graphite-2H: C – 17%; прочие: энстатит – MgSiO<sub>3</sub> (7%) и др. – 24%.

На основании комплекса исследований установлено, что шунгитовые породы Коксусского месторождения представляют собой природный композит, состоящий из двух макрокомпонентов – углеродистого вещества, минералогически

близкого к графиту, и микрокристаллического кремнезёма. Силикатная матрица коксусского шунгита заполнена кристаллами минералов. Эти минералы, принадлежащие к алюмосиликатному ряду, наполняют силикатную матрицу данной каменной породы равномерно. Размер кристаллов алюмосиликатных минералов не превышает 1 мкм. Более половины состава камня приходится на силикаты – кремнезем и сложные силикаты (слюды).

Углеродистое вещество относится к антраксилит-шунгитовой разности и графиту. Минеральная основа коксусских пород – кремнистая, породы можно отнести к среднеуглеродистым шунгитистым, т.к. содержание углерода в среднем находится в пределах 5–25 % С.

*Техногенный биоактиватор* – термоактивированная при температуре 600 °С механическая смесь коксусского шунгита и нефти, представляющая собой более рыхлую массу по сравнению с исходным образцом шунгита, использованным в виде зерен крупностью 5 мм. Для активации материал был термообработан в муфельной печи при температуре 600 °С в течение 30 минут.

*Микробиоценоз почв*. Количественный учет микроорганизмов, проведенный согласно методикам, изложенных в ГОСТ ISO 7218-2015 и в работе (Eldor A. Paul, 2015: 21) представлен в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, рост колоний на плотном агаре показал, что общая обсемененность гетеротрофными микроорганизмами в отобранной для исследования почве было на уровне пятого разведения, обсемененность же микромицетами и актиномицетами не превышал второго уровня разведения. Особо следует отметить, что не был зафиксирован рост колоний на плотном питательном агаре по колиморфным бактериям, что свидетельствует о санитарном благополучии отобранной для работы почвы.

**Таблица 3** – Микробиоценоз почв, отобранных для эксперимента

| Показатель                        | Физиологические группы микроорганизмов |                      |                              |                              |
|-----------------------------------|--|----------------------|------------------------------|------------------------------|
|                                   | ОМЧ                                    | Колиморфные бактерии | Актиномицеты                 | Микромицеты                  |
| $\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$ , КОЕ/г | $(2,9 \pm 0,1) \times 10^5$            | -                    | $(0,5 \pm 0,01) \times 10^2$ | $(1,0 \pm 0,01) \times 10^2$ |
| $C_v$ , %                         | 4,7                                    | -                    | 140                          | 0                            |

Если же судить об изменчивости по обсемененности почв, то наибольшая вариация принадлежит актиномицетам (140 %), а меньшая (4,7 %) – ОМЧ, тогда как по микромицетам изменчивость отсутствовала. Поэтому можно заключить, что по актиномицетам отмечен относительно высокий разброс и минимальная по обсемененности выравненность исследуемых показателей. В дополнение следует отметить, что полученные по обсемененности результаты достоверны по ОМЧ ( $P=0,99$ ), тогда как по актиномицетам – не достоверны.

Согласно данным, полученные в исследованиях В.П. Коваленко (Коваленко, 1990: 6), при биоремедиации нефтезагрязненных почв, наибольший процент утилизации нефти и нефтепродуктов происходит на 2-5 сутки. В связи с этим, наша экспериментальная часть заняла семь дней (168 часов), по истечении которого пробы почв были подвергнуты химическому и микробиологическому анализу.

Комплексный анализ по полученным результатам проводили в сравнительном аспекте: между опытной группой и контрольной, между опытами с одинаковыми ситуациями при разных вариантах эксперимента.

Известно, что нефтезагрязненные почвы по уровню разведения делят на пять категорий (Порядок определения размеров ущерба, 1993: 13): допустимый ( $<1000$  мг/кг); низкий (1000-

2000 мг/кг); средний (2000-3000 мг/кг); высокий (3000-5000 мг/кг); очень высокий ( $>5000$  мг/кг).

Если превышение нефти в почве достигает до 10 ПДК, то по критериям физической деградации, такие почвы считаются по экологической ситуации относительно удовлетворительными, при 10-25 ПДК – чрезвычайными и при более 25 ПДК – бедственными (ГН к безопасности ОС, 2015: 2).

Отобранные для эксперимента почвы были загрязнены нефтью до экологически бедственного состояния с превышением допустимых норм 88,1 ПДК.

В таблицах 4 и 5 представлены результаты, полученные при химическом и микробиологическом исследовании почв при проведении модельного эксперимента.

Как видно из таблицы 4, применение биоактиваторов при очистке почв от сырой нефти и термофильный режим благоприятно влияют на процесс биоремедиации:

В первом варианте эксперимента (23°C): в первой контрольной группе «Почва + сырая нефть (88,1 г/кг)» содержание нефти снизилось незначительно, всего на 38,9 %, тогда как в группах опыта снижение было значительным благодаря используемым в комплексе биоактиваторов техногенного и природного происхождения – на 95,5 % (опыт 1), 95,9 % (опыт 2) и 96,7 % (опыт 3).

**Таблица 4** – Содержания нефти (мг/кг) в почве при проведении модельного эксперимента

| Эксперимент I (23 °C) |         |                  | Эксперимент II (50 °C) |         |                  |
|-----------------------|---------|------------------|------------------------|---------|------------------|
| Вариант               | 0 часов | 168 часов        | Вариант                | 0 часов | 168 часов        |
| Контроль I            | 88 100  | $53\ 800 \pm 23$ | Контроль II            | 88 100  | $46\ 508 \pm 26$ |
| Опыт № 1              | 88 100  | $3\ 936 \pm 9$   | Опыт № 4               | 88 100  | $2\ 417 \pm 21$  |
| Опыт № 2              | 88 100  | $3\ 600 \pm 14$  | Опыт № 5               | 88 100  | $2\ 338 \pm 11$  |
| Опыт № 3              | 88 100  | $2\ 921 \pm 5$   | Опыт № 6               | 88 100  | $3\ 110 \pm 17$  |

Во втором варианте эксперимента (50 °C): содержание нефти снизилось незначительно (на 47,2 %) в контрольной группе № 2 «Почва + сырья нефть (88,1 г/кг)», а в группах опыта наблюдали ощутимое снижение благодаря используемому техногенному биоактиватору – на 96,5 % (опыт 6) и 97,3 % (опыты 4, 5).

Используемые для очистки почв от нефти и нефтепродуктов сорбенты условно делятся на четыре группы:

1) природные, декларируемая сорбционная емкость: 5-12 г/г нефти (Цыганова, 2014: 16): торф, лузга подсолнечника, шелуха риса, скорлупа грецкого ореха и др. отходы растительного происхождения (Annunciado, 2005: 18; Щепакин, 2001: 17); диатомит, доломит и др. (Breck, 1974: 20);

2) биосорбенты с сорбционной емкостью 1:7 и 1:8: микроорганизмы активного ила, карбоксиметилированные дрожжи, высшие жирные кислоты, искусственно созданные – расплав полимеров с добавлением активированного угля (Gertler, 2009: 24; Патент № 2023685, 1991: 9; Евдокимова, 2000: 5);

3) наносорбенты, производимые на основе графита, сорбционная емкость 40-80 г/г (Мусина, 2014: 7);

4) сорбенты из техногенной органики с декларируемой сорбционной емкостью 5-34 г/г – это полипропилен, поропласт и т.д. (Попов, 2011а: 11; Попов, 2011б: 12; Germida, 2002: 23).

В исследованиях, проведенных Т.И. Бурмистровой (Бурмистрова и др., 2003: 1) было выявлено, что степень очистки объекта зависит от уровня загрязнения почв нефтепродуктами. В статье показано, что степень очистки при использовании активированного торфа варьирует в пределах от 4 до 89 %. При этом следует отметить, что сорбционная емкость 1 г абсолютно сухого вещества торфа составляет 6-10 г нефти (Бурмистрова и др., 2003: 1). При использовании в качестве сорбента биомассы, например, суспензии штамма *Bacillus subtilis*, процент очистки почв от нефти достигал 99,53 % (Неустроев, 2015: 8). Автор исследования показывает, что при сочетании данного бактериологического препарата с навозом и пометом повышается эффективность самоочищения почв от углеводородов нефти за счет того, что почва вместе с органикой обогащается углеродом, энергией и микрофлорой.

В наших исследованиях наилучший результат (97,3 % очистки почв от сырой нефти) был получен в опытах, когда природный (коксуский

шунгит; опыт 4) и техногенный (опыт 5) биоактиватор был использован по отдельности при температуре 50°C. Можно предположить, что используемые биоактиваторы, с одной стороны сорбируют весомый объем нефти (40-80 г/г нефти), с другой – вносят в почву ценные минеральные компоненты (коксусский шунгит), углерод и энергию (термоактивированная при температуре 600 °C механическая смесь коксусского шунгита и нефти), активизирующие ферментативные процессы очистки почв от нефтяных загрязнений. Интенсификацию микробиологических процессов очистки почв от нефтяных загрязнений можно объяснить феноменом кометаболизма (Тихонович, 2007: 14).

Количественный учет микроорганизмов в почвах (таблица 5) показал, что применение биоактиваторов активизирует процесс ферментативной биоремедиации нефтезагрязненных почв. Так, при сравнении результатов, полученных при исследовании отобранных экологически чистых почв (таблица 3) с модельно загрязненными почвами по истечении эксперимента (таблица 5) видно, что рост колоний на плотном питательном агаре по ОМЧ снизился на один (опыт 1) и два (контроль 1, опыты 2,3) уровня разведения. По колиморфным бактериям достаточно сравнить результаты, которые были получены до (таблица 3) и после проведения модельного эксперимента (таблица 5), т.к. после проведения опытов во всех вариантах рост колоний на плотном питательном агаре был отмечен на втором уровне разведения, тогда как до постановки эксперимента по исследуемой почве рост колоний на плотном питательном агаре обнаружено не было, следовательно, можно предполагать согласно ранее проведенным исследованиям (Turkayeva, 2017: 30; Joo, 2007: 26), что при модельном загрязнении почв сырой нефтью было место вторичное загрязнение, т.к. пробы сырой нефти были отобраны с открытого техногенного накопителя. По актиномицетам и микромицетам особых изменений по обсемененности зафиксировано не было, т.к. по всем исследуемым почвам эксперимента рост колоний на плотном питательном агаре был зафиксирован на втором уровне разведения.

Объяснение относительно высокому разбросу (16-140 %) и минимальному по обсемененности выравненности роста колоний на плотном питательном агаре можно дать на основе модели ингибирования (последовательность видов в сукцессии определяется их жизненными стратегиями): в нефтезагрязненных исследуемых почвах в присутствии биостимуляторов и при 168

ч часовом лимите количественные и качественные преобразования на уровне консорциума микроорганизмов не успевает завершиться отчего и зафиксирован высокий разброс почти по всем исследуемым таксонам (Schaefer, 2007: 29). Дополнительно необходимо отметить, что сорбция микроорганизмов зависит от особенностей сорбента и от подвижности микроорганизмов (Margesin, 2001: 27). Физико-химические свой-

ства субстрата определяют отбор микроорганизмов по трофическим потребностям, наличие органического углерода способствует колонизации микроорганизмов. Из приведенных данных таблицы 5 очевидно значение вносимых вместе с биоактиваторами минеральных веществ, углерода и энергии для активизации микробиологических процессов по очистке почв от нефтезагрязнений.

**Таблица 5 – Микробиологические показатели содержания нефти в почве при проведении модельного эксперимента**

| Таксон               | Эксперимент I (23 °C) |                                |           | Эксперимент II (50 °C) |                               |           |
|----------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------|------------------------|-------------------------------|-----------|
|                      | Вариант               | $\bar{X} \pm m_x$ , КОЕ/г      | $C_v, \%$ | Вариант                | $\bar{X} \pm m_x$ , КОЕ/г     | $C_v, \%$ |
| ОМЧ                  | Контроль I            | (8,0 ± 0,4) × 10 <sup>4</sup>  | 124       | Контроль II            | (2,5 ± 0,5) × 10 <sup>4</sup> | 32        |
|                      | Опыт № 1              | (1,5 ± 0,1) × 10 <sup>5</sup>  | 47        | Опыт № 4               | (1,5 ± 0,1) × 10 <sup>4</sup> | 140       |
|                      | Опыт № 2              | (3,5 ± 0,1) × 10 <sup>4</sup>  | 20        | Опыт № 5               | (6,5 ± 0,4) × 10 <sup>4</sup> | 88        |
|                      | Опыт № 3              | (2,5 ± 0,2) × 10 <sup>4</sup>  | 84        | Опыт № 6               | (0,5 ± 0,1) × 10 <sup>4</sup> | 38        |
| Колиморфные бактерии | Контроль I            | (1,0 ± 0,1) × 10 <sup>2</sup>  | 43        | Контроль II            | (2,1 ± 0,1) × 10 <sup>3</sup> | 17        |
|                      | Опыт № 1              | (4,4 ± 0,4) × 10 <sup>2</sup>  | 55        | Опыт № 4               | (2,2 ± 0,1) × 10 <sup>3</sup> | 39        |
|                      | Опыт № 2              | (4,9 ± 0,3) × 10 <sup>3</sup>  | 27        | Опыт № 5               | (1,3 ± 0,2) × 10 <sup>2</sup> | 98        |
|                      | Опыт № 3              | (4,0 ± 0,1) × 10 <sup>2</sup>  | 18        | Опыт № 6               | (2,6 ± 0,8) × 10 <sup>2</sup> | 14        |
| Актиномицеты         | Контроль I            | (1,5 ± 0,04) × 10 <sup>2</sup> | 70        | Контроль II            | (3,5 ± 0,1) × 10 <sup>2</sup> | 20        |
|                      | Опыт № 1              | (2,0 ± 0,04) × 10 <sup>2</sup> | 47        | Опыт № 4               | (5,5 ± 0,1) × 10 <sup>2</sup> | 38        |
|                      | Опыт № 2              | (2,5 ± 0,1) × 10 <sup>2</sup>  | 84        | Опыт № 5               | (3,0 ± 0,8) × 10 <sup>2</sup> | 93        |
|                      | Опыт № 3              | (2,0 ± 0,04) × 10 <sup>2</sup> | 47        | Опыт № 6               | (1,2 ± 0,1) × 10 <sup>2</sup> | 12        |
| Микромицеты          | Контроль I            | (2,0 ± 0,04) × 10 <sup>2</sup> | 70        | Контроль II            | (1,5 ± 0,7) × 10 <sup>2</sup> | 47        |
|                      | Опыт № 1              | (1,5 ± 0,1) × 10 <sup>2</sup>  | 47        | Опыт № 4               | (2,0 ± 0,4) × 10 <sup>2</sup> | 70        |
|                      | Опыт № 2              | (4,0 ± 0,4) × 10 <sup>2</sup>  | 35        | Опыт № 5               | (2,5 ± 0,2) × 10 <sup>2</sup> | 84        |
|                      | Опыт № 3              | (4,5 ± 0,1) × 10 <sup>2</sup>  | 16        | Опыт № 6               | (1,5 ± 0,7) × 10 <sup>2</sup> | 47        |

Результаты микробиологических исследований показали (таблица 5), что при загрязнении почвы нефтью происходят существенные преобразования не только на уровне общего микробиоценоза (общая обсемененность гетеротрофными микроорганизмами снизилась по сравнению с почвами, исследованные до загрязнения нефтью на два уровня, т.е. с шестого снизилось до четвертого уровня разведения), но и по санитарным показателям почвы, о чем свидетельствует рост колоний колиморфных микроорганизмов на плотном питательном агаре на втором уровне разведения (при 23°C – третий уровень разведения в опыте № 2), тогда как в чистых почвах (таблица 3) рост колоний на плотном питательном агаре зафиксирован по колиморфным бактери-

ям не был. Для актиномицетов и микромицетов особых изменений обнаружено не было по сравнению с результатами, которые были получены при исследовании чистых от нефти почв.

## Выводы

Резюмируя данные, полученные при проведении модельного эксперимента можно заключить:

В экспериментах при температуре 23°C наилучший результат был получен в модельном опыте № 3, когда для очистки нефтезагрязненных почв был использован комплекс, состоящий из биоактиваторов природного и техногенного происхождения, при этом процент очистки почв

от нефтезагрязнений составил 96,3 %, в опыте № 2 – 95,9 % и в опыте № 1 – 95,5 %, тогда как в контрольной группе – всего 38,9 %.

При температуре 50°C наилучший результат был получен в модельном опыте № 4 и № 5, когда для очистки нефтезагрязненных почв был использован биоактиватор техногенного и природного происхождения по отдельности; процент очистки почв от нефтезагрязнений в опытах № 4 и № 5 составил 97,3 %, в опыте № 6 – 96,5 %, тогда как в контрольной группе – всего 47,2 %.

Таким образом, целесообразно для улучшения эффекта очистки почв от нефтезагрязнений, применять биоактиваторы природного и техногенного происхождения в комплексе при температуре 23°C и, по отдельности, при температуре 50°C, т.к. в этих случаях в опытах был

получен наибольший, по сравнению с другими вариантами опыта, процент очистки от нефтезагрязнений – 96,3 % и 97,3 %, соответственно. Применение биоактиватора при термофильном режиме позволяет достичь более высокого процента очистки почв от загрязнения сырой нефтью. Это объясняется тем, что использованные в опыте биоактиваторы природного и техногенного происхождения ускоряют процесс биоремедиации почв: способствуют иммобилизации микроорганизмов на своей развитой поверхности; являются, в случае с природным биоактиватором, поставщиком микроэлементов, многие из которых улучшают плодородие почв; обладают сорбционными и коагуляционными свойствами; участвуют в связывании тяжелых металлов в неподвижные комплексы (Gertler, 2009: 24; Milloli, 2009: 28; Joo, 2007: 26; El-Nemr, 2006: 22).

## Литература

- 1 Пачикин К.М., Ерохина О.Г. Географо-генетические исследования за годы независимости Казахстана // Почвоведение и агрохимия. – 2011. - № 4, С. 14-29.
- 2 Голицын А.Н. Промышленная экология и мониторинг загрязнения природной среды - М.: Оникс. - 2010. - 336 с.
- 3 Bento F.M., Camargo F.A., Okeke B.C., Frankenberger W.T. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. Bioresource Technology. - 2005; - №96(9). – Р.1049–1055.
- 4 Цомбуева Б. В., Горяшкина З. В., Щербакова Л. Ф. Метод очистки почвы от нефтяного загрязнения с помощью природных сорбентов // Вестник ВолГУ. - 2017. - Серия 11. Естественные науки. №2. - С. 19-25.
- 5 Гуслевский А. И., Канарская З. А. Перспективные технологии очистки воды и почвы от нефти и нефтепродуктов // Вестник Казанского технологического университета. - 2011. - №20. – С.191-199.
- 6 Мусина У.Ш. Коксуские шунгитистые породы в процессах обеспечения экологического равновесия. Журнал «Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета)». - Спб, - 2014, - № 23 (49), - С.79–82.
- 7 Eldor A. Paul. Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry. Academic Press is an imprint of Elsevier. - 2015.- 535 p.
- 8 Коваленко В.П., Турчанинов В.Е. Очистка нефтепродуктов от загрязнения – М.: Недра, - 1990. -141с.
- 9 Цыганова С.И., Веприкова Е.В., Терещенко Е.А., Фетисова О.Ю. Синтез магнитных нефтесорбентов на основе модифицированных опилок древесины // Экология и промышленность России. - 2014. – С.18-21.
- 10 Annuciado T.R., Sydenstricker T.H.D., Amico S.C. Experimental investigation of various vegetable fibers as sorbent materials for oil spills / Marine Pollution Bulletin. – 2005. -№50. Р. 1340–1346.
- 11 Щепакин М.Б., Мишулин Г.М. Гафаров И.Г. и др. Экосорбент как продукт управления ресурсами региона// Экология и промышленность России. – 2001. - №12. – С. 20-25.
- 12 Gertler C., Gerdts G., Timmis K. N., Yakimov M. M., Golyshin P. N. Pollutions of heavy fuel oil-degrading marine microbial community in presence of oil sorbent materials // Journal of Applied Microbiology. – 2009. – 107. –Р. 590–605.
- 13 Патент №. 2023685 Российская Федерация, МКИ C02F3/34. Способ биологической очистки сточных вод от органических загрязнений / Олешкевич Е.А., Макарова Н.А., Сагадиева Л.В. и др. - №4954561/26; заявл. 11.06.1991. Опубл. 30.11.1994. - Бюл. №22.
- 14 Евдокимова А.Ю., Фукс И.Г., Шабалина Т.Н., Багдасаров Л.Н. Смазочные материалы и проблемы экологии. М.: ГУП Издательство «Нефть и газ» РГУ нефти и газа имени И.М. Губкина. - 2000. – 424 с.
- 15 Попов С.Н., Морозова Л.Я., Герасимов А.И. Ликвидация аварийных разливов нефти со дна водоемов в условиях низких температур Якутии // Нефтяное, газовое, энергетическое и автотранспортное машиностроение. - 2011. - С. 463-466.
- 16 Попов С.Н., Морозова Л.Я., Ефимов С.Е., Герасимов А.И. Способы и средстванейтрализации аварийных разливов нефти в условиях низких температур Якутии // Электронный научный журнал «Нефтегазовое дело. – 2011. - №2. – С. 184-191.
- 17 Germida J.J., FrickR C.M., Farrell E. Phytoremediation of oil-contaminated soils // Developments in Soil Science . – 2002. - Volume 28, Part 2. - Р. 169-186.
- 18 Бурнистрова Т.И., Алексеева Т.П., В.Д. Перфильева, Терещенко Н.Н., Стахина Л.Д. Биодеградация нефти и нефтепродуктов в почве с использованием мелиорантов на основе активированного торфа // Химия растительного сырья. - 2003. - №3. - С. 69–72.

- 19 Неустроев М.М. Экологическая оценка нефтезагрязненных мерзлотных почв и разработка способов их биоремедиации. Дисс.на соиск. уч.ст. к.б.н., Якутск, - 2015. – 129 с.
- 20 Тихонович, И.А. Кооперация растений и микроорганизмов: новые подходы к конструированию экологически устойчивых агросистем /И.А. Тихонович, Н.А. Проворов // Успехи современной биологии. – 2007. – Т. 127, - № 4. – С. 339-357.
- 21 Turkayeva A., Jamalova G., Mussina U., Oshakbayev M., Timma L., Pubule Je., Blumberga D. Chemical and Microbiological Nature of Produced Water Treatment Biotechnology // International Scientific Conference “Environmental and Climate Technologies”, CONECT 2016, 12-14 October 2016, Riga, Latvia. Energy Procedia 113, - P. 116-120.
- 22 Joo H.S., Shoda M., Phae C.G. Degradation of diesel oil in soil using a food waste composting process. Biodegradation. – 2007. - 18(5). –P. 597–605.
- 23 Schaefer M., Juliane F. The influence of earthworms and organic additives on the biodegradation of oil contaminated soil // Applied Soil Ecology. – 2007. - 36(1). –P. 53–62.
- 24 Margesin R., Schinner F. Bioremediation (Natural Attenuation and Biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area // Applied and Environmental Microbiology. – 2001. - 67(7). –P. 3127–3133.
- 25 Millioli V.S., Servulo E-L.C., Sobral L.G.S., Carvalho D.D. Bioremediation of crude oil-bearing soil: evaluating the effect of rhamnolipid addition to soil toxicity and to crude oil biodegradation efficiency // Global Nest Journal. – 2009. - 11(2). –P.181–188.
- 26 El-Nemr A. Petroleum Contamination in Warm and Cold Marine Environments. Front Cover. Nova Publishers, - 2006. Science - 140 p.
- 27 ГН к безопасности окружающей среды (почве). Приказ Министра национальной экономики Республики Казахстан от 25 июня 2015 года - № 452.
- 28 Порядок определения размеров ущерба от загрязнения земель химическими веществами (утв. Роскомземом 10 ноября 1993 г. и Минприроды РФ 18 ноября 1993 г.).
- 29 Breck D.W. Zeolites molecular sieves, Structure, Chemistry and Use// New York, Wiley. – 1974. – P.771.
- 30 Jain A.K., Ross A.A., Nandakumar K. Introduction to Biometrics. Springer Publishing Company, Incorporated. – 2011. – 326 p.

### References

- 1 Annuciado T.R., Sydenstricker T.H.D., Amico S.C. (2005) Experimental investigation of various vegetable fibers as sorbent materials for oil spills. Marine Pollution Bulletin, №50. pp. 1340–1346.
- 2 Bento F.M., Camargo F.A., Okeke B.C., Frankenberger W.T. (2005) Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. Bioresource Technology, №96(9). pp. 1049–1055.
- 3 Breck D.W. (1974) Zeolites molecular sieves, Structure, Chemistry and Use. New York, Wiley. 771p.
- 4 Burmistrova T.I., Alekseeva T.P., V.D. Perfileva, Tereshchenko N.N., Stahina L.D. (2003) Biodegradaciya nefti i nefteproduktov v pochve s ispol'zovaniem meliorantov na osnove aktivirovannogo torfa [Biodegradation of oil and oil products in soil using meliorants based on activated peat] Himiya rastitel'nogo syr'ya. №3. pp. 69–72.
- 5 Combueva B.V., Goryashkiewa Z.V., Sherbakova L.F. (2017) Metod ochistki pochvy ot neftyanogo zagryazneniya s pomoshch'yu prirodnnyh sorbentov [Synthesis of magnetic oil samplers based on modified sawdust of wood] Vestnik VolGU, Seriya 11. Estestvennye nauki. №2. pp. 19-25.
- 6 Cyganova S.I., Veprikova E.V., Tereshchenko E.A., Fetisova O.Yu. (2014) Sintez magnitnyh neftesobiralej na osnove modifitsirovannyh opilok drevesiny [Synthesis of magnetic oil samplers based on modified sawdust of wood] Ekologiya i promyshlennost' Rossii, pp.18-21.
- 7 Eldor A. Paul. (2015) Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry. Academic Press is an imprint of Elsevier. 535 p.
- 8 El-Nemr A. (2006) Petroleum Contamination in Warm and Cold Marine Environments. Front Cover. Nova Publishers, Science. 140 p.
- 9 Evdokimova A.Yu., Fuks I.G., SHabalina T.N., Bagdasarov L.N. (2000) Smazochnye materialy i problemy ehkologii [Lubricants and environmental problems]. M.: GUP Izdatel'stvo «Neft' i gaz» RGU nefti i gaza imeni I.M. Gubkina.424 p.
- 10 Germida J.J., FrickR C.M., Farrell E. (2002) Phytoremediation of oil-contaminated soils. Developments in Soil Science, vol.28, Part 2. pp. 169-186.
- 11 Gertler C., Gerdts G., Timmis K. N., Yakimov M. M., Golyshin P. N. (2009) Pollutions of heavy fuel oil-degrading marine microbial community in presence of oil sorbent materials. Journal of Applied Microbiology, 107. pp. 590–605.
- 12 ГН к безопасности окружной среды (почве) [GNs to environmental safety (soil)]. (2015) Prikaz Ministra nacional'noj ekonomiki Respubliki Kazahstan ot 25 iyunya. № 452.
- 13 Golycyn A.N. (2010) Promyshlennaya ehkologiya i monitoring zagryazneniya prirodnoj sredy [Industrial ecology and monitoring of environmental pollution] - M.: Oniks. -336 p.
- 14 Guslavskij A. I., Kanarskaya Z. A. (2011) Perspektivnye tekhnologii ochistki vody i pochvy ot nefti i nefteproduktov [Perspective technologies of water and soil purification from oil and oil products] Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta. №20. pp.191-199.
- 15 Jain A.K., Ross A.A., Nandakumar K. (2011) Introduction to Biometrics. Springer Publishing Company, Incorporated. 326 p.
- 16 Joo H.S., Shoda M., Phae C.G. (2007) Degradation of diesel oil in soil using a food waste composting process. Biodegradation, 18(5). pp. 597–605.

- 17 Kovalenko V.P., Turchaninov V.E. (1990) Ochistka nefteproduktov ot zagryazneniya [Cleaning of petroleum products from pollution] – M.: Nedra, 141 p.
- 18 Margesin R., Schinner F. (2001) Bioremediation (Natural Attenuation and Biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7). pp. 3127–3133.
- 19 Millioli V.S., Servulo E-L.C., Sobral L.G.S., Carvalho D.D. (2009) Bioremediation of crude oil-bearing soil: evaluating the effect of rhamnolipid addition to soil toxicity and to crude oil biodegradation efficiency. *Global Nest Journal*, 11(2). pp.181–188.
- 20 Musina U.Sh. (2014) Koksuskie shungitistye porody v processakh obespecheniya ekologicheskogo ravnovesiya [Koksu shungitic rocks in the processes of ensuring ecological balance]. *ZHurnal Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo instituta (tekhnicheskogo universiteta)*, Spb, № 23 (49), pp.79–82.
- 21 Neustroev M.M. (2015) Ekologicheskaya ocenka neftezagryaznennyh merzlotnyh pochv i razrabotka sposobov ih bioremediacii [Ecological assessment of oil-contaminated permafrost soils and development of methods for their bioremediation]. Diss.na soisk. uch.st. k.b.n., Yakutsk, 129 p.
- 22 Pachikin K.M., Erohina O.G. (2011) Geografo-geneticheskie issledovaniya za gody nezavisimosti Kazahstana [Geographical and genetic studies over the years of independence of Kazakhstan] *Pochvovedenie i agrohimija*, № 4, pp.14-29.
- 23 Patent №. 2023685 Rossijskaya Federaciya, MKI C02F3/34. Sposob biologicheskoy ochistki stochnyh vod ot organiceskikh zagryaznenij [The method of biological treatment of sewage from organic pollutants] / Oleshkevich E.A., Makarova N.A., Sagadieva L.V. i dr. - №4954561/26; zayavl. 11.06.1991. Opubl. 30.11.1994. - Byul. №22.
- 24 Popov S.N., Morozova L.YA., Efimov S.E., Gerasimov A.I. (2011) Sposoby i sredstva nejtralizacii avariynyh razlivov nefti v usloviyah nizkih temperatur Yakutii [Methods and means of neutralizing oil spills in conditions of low temperatures in Yakutia] *Elektronnyj nauchnyj zhurnal «Neftegazovoe delo*, №2. pp. 184-191.
- 25 Popov S.N., Morozova L.Ya., Gerasimov A.I. (2011) Likvidaciya avariynyh razlivov nefti so dna vodoemov v usloviyah nizkih temperatur Yakutii [Liquidation of emergency oil spills from the bottom of water bodies in the conditions of low temperatures of Yakutia] *Neftyanoe, gazovoe, ehnergeticheskoe i avtotransportnoe mashinostroenie*, pp. 463-466.
- 26 Poryadok opredeleniya razmerov ushcherba ot zagryazneniya zemei' himicheskimi veshchestvami [Cooperation of plants and microorganisms: new approaches to the design of environmentally sustainable agro-systems] (utv. Roskomzemom 10 noyabrya 1993 g. i Minprirody RF 18 noyabrya 1993 g.).
- 27 Schaefer M., Juliane F. (2007) The influence of earthworms and organic additives on the biodegradation of oil contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, 36(1). pp. 53–62.
- 28 Shepakin M.B., Mishulin G.M. Gafarov I.G. etc. (2001) Ekosorbent kak produkt upravleniya resursami regiona [Ecosorbent as a product of regional resource management] *Ekologiya i promyshlennost' Rossii*, №12. pp. 20-25.
- 29 Tihonovich, I.A. (2007) Kooperaciya rastenij i mikroorganizmov: novye podhody k konstruirovaniyu ekologicheski us-tojchivyh agrosistem [Method of soil purification from oil pollution with the help of natural sorbents] *Uspekhi sovremennoj biologii*, T. 127, № 4. pp. 339-357.
- 30 Turkayeva A., Jamalova G., Mussina U., Oshakbayev M., Timma L., Pubule Je., Blumberga D. (2016) Chemical and Microbiological Nature of Produced Water Treatment Biotechnology. International Scientific Conference “Environmental and Climate Technologies”, CONECT, 12-14 October 2016, Riga, Latvia. *Energy Procedia* 113, pp. 116-120.

---

## МАЗМҰНЫ – СОДЕРЖАНИЕ

### 1-бөлім Раздел 1 Ботаника Ботаника

|   |   |
|---|---|
| <i>Ишаева А., Чекалин С., Назарбекова С., Данилов М.</i><br>Виды рода <i>Berberis</i> L. Казахстана и их природные ареалы ..... | 4 |
|---|---|

### 2-бөлім Раздел 2 Зоология Зоология

|  |    |
|--|----|
| <i>Сергазинова З.М., Ержанов Н.Т., Дупал Т.А., Макаров А.В., Литвинов Ю.Н.</i><br>Население мелких млекопитающих в условиях техногенного загрязнения Северного Казахстана<br>(на примере г. Павлодара) ..... | 20 |
|--|----|

### 3-бөлім Раздел 3 Биотехнология Биотехнология

|   |    |
|---|----|
| <i>Толембетова А.К., Турашева С.К., Иманбаева А.А., Ерназарова Г.И., Серикова З.Б.</i><br>Микроклональное размножение коммерческих сортов роз <i>in vitro</i> .....   | 32 |
| <i>Turasheva S.K., Muhambetzhhanov S.K., Orazova S.B., Kosalbaev B., Zhardamalieva A.B., Ajtbaeva D.B., Omirbekova N.Zh.</i><br>In vitro clonal propagation of repairing hybrids of wild strawberry <i>Fragaria ananassa</i> Duch. .... | 42 |

### 4-бөлім Раздел 4 Молекулалық Молекулярная биология және генетика биология и генетика

|   |    |
|---|----|
| <i>Aisina D., Niyazova R., Atambayeva Sh., Imyanitov E., Ivashchenko A.</i><br>Features of miRNA binding with mRNA of candidate genes of breast cancer subtypes .....   | 52 |
| <i>Yurikova O., Atambaeva Sh., Bolshoy A., Ivashchenko A.</i><br>miR-1322 binding sites in mRNAs of genes involved in the development of neurodegenerative and oncological diseases .....                               | 67 |
| <i>Ашиербеков Е., Ботбаев Д., Белкожаев А., Абайлдаев А., Мухатаев Ж., Алжанулы Б., Лимборская С., Айтхожина Н.</i><br>Анализ жузовой организации казахских племен на основе распределения гаплогрупп у-хромосомы ..... | 81 |
| <i>Тайпакова С.М., Смекенов И.Т., Куанбай А.К., Сапарбаев М.К., Бисенбаев А.К.</i><br>Чувствительность агр–/– мутантных растений <i>Arabidopsis thaliana</i> к генотоксическим агентам.....                             | 90 |

### 5-бөлім Раздел 5 Адам және жануарлар Физиология и биохимия физиологиясы мен биохимиясы человека и животных

|   |     |
|---|-----|
| <i>Оразова С.Б., Шарапова Л.И., Кайрат Б.К., Сержанова С.С., Омирбекова Н.Ж.</i><br>Биохимический анализ биомассы ракча <i>Artemia</i> sp. и его цист из популяций некоторых соляных озер<br>Павлодарской области .....                                 | 104 |
| <i>Толеуханов С.Т., Салатова О.И., Жанабаев З.Ж., Оралбек А.Н., Жексебай Д.М.</i><br>Физикалық жүктемеге дейінгі және кейінгі адамдардың кардионтервал тербелімдері мен пульстериңің тәуліктік<br>динамикасының энтропиялық көрсеткіштерін зерттеу..... | 115 |

### 6-бөлім Раздел 6 Микробиология Микробиология

|  |     |
|--|-----|
| <i>Гончарова А.В., Карпенюк Т.А., Туфуминова Я.С., Карелова Д.С., Калбаева А.М.</i><br>Изучение углеводородокисляющего потенциала ассоциаций бактерий Каспийского региона для создания препаратов<br>для биоремедиации .....   | 126 |
| <i>Еликеев Б.К., Мусина У.Ш., Джамалова Г.А., Мусина Г.Ш., Тоганбай А.Н., Курбанова Л.С., Сарсенбаев С.О.,<br/>Сыбанбаева М.А.</i><br>Биоремедиация нефтезагрязненных почв на основе природного и техногенного углеродсодержащего<br>биактиватора – коксусского шунгита..... | 141 |

---

## МАЗМҰНЫ – СОДЕРЖАНИЕ

### Section 1 Botany

|   |   |
|---|---|
| Ishayeva A., Chekalin S., Nazarbekova S., Danilov M.<br>Kazakhstan species of <i>Berberis</i> L. and their natural habitats ..... | 4 |
|---|---|

### Section 2 Zoology

|   |    |
|---|----|
| Sergazinova Z.M., Erzhanov N.T., Dupal T.A., Makarov A.V., Litvinov Yu.N.<br>The population of small mammals in conditions of technogenic pollution of Northern Kazakhstan<br>(on an example of Pavlodar) ..... | 20 |
|---|----|

### Section 3 Biotechnology

|   |    |
|---|----|
| Tolembetova A.K., Turasheva S.K., Imanbaeva A.A., Ernazarova G.I., Serikova Z.B.<br>Microclonal propagation in vitro of commercial varieties of rose .....  | 32 |
| Turasheva S.K., Muhambetzhanov S.K., Orazova S.B., Kosalbaev B., Zhardamalieva A.B., Ajtbaeva D.B., Omirbekova N.Zh.<br>In vitro clonal propagation of repairing hybrids of wild strawberry <i>Fragaria ananassa</i> Duch ..... | 42 |

### Section 4 Molecular biology and Genetics

|   |    |
|---|----|
| Aisina D., Niyazova R., Atambayeva Sh., Imyanitov E., Ivashchenko A.<br>Features of miRNA binding with mRNA of candidate genes of breast cancer subtypes .....  | 52 |
| Yurikova O., Atambaeva Sh., Bolshoy A., Ivashchenko A.<br>miR-1322 binding sites in mRNAs of genes involved in the development of neurodegenerative and oncological diseases .....  | 67 |
| Ashirbekov E., Botbaev D., Belkozhaev A., Abayldaev A., Mukhataev Zh., Alzhanuly B., Limborska S., Aitkhozhina N.<br>Analysis of organization of kazakh tribes in zhusez on the basis of the distribution of y-chromosome haplogroups ..... | 81 |
| Taipakova S.M., Smekenov I.T., Kuanbay A.K., Saparbayev M.K., Bissenbaev A.K.<br>Sensitivity of arabidopsis thaliana arp -/- mutants to genotoxic agents.....   | 90 |

### Section 5 Human and Animal Physiology and Biochemistry

|  |     |
|--|-----|
| Orazova S.B., Sharapova L.I., Kairat B.K., Serzhanova S.S., Omirbekova N.Zh.<br>Biochemical analysis of biomass and cysts of brine shrimp <i>Artemia</i> sp. from some salt lakes of the Pavlodar area populations ...                     | 104 |
| Tuleukhanov S.T., Salatova O.I., Zhanabayev Z.Zh., Oralbek A.N., Zhelyebay D.M.<br>The research of entropy characteristics of circadian dynamics with pulse and motion of rr interval from peoples before<br>and after physical load ..... | 115 |

### Section 6 Microbiology

|  |     |
|--|-----|
| Goncharova A.V., Karpenyuk T.A., Tufuminova Ja.S., Karelova D.S., Kalbaeva A.M.<br>Studying of the hydrocarbon-oxidizing potential of Caspian region bacteria associations for creation of preparations<br>for bioremediation.....                             | 126 |
| Yelikbayev B.K., Mussina U.Sh., Jamalova G.A., Mussina G.Sh., Toganbai A.N., Kurbanova L.S., Sarsenbaev S.O.,<br>Sybanbaeva M.A.<br>Bioremediation of oil-polluted soils based on natural and technogenic carbon-containing bioactivator - koks shungite ..... | 141 |