ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498
Индекс 75866; 25866

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ХАБАРШЫ

Биология сериясы

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

ВЕСТНИК

Серия биологическая

AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

EXPERIMENTAL BIOLOGY

№3 (80)

Алматы
«Қазақ университеті»
2019

ISSN 1563-0218; eISSN 2617-7498
Индекс 75866; 25866

KazNU Science · ҚазҰУ Ғылымы · Наука КазНУ

ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ №3 (80) қыркүйек

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

Куәлік №956-Ж.

Журнал жылына 4 рет жарыққа шығады

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

РЕДАКЦИЯ АЛҚАСЫ:
Бисенбаев А.Қ., б.ғ.д., ҚР ҰҒА академигі (ғылыми редактор) (*Қазақстан*)
Бекманов Б.О., б.ғ.к., доцент (ғылыми редактордың орынбасары) (*Қазақстан*)
Төлеуханов С.Т., б.ғ.д., профессор (*Қазақстан*)
Айташева З.Г., б.ғ.д., профессор (*Қазақстан*)
Кистаубаева А.С., б.ғ.к. (*Қазақстан*)
Иващенко А.Т., б.ғ.д., профессор (*Қазақстан*)
Мухитдинов Н.М., б.ғ.д., профессор (*Қазақстан*)
Нуртазин С.Т., б.ғ.д., профессор (*Қазақстан*)
Туруспеков Е.К., б.ғ.к., қауымдастырылған профессор (*Қазақстан*)
Омаров Р.Т., PhD (*Қазақстан*)
Искаков Б.К., б.ғ.д., профессор (*Қазақстан*)
Сарбасов Д., PhD, профессор (*АҚШ*)
Орынбаева З., PhD, профессор (*АҚШ*)
Курмашева Р.Т., PhD (*АҚШ*)
Сапарбаев М., PhD, профессор (*Франция*)
Ищенко А., PhD (*Франция*)
Лось Д., б.ғ.д., профессор (*Ресей*)

ТЕХНИКАЛЫҚ ХАТШЫ
Қайрат Б.Қ., биология магистрі (*Қазақстан*)

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

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

ҚАЗАҚ УНИВЕРСИТЕТІ БАСПА ҮЙІ

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

Редакторлары:
Гульмира Бекбердиева
Ағила Хасанқызы

Компьютерде беттеген
Айгүл Алдашева

ИБ № 13076

Пішімі 60x84 $^{1}/_{8}$. Көлемі 15.5 б.т. Тапсырыс № 6079.
Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің «Қазақ университеті» баспа үйі.
050040, Алматы қаласы, әл-Фараби даңғылы, 71.
«Қазақ университеті» баспа үйінің баспаханасында басылды.

© Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, 2019

1-бөлім
БОТАНИКА

Section 1
BOTANY

Раздел 1
БОТАНИКА

МРНТИ 34.05.15 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b1

Апушев А.К.[1], Вдовина Т.А.[2], Сулейменов А.Н.[3], Винокуров А.А.[4]

[1]доктор сельскохозяйственных наук, e-mail: altai_bs@mail.ru
[2]кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: altai_bs@mail.ru
[3]старший научный сотрудник, e-mail:altai_bs@mail.ru
[4]старший научный сотрудник, e-mail: altai_bs@mail.ru
РГП на ПХВ «Алтайский ботанический сад» КН МОН РК, Казахстан, г. Риддер

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ДРЕВЕСНЫХ И КУСТАРНИКОВЫХ РАСТЕНИЙ В АРИДНЫХ УСЛОВИЯХ ПРЕДГОРНОЙ ЗОНЫ ЮГО-ВОСТОКА КАЗАХСТАНА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРИМЕНЯЕМЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ВЛАГООБЕСПЕЧЕНИЯ

В данной статье рассмотрен водный режим 11 видов древесно-кустарниковых растений в предгорной зоне юго-востока Казахстана. В результате исследований выявлены виды: Malus domestica cv. 'Салтанат', Ribes nigrum L. cv. 'Минай Шмырев', Thuja occidentalis L., Tilia cordata Mill., Berberis iliensis M. Pop., Padus racemosa (Lam.) Gilib., Crataegus oxyacantha L., имеющие высокую водоудерживающую способность и общую оводненность. Применяемые технологии влагообеспечения специфично влияют на каждую из испытываемых культур и позволяют говорить о хорошей адаптивности декоративно-кустарниковых растений. Гидрогель «Аквасорбс» является эффективным средством регулирования водоудерживающей способности почв. Сравнительный анализ физиологических процессов водного режима растений между разными водосберегающими технологиями показал, что применение влагопоглощающего полимера «Аквасорбс» наиболее эффективно в дозе 1,0 кг/м^3. Также хорошие результаты получены в варианте – полив по бороздам, который является контролем.

Цель исследований заключалась в научном обосновании и разработке приемов использования полимерного гидрогеля «Аквасорбс» для улучшения водно-физических свойств почвы, что будет способствовать развитию потребительского и декоративного садоводства в аридных районах юго-востока Казахстана.

Ключевые слова: гидрогель, «Аквасорбс», древесно-кустарниковые растения, вариант, климат, водоудерживающая способность, общая оводненность.

Apushev A.K.[1], Vdovina T.A.[2], Suleimenov A.N.[3], Vinokurov A.A.[4]

[1]doctor of agricultural sciences, e-mail: altai_bs@mail.ru
[2]candidate of biological scinces, leading reseacher, e-mail: altai_bs@mail.ru
[3]senior researcher,e-mail: altai_bs@mail.ru
[4]senior researcher,e-mail: altai_bs@mail.ru
Altai Botanical Garden, Kazakhstan, Ridder

Physiological condition of trees and shrubs under arid conditions of the foothill zone in the south-east of Kazakhstan depending on the applied technologies moisture protection

This article describes the water regime of 11 trees and shrubs species in the foothill zone of the south-east of Kazakhstan. In the research results identified some species: Malus domestica cv. 'Saltanat', Ribes nigrum L. cv. 'Minai Shmyrev', Thuja occidentalis L., Tilia cordata Mill., Berberis iliensis M. Pop., Padus racemosa (Lam.) Gilib., Crataegus oxyacantha L., that have high moisture supported ability and general water content. The applied technologies of moisture supply specifically affect each of the test crops and suggest a good adaptability of the ornamental-shrub plants. Hydrogel «Aquasorbs» is an effective means of regulating the water-holding capacity of the soil. A comparative analysis of the physiological processes of the water regime of plants between different water-saving technologies showed that the use of the moisture-absorbing polymer «Aquasorbs» is most effective at a dose of 1.0 kg/m^3. Also, good results were obtained in the variant – furrow irrigation, which is a control.

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

The purpose of the research was the scientific substantiation and development of methods for the use of polymer hydrogel «Aquasorbs» to improve the water-physical properties of the soil, which will contribute to the development of consumer and ornamental horticulture in the arid regions of South-East Kazakhstan.

Key words: hydrogel, Aquasorbs, trees and shrubs, variant, climate, water holding capacity, total water content.

Апушев А.К.[1], Вдовина Т.А.[2], Сүлейменов А.Н.[3], Винокуров А.А.[4]

[1]ауылшаруашылық ғылымдарының докторы, e-mail: altai_bs@mail.ru
[2]биология ғылымдарының кандидаты, жетекші ғылыми қызметкері, e-mail: aaltai_bs@mail.ru
[3]аға ғылыми қызметкері, e-mail: altai_bs@mail.ru
[4]аға ғылыми қызметкері, e-mail: altai_bs@mail.ru
ҚР БҒМ ҒМ «Алтай ботаникалық бағы» ШЖҚ РМК, Қазақстан, Риддер қ.

Қолданылатын сумен қамтамасыз ету технологияларын қолдануға байланысты оңтүстік-шығыс Қазақстанның тау етегі аймағының құрғақшылық жағдайындағы ағашты және бұталы өсімдіктердің физиологиялық көрсеткіштері

Бұл мақалада Қазақстанның оңтүстік-шығысындағы тау бөктеріндегі ағаш-бұта өсімдіктерінің 11 түрінің су режимі қарастырылған. Зерттеу нәтижесінде жоғары су ұстағыш қабілеті бар және жалпы сулануы бар түрлер анықталды, олар: Malus domestica cv. 'Салтанат', Ribes nigrum L. cv. 'Минай Шмырев', Thuja occidentalis L., Tilia cordata Mill., Berberis iliensis M. Pop., Padus racemosa (Lam.) Gilib., Crataegus oxyacantha L. Қолданылатын ылғалмен қамтамасыз ету технологиялары сыналатын дақылдардың әрқайсысына ерекше әсер етеді және сәндік-бұта өсімдіктерінің бейімделуі жақсы екендігі туралы айтуға мүмкіндік береді. «Аквасорб» гидрогелі топырақтың су ұстағыш қабілетін реттеудің тиімді құралы болып табылады. Әртүрлі су үнемдеуші технологиялар арасындағы өсімдіктердің су режимінің физиологиялық үдерістерін салыстырмалы талдау, ылғалмен қоректендіретін полимер «Аквасорбс»-ты 1,0 кг/м^3 дозада қолдану тиімді болатынын көрсетті. Сондай-ақ жақсы нәтижелер – бақылау болып табылатын бороздар бойынша суару нұсқасында болды.

Зерттеудің мақсаты Топырақтың су-физикалық қасиеттерін жақсарту үшін «Аквасорбс» полимерлі гидрогельді пайдалану тәсілдерін ғылыми негіздеу және әзірлеу болып табылады, бұл Қазақстанның оңтүстік-шығысындағы аридті аудандарда тұтыну және сәндік бағбандықты дамытуға ықпал етеді.

Түйін сөздер: гидрогель, «Аквасорбс», ағаш-бұта өсімдіктері, нұсқа, климат, суұстау қабілеті, жалпы сулану.

Введение

Обеспеченность растений водой – важнейшее условие их нормального функционирования. Водный режим растений представляет собой совокупность ряда процессов: поглощение воды растением; проведение воды по растению; потеря воды в процессе транспирации (испарения), усвоение воды клетками. Длительное ухудшение водообеспеченности растений даже при относительно небольшом уменьшении водного потенциала приводит к нарушению оптимального соотношения между фотосинтезом и дыханием, вследствие чего снижаются уровень синтетических процессов и продуктивность растений. Особенно опасен длительный водный дефицит при закладке репродуктивных органов. Не случайно этот период называют критическим в отношении влагообеспечения. Если в почве достаточно доступной воды, все эти изменения остаются обратимыми и дефицит воды в растении ликвидируется. Сравнение прихода воды и ее расхода носит название водного баланса растения. Если расход воды превышает ее приход, то в растении возникает водный дефицит [1, 2, 3, 4].

Актуальность данной работы связана с ростом водопотребления в сельском хозяйстве с интенсивным развитием орошения, на которые приходится более 2/3 выпускаемой растениеводческой продукции. Значительный забор воды в бассейнах Амударьи и Сырдарьи привел к экологической проблеме с Аральским морем и оз. Балхаш. С нарастанием дефицита водных ресурсов в этом регионе остро встает вопрос внедрения современных водосберегающих технологий [5].

К числу перспективных мелиоративных средств, расширяющих возможности управления водным режимом почв, относятся влагонабухающие полимерные гидрогели. Сильнонабухающие полимерные гидрогели (СПГ)

представляют собой класс материалов, которые используются в растениеводстве для улучшения водно-физических свойств почвы. При поливе они накапливают большое количество воды и постепенно отдают ее растениям [6, 7, 8, 9]. Их применение позволяет растению преодолеть стрессовые ситуации, связанные с нехваткой воды, а также значительно снизить вымывание удобрений в нижние слои почвы [10, 11, 12,13]. В трудах зарубежных ученых приводятся данные о положительном влиянии различных гидрогелей на сохранность растений их адаптацию [14, 15, 16, 17, 18].

Цель наших исследований заключалась в научном обосновании и разработке приемов использования полимерного гидрогеля «Аквасорбс» для улучшения водно-физических свойств почвы, что будет способствовать развитию потребительского и декоративного садоводства в аридных районах юго-востока Казахстана.

Опытный участок на котором произрастают растения находится в Енбекшиказахском районе Алматинской области. Климат района резко континентальный. Зима мягкая, лето жаркое. Средние температуры января – 6-10°С, июля + 20-24°С. Среднегодовая температура воздуха +6,2- 8,0 °С. Абсолютный максимум воздуха +37-41°С, абсолютный минимум -33-35°С. Сумма положительных температур воздуха за теплый период 3250-3400°С, за период активной вегетации – 2500-3050°С. Безморозный период длится 160-170 дней. Весенние заморозки заканчиваются в конце апреля, осенью наступают в первой декаде октября. Сумма осадков за год в районе опытного участка 420-500 мм, 70-75% выпадает в теплое время года. Зима умеренно теплая, обычно растения зимуют без повреждений [19]. Однако в зимы, характеризующие частой оттепелью и сухостью воздуха, происходит зимнее иссушение почек и побегов у отдельных видов и сортов.

Почва, где располагается основная масса корней (5-35 см) опытных растений – темно-серая с коричневым оттенком во влажном состоянии, пылевато-комковатой структуры. Механический состав по генетическим горизонтам достаточно однороден. Количество усвояемого фосфора в почве составляет 3,18 мг на 100 грамм почвы (горизонт А), 1,33 мг на 100 грамм почвы (горизонт В), калия, соответственно, 77,24-24,00 мг на 100 грамм почвы, т.е. обеспеченность усвояемыми формами фосфора слабая, калием – высокая, что связано с богатством почвообразующей породы первичными калий содержащими минералами. Содержание гумуса в горизонте А составляет от 1,7 % до 2,4% [20]. Вышеприведенное позволяет считать, что почвенные условия опытного участка благоприятны для выращивания древесных и кустарниковых интродуцентов.

Материалы и методики исследования

В эксперимент были включены следующие виды: ель сибирская – *Piceae obovata* Ledb., туя западная – *Thuja occidentalis* L., черемуха обыкновенная – *Padus racemosa* (Lam.) Gilib., береза бородавчатая – *Betula pendula* Roth., липа мелколистная – *Tilia cordata* Mill., клен остролистный – *Acer platanoides* L., боярышник обыкновенный – *Crataegus oxyacantha* L., яблоня домашняя – *Malus domestica* cv. *‘Салтанат’*, смородина черная – *Ribes nigrum* L. cv. *‘Минай Шмырев’*, барбарис илийский – *Berberis iliensis* M. Pop.

Опыт поставлен в пяти вариантах: I – применение водопоглощающего полимера «Аквасорбс», норма внесения 1,0 кг/м^3 (125 г для деревьев и 90 г для кустарников), с поливом в максимально засушливый период; II – применение водопоглощающего полимера «Аквасорбс», норма внесения 1,5 кг/м^3 (188 г для деревьев и 135 г для кустарников), с поливом в максимально засушливый период; III – применение водопоглощающего полимера «Аквасорбс», норма внесения 2,0 кг/м^3 (250 г для деревьев и 180 г для кустарников), с поливом в максимально засушливый период; IV – использование оросительной системы капельного типа; V – полив по бороздам служит контролем [21].

Параметры водного режима (общая оводненность, водоудерживающая способность, содержание «подвижной» влаги) определяли по общепринятым методикам [22]. Исследования проводились с периодичностью в 30 дней (июнь, июль, август) Для отслеживания динамики потери воды листья взвешиваются через 0,5 часа, в течение 3 часов, что составляет 9 измерений, включая взвешивание первоначальной сырой массы листьев одного образца и определение сухого веса при температуре 105-110ºС до постоянной массы.

Общая оводненность листьев рассчитывается по формуле :

$$W=100\times(M-M2)/M$$

Водоудерживающая способность листьев:

$$R=100\times(M1-M2)/M$$

Содержание «подвижной» влаги в листьях:

$$L=W-R$$

где: М – масса свежей пробы; М1 – масса пробы спустя 3 часа; М2 – масса пробы после высушки.

Водоудерживающая способность, общая оводненность листьев, содержание «подвижной» влаги в листьях определены как в динамике по месяцам, так и в целом за вегетацию.

Результаты исследований и их обсуждение

Оценить уровень водообмена растений позволяет ряд показателей, среди которых водоудерживающая способность листьев. Водоудерживающая способность листьев (ВСЛ) показывает, насколько способны ткани растения удерживать определенное количество воды. ВСЛ, определяемая в разные фазы развития живого организма, косвенно характеризует его адаптационные возможности в процессе онтогенеза. Чем больше водоудерживающая способность, тем больше вероятность противостоять обезвоживанию тканей в экстремальных условиях среды [23, 24, 25, 26].

По данным диаграммы, приведенной ниже можно судить о влиянии вариантов опыта на водоудерживающую способность листьев за вегетацию (рисунок 1).

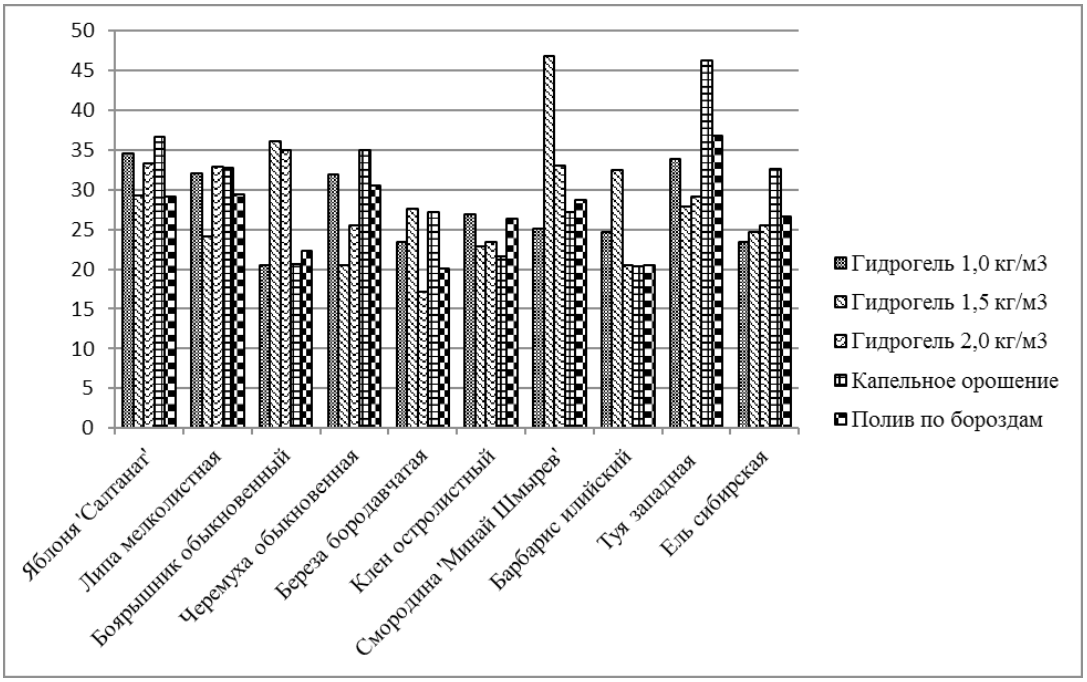


Рисунок 1 – Водоудерживающая способность листьев древесных и кустарниковых растений за вегетационный период

Так, наибольшей водоудерживающей способностью обладают листья смородины черной – *Ribes nigrum* L. cv. *'Минай Шмырев'* и туи западной – *Thuja occidentalis* L., более 45%. Вместе с тем каждая культура специфично реагирует на применяемые технологии влагообеспечения. Так, для смородины черной – *Ribes nigrum* L. cv. *'Минай Шмырев'*, лучшим оказался вариант применения гидрогеля с нормой 1,5 кг/м^3, а для туи западной – *Thuja occidentalis* L., капельное орошение. Все испытываемые культуры показывают высокую адаптивность к засушливым условиям предгорной зоны Юго-востока Казахстана, их водоудерживающая способность в течении вегетации не снижалась ниже 20%, лишь в случае с березой бородавчатой – *Betula pendula* Roth. она оказалась ниже.

Одним из важнейших показателей жизнеспособности растений является степень оводненности их тканей. Проведенные исследования показали, что общая оводненность в зависимости от культуры и видов колеблется в пределах 45-80% (рисунок 2).

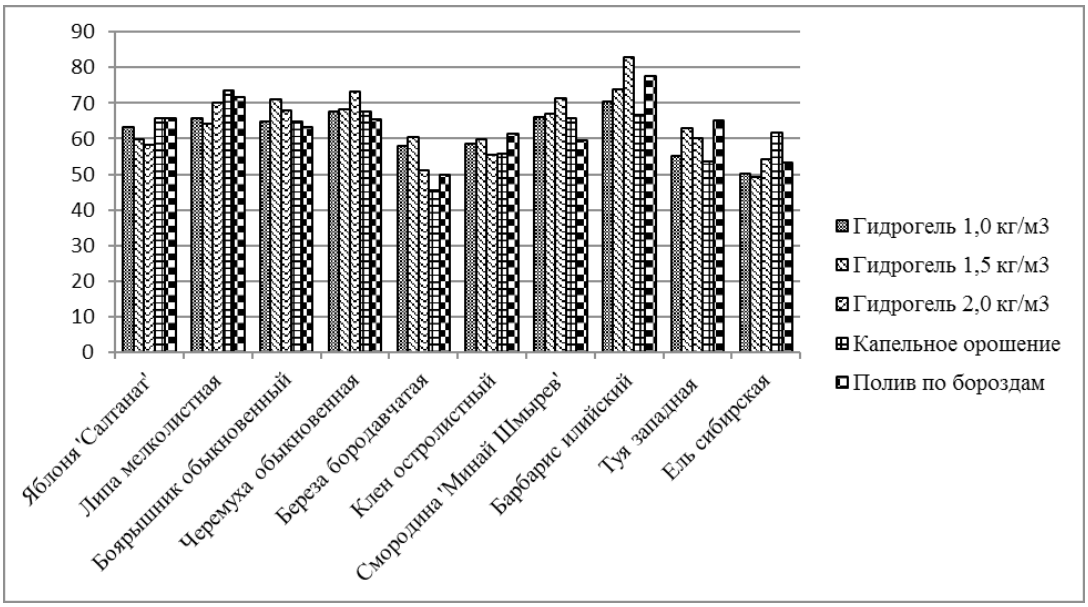


Рисунок 2 – Общая оводненность листьев древесных и кустарниковых растений за вегетационный период

По этому показателю опытные растения можно подразделить на три группы: растения с низкой (меньше 60%), средней (61-70%) и высокой степенью оводненности (больше 71%). К первой группе можно отнести: березу бородавчатую – *Betula pendula* Roth., клен остролистный – *Acer platanoides* L., ель сибирскую – *Piceae obovata* Ledb., ко второй группе: липу мелколистную – *Tilia cordata* Mill., боярышник обыкновенный – *Crataegus oxyacantha* L., черемуху обыкновенную – *Padus racemosa* (Lam.) Gilib. и смородину черную – *Ribes nigrum* L. cv. *'Минай Шмырев'*, к третьей группе барбарис илийский – *Berberis iliensis* M. Pop.

Применяемые технологии влагообеспечения специфично влияют на каждую из испытываемых культур. На барбарис илийский – *Berberis iliensis* M. Pop., обладающий высокой общей оводненностью благоприятно влияют гидрогель с нормой 2 кг/м^3 и полив по бороздам. Оводненность листьев липы мелколистной – *Tilia cordata* Mill., и ели сибирской – *Piceae obovata* Ledb. повышаются при капельном орошении. Для боярышника обыкновенного – *Crataegus oxyacantha* L. и березы бородавчатой – *Betula pendula* Roth., благоприятно влияет применение гидрогеля с нормой 1,5 кг/м^3, а для яблони домашней – *Malus domestica* cv. *'Салтанат'* эффективен гидрогель с нормой 1,0 кг/м^3. Общая оводненность листьев декоративно-кустарниковых растений варьировала от 45% у березы бородавчатой – *Betula pendula* Roth., при капельном орошении, до 80% у барбариса илийского – *Berberis iliensis* M. Pop., с внесением препарата «Аквасорбс» в дозе 2,0 кг/м^3.

Одним из важных показателей адаптивности растений к конкретным почвенно-климатическим условиям является содержание «подвижной» влаги в листьях. Наибольшее содержание «подвижной» влаги было в листьях барбариса илийского – *Berberis iliensis* M. Pop. (рисунок 3).

Следующие по этому показателю черемуха обыкновенная – *Padus racemosa* (Lam.) Gilib. и боярышник обыкновенный – *Crataegus oxyacantha* L.. Применение гидрогеля с нормой 2 кг/м^3 способствует повышению содержания «подвижной» влаги в листьях барбариса илийского – *Berberis iliensis* M. Pop., черемухи обыкновенной – *Padus racemosa* (Lam.) и ели сибирской – *Piceae obovata* Ledb. Внесение гидрогеля в норме 1,5 кг/м^3 способствует повышению содержания «подвижной» влаги в листьях яблони домашней – *Malus domestica* cv. *'Салтанат'*, черемухи обыкновенной – *Padus racemosa* (Lam.), клена остролистного – *Acer platanoides* L. и туи западной – *Thuja occidentalis* L. Капельное орошение и гидрогель «Аквасорбс» с нормой 1,0 кг/м^3 благоприятно влияют на содержание «подвижной» влаги в листьях ели сибирской – *Piceae obovata* Ledb., боярышника обыкновенного *Crataegus oxyacantha* L., смородины черной – *Ribes nigrum* L. cv. *'Минай Шмырев'*.

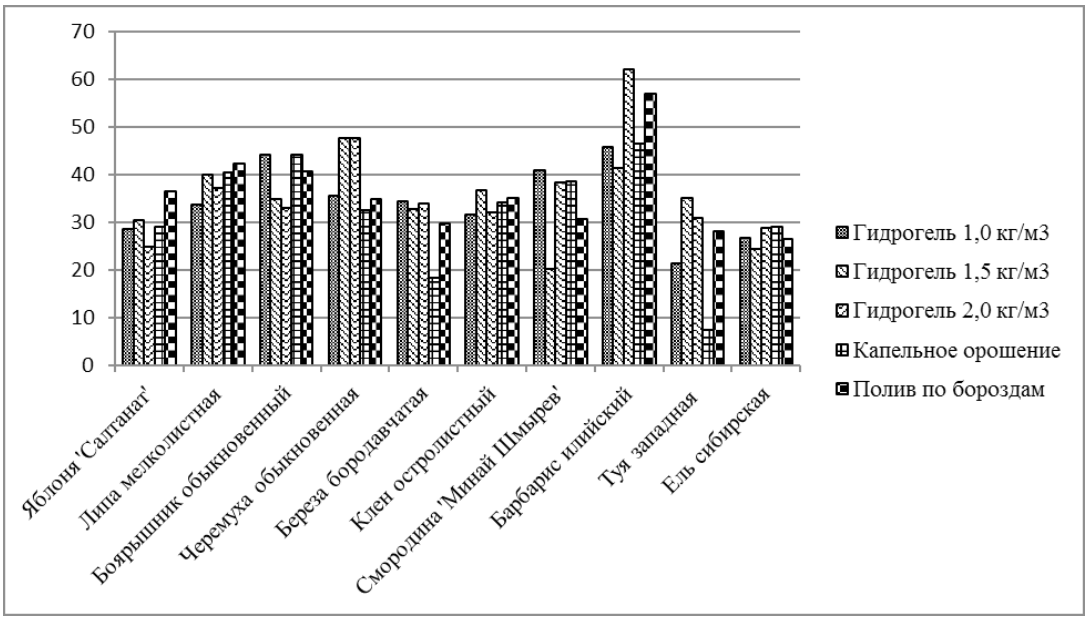


Рисунок 3 – Содержание «подвижной» влаги в листьях древесных и кустарниковых растений за вегетационный период

Заключение

Проведенные исследования позволяют говорить о хорошей адаптивности декоративно-кустарниковых растений при применении влагосберегающих технологий в регионах с выраженной аридностью климата, в условиях повышенных летних температур. Вместе с тем, эти виды испытывают недостаток влаги в период от цветения до созревания плодов. И все же действие засухи сказывается на основных фазах развития растений. Сравнительный анализ физиологических процессов водного режима растений между разными водосберегающими технологиями показал, что применение влагопоглащающего полимера «Аквасорбс» наиболее эффективно в дозе 1,0 кг/м^3. Также хорошие результаты получены в варианте, – полив по бороздам, который является контролем. При изучении адаптации (жаростойкость, водоудерживающая способность) экспериментальных растений в аридных условиях юго-востока Казахстана выявлены виды по физиологическим свойствам, водному режиму с хорошими приспособительными качествами к условиям окружающей среды. Это яблоня домашняя – *Malus domestica* cv. *'Салтанат'*, смородина черная – *Ribes nigrum* L. cv. *'Минай Шмырев'*, туя западная – *Thuja occidentalis* L., липа мелколистная – *Tilia cordata* Mill. Для этих видов характерна высокая водоудерживающая способность. По общей оводненности выделены: барбарис илийский – *Berberis iliensis* M. Pop., яблоня домашняя – *Malus domestica* cv. *'Салтанат'*, липа мелколистная – *Tilia cordata* Mill, черемуха обыкновенная – *Padus racemosa* (Lam.) Gilib., боярышник обыкновенный – *Crataegus oxyacantha* L., смородина черная – *Ribes nigrum* L. cv. *'Минай Шмырев'*. В тоже время высокая температура воздуха и суховеи не могли не сказаться на состоянии опытных растений, которое характеризовалось как хорошее и удовлетворительное.

Работа выполнена по научно-технической программе (BR05236444) «Испытание инновационных технологий при развитии садоводства в аридных условиях Казахстана».

Литература

1 Крамер П.Д. Козловский Т.Т. Физиология древесных растений. М.: «Лесная промышленность», 1983. 464 с.
2 Кретович В.Л. Биохимия растений. М.: Высшая школа, 1986. 503 с.
3 Малиновский В.И. Физиология растений. Владивосток. Из-во ДВГУ., 2004. 105 с.
4 Яковец. О.Г. Фитофизиология стресса. Минск. Из-во БГУ., 2009. 101 с.

5 Бельгибаев М.Е. Белый А.В. Аридизация почв и ландшафтов семиаридной зоны Казахстана. // «География и природные ресурсы», №3, 2002. С. 134-139.

6 Данилова Т.Н. Регулирование водного режима дерново-подзолистых почв и влагообеспеченность растений при помощи водопоглощающих полимеров. // «Агрофизика» №1. 2016. С 8-16.

7 Наумов П.В., Щербакова Л.Ф., Околелова А.А. Оптимизация влагообеспеченности почв с помощью полимерных гидрогелей. // «Известия нижневолжского агроуниверситесткого комплекса» № 4, 2011. С. 1-5.

8 Годунова Е.И., Гудырин В.Н., Шкабарда С.Н. Перспективы использования гидрогеля в земледелии центрального предкавказья. // «Достижения науки и техники АПК», №1, 2014. С. 24-27.

9 Тибирьков А.П., Филин В.И. Влияние полиакриламидного гидрогеля на структурно-агрегатный состав пахотного слоя светло-каштановой почвы Волго-Донского междуречья. // «Известия нижневолжского агроуниверситетского комплекса» № 4, 2013. С. 1-5.

10 Смагин А.В. Садовников Н.Б. Биодеструкция сильно набухающих гидрогелей и ее влияние на водоудерживающую способность почв. // «Почвоведение» №6, 2014. С. 716-723.

11 Цепляев А.Н. Тимошенко В.В. Сохранение плодородия почвы при использовании различных способов механизированного внесения туконасыщенного гидрогеля. // «Известие нижневолжского агроуниверситесткого комплекса»» №1, 2016. С. 195-201.

12 Tu Z.; Armitage A.; Vines H. Influence of an antitranspirant and a hydrogel in net photosynthesis and water loss of cineraria during water stress (США), HortScience, 1985; T. 20. N 3.

13 Sloup J.; Salas P. Affecting the quality of nursery produce by soil conditioners (Чехия) Acta Univ. Agr. Silvicult. Mendelianae Brunensis, 2009; Vol.57, N 4

14 Wallace A. Effect of polymers in solution culture jn growth and mineral composition of tomatoes (США), Soil Sc, 1986; T. 141. N 5.

15 Deren D.; Szewczuk A.; Gudarowska E. Agrogel usage in cultivation of trees planted in ridges (Польша) J. Fruit ornamental Plant Res., 2010; Vol. 18, N 2.

16 DeBell, D.S., D.D. Hook and W.H. McKee, Jr. Growth and physiology of loblolly pine roots under various water table level and phosphorous treatments. For. Sci. 30: – 1984. pp 705-714.

17 Johnson M.S.; Weltkamp C.J. Structure and function ing of water-storing agricultural polyacrylamides. (Великобритания), J. Sc. Food Agr, 1985; T. 36. N 9

18 Makowska M.; Borowski E.; Ziemba A. Vegetative development, blooming and fruiting of strawberry plants cultivated in soils with the addition of Ekosorb. (Польша) Folia Univ. agriculturae steninsis / Akad. rol.. – Szczecin,2004 (вып. дан., 2005); N 242

19 Кудрин Р.Д. Агроклиматический справочник по Алма-Атинской области. Ленинград.: «Гидрометеоиздат». 1961. 220 с.

20 Исаева Р.М., Бреева К.М., Зарембо Э.С. и др. Агроклиматические ресурсы Алма-Атинской области Казахской ССР. Ленинград.: «Гидрометеоиздат». 1978. 200 с.

21 Vdovina T.A., Vinokurov A.A., O.A. Lagus O.A.. E.A. Isakova E.A. Introduction of moisture-holding polymer «Aquasorb» during landing wood-shrubby and fruit plants in the arid conditions of Kazakhstan // Вестник Карагандинского университета № 4(92)/2018, Караганда, 2018. С. 33-37.

22 Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. М.: Высшая школа, 1983. 38 с.

23 Беляева Ю.В. Результаты водоудерживающей способности листовых пластинок березы произростающий в условиях антропогенного воздействия (на примере г. Тальяти). // «Известие Самарского научного центра РАН., №4. 2014., С. 29-32.

24 Жолкевич В.Н. Водный обмен растений. М.: Наука., 1989. 256 с.

25 Кушниренко М.Д. Водный режим и засухоустойчивость растений плодовых растений. Кишинев.: «Штиинца». 1967. 331 с.

26 Leciejewski P. The effect of hydrogel additives on the water retention curve of sandy soil from forest nursery in Julinek. (Польша) J.Water Land Developm., 2009; N 13a.

References

1 Bel'gibaev M.E. Belyj A.V. (2002). Aridizacija pochv i landshaftov semiaridnoj zony Kazahstana [Aridization of soils and landscapes of a semi-arid zone of Kazakhstan] . «Geografija i prirodnye resursy», №3, S. 134-139.

2 Beljaeva Ju.V. (2014). Rezul'taty vodouderzhivajushhej sposobnosti listovyh plastinok berezy proizrostajushhij v uslovijah antropogennogo vozdejstvija (na primere g. Tal'jati).[The results of the water-holding capacity of birch leaflets growing under the conditions of anthropogenic impact (on the example of the city of Talyati)] . «Izvestie Samarskogo nauchnogo centra RAN., №4. S. 29-32.

3 Cepljaev A.N. Timoshenko V.V. (2016). Sohranenie plodorodija pochvy pri ispol'zovanii razlichnyh sposobov mehanizirovannogo vnesenija tukonasyshhennogo gidrogelja [Preservation of soil fertility when using various methods of mechanized introduction] . «Izvestie nizhnevolzhskogo agrouniversitestkogo kompleksa» №1,. S. 195-201.

4 Danilova T.N. (2016). Regulirovanie vodnogo rezhima dernovo-podzolistyh pochv i vlagoobespechennost' rastenij pri pomoshhi vodopogloshhajushhih polimerov.[Regulation of the water regime of sod-podzolic soils and moisture supply of plants using water-absorbing polymers.] . «Agrofizika» №1. S 8-16.

5 Deren D.; Szewczuk A.; Gudarowska E. (2010). Agrogel usage in cultivation of trees planted in ridges J. Fruit ornamental Plant Res.; Vol. 18, N 2.

6 DeBell, D.S., D.D. (1984). Hook and W.H. McKee, Jr.. Growth and physiology of loblolly pine roots under various water table level and phosphorous treatments. For. Sci. 30: -. pp 705-714.

7 Godunova E.I., Gudyrin V.N., SHkabarda S.N. (2014). Perspektivy ispol'zovaniya gidrogelya v zemledelii Central'nogo Predkavkaz'ya. [Prospects for the use of hydrogel in agriculture of the Central Caucasus.] . «Dostizheniya nauki i tekhniki APK», №1 – S. 24-27.

8 Isaeva R.M., Breeva K.M., Zarembo E.S. ı dr. (1978). Agroklımatıcheskıe resýrsy Alma-Atınskoı oblastı Kazahskoı SSR. [Agro-climatic resources of Alma-Ata region of the Kazakh SSR] Lenıngrad,. 200 s.

9 Jakovec. O.G. (2009). Fitofiziologija stressa [Phytophysiology of stress]. Minsk. Iz-vo BGU., 101 s.

10 Johnson M.S.; Weltkamp C.J. (1985). Structure and function of water-storing agricultural polyacrylamides, J. Sc. Food Agr,; T. 36. N 9

11 Kramer P.D. Kozlovskij T.T. (1983). Fiziologija drevesnyh rastenij [Physiology of woody plants.]. M.: «Lesnaja promyshlennost'». 464 s.

12 Kretovich V.L. (1986). Biohimija rastenij [Plant biochemistry]. M.: Vysshaja shkola,. 503 s

13 Kudrin R.D. (1961). Agroklimaticheskij spravochnik po Alma-Atinskoj oblasti [Agroclimatic guide to the Almaty region]. Leningrad.: «Gidrometeoizdat». 220 s.

14 Kushnirenko M.D. (1967). Vodnyj rezhim i zasuhoustojchivost' rastenij plodovyh rastenij. [Water regime and drought resistance of fruit plants.] Kishinev,. 331 s.

15 Leciejewski P. (2009). The effect of hydrogel additives on the water retention curve of sandy 0soil from forest nursery in Julinek J.Water Land Developm.; N 13a.

16 Makowska M.; Borowski E.; Ziemba A. (2004). Vegetative development, blooming and fruiting of strawberry plants cultivated in soils with the addition of Ekosorb. Folia Univ. agriculturae steninsis . Akad. rol.. – Szczecin; N 242

17 Malinovskij V.I. (2004). Fiziologija rastenij [Plant physiology]. Vladivostok. Iz-vo DVGU., 105 s.

18 Naumov P.V., (2011). SHCHerbakova L.F., Okolelova A.A. Optimizaciya vlagoobespechennosti pochv s pomoshch'yu polimernyh gidrogelej. [Optimization of soil moisture supply by means of polymer hydrogels.] . «Izvestiya nizhnevolzhskogo agrouniversitestkogo kompleksa» № 4, S. 1-5.

19 Sloup J.; Salas P. (2009). Affecting the quality of nursery produce by soil conditioners. Acta Univ. Agr. Silvicult. Mendelianae Brunensis; Vol.57, N 4

20 Smagin A.V. Sadovnikov N.B. (2014). Biodestrukcija sil'no nabuhajushhih gidrogelej i ee vlijanie na vodouderzhivajushhuju sposobnost' pochv [Biodegradation of highly swelling hydrogels and its effect on the water holding capacity of soils.]. . «Pochvovedenie» №6, S. 716-723.

21 Tibir'kov A.P., Filin V.I. (2013). Vliyanie poliakrilamidnogo gidrogelya na strukturno-agregatnyj sostav pahotnogo sloya svetlo-kashtanovoj pochvy Volgo-Donskogo mezhdurech'ya. [Influence of polyacrylamide hydrogel on the structural and aggregate composition of the arable layer of light chestnut soil of the Volga-don interfluve.]. «Izvestiya nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa» № 4, S. 1-5.

22 Tu Z.; Armitage A.; Vines H. (1985). Influence of an antitranspirant and a hydrogel in net photosynthesis and water loss of cineraria during water stress, HortScience,; T. 20. N 3.

23 Vdovina T.A., Vinokurov A.A., O.A. Lagus O.A.. E.A. Isakova E.A. (2018). Introduction of moisture-holding polymer «Aquasorb» during landing wood-shrubby and fruit plants in the arid conditions of Kazakhstan . Vestnik karagandinskogo universiteta № 4(92), Karaganda, C. 33-37.

24 Viktorov D.P. (1983). Malyj praktikum po fiziologii rastenij. [Small workshop on plant physiology. M.: Vysshaya shkola, 38 s.

25 Wallace A. (1986). Effect of polymers in solution culture jn growth and mineral composition of tomatoes, Soil Sc, T. 141. N 5.

26 Zholkevich V.N. (1989). Vodnyj obmen rastenij. [Water exchange of plants] M.: Nauka. 256 s.

МРНТИ 34.29.35 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b2

Калиев Б.Ш.[1], Ситпаева Г.Т.[2], Иманалинова А.А.[3*], Димеева Л.А.[4]

[1]Казахский национальный аграрный университет, Казахстан, г. Алматы
[2,4] РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы
[3]Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы,
[*]e-mail: azhar.imanalinova@gmail.com

ХАРАКТЕРИСТИКА РАННЕВЕСЕННИХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ С УЧАСТИЕМ РЕДКИХ ВИДОВ В ЖОНГАР-АЛАТАУСКОМ НАЦИОНАЛЬНОМ ПАРКЕ

В статье представлены результаты исследований ранневесенних растительных сообществ, проведенных в мае 2018 г. в Жонгар-Алатауском национальном парке. Были выявлены места обитания растений из Красной книги Казахстана: Aquilegia vitalii, Fritillaria pallidiflora, Adonis tianschanica, Malus sieversii, Malus niedzwetzkyana, Paeonia anomala, Crocus alatavicus, Tulipa brachystemon, Tulipa patens. Среди них к узким эндемикам относятся Aquilegia vitalii, Tulipa brachystemon. Растительные сообщества с участием редких видов относятся к луговому, кустарниковому, лесному типам растительности, распространены на лугах горных склонов и ущелий в сочетании с мелколиственными и хвойными лесами, петрофитными кустарниковыми зарослями по каменистым склонам. Для каждого редкого вида определена приуроченность к высотному поясу, растительному сообществу и фитоценотическая роль.

Выявлен редкий вид, который имеет ограниченное распространение на северном макросклоне Жетысуского Алатау, прострел колокольчатый (Pulsatilla campanella). Вид не имеет широкого площадного распространения, образует разреженные популяции в поясе темнохвойных лесов и лугов. Уязвим в связи с тем, что активно используется в народной медицине. Рекомендуется включить прострел колокольчатый в региональную Красную книгу.

Ключевые слова: Жетусуский Алатау, раннецветущие виды, редкие растения, высотная поясность, растительные сообщества.

Kaliyev B.Sh.[1], Sitpayeva G.T.[2], Imanalinova A.A.[3], Dimeyeva L.A.[4]

[1]Kazakh National Agrarian University, Kazakhstan, Almaty
[2,4]RSE «Institute of botany and phytointroduction» CS MES RK, Kazakhstan, Almaty
[3]Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty,
e-mail: azhar.imanalinova@gmail.com

Characteristics of early-spring plant communities with participation of rare species in Zhongar-Alatau national park

The article presents the results of studies of early spring plant communities, conducted in May 2018 in the Zhongar-Alatau National Park. Habitats of plants from the Red Data Book of Kazakhstan were identified: Aquilegia vitalii, Fritillaria pallidiflora, Adonis tianschanica, Malus sieversii, Malus niedzwetzkyana, Paeonia anomala, Crocus alatavicus, Tulipa brachystemon, Tulipa patens. Among them, there are narrow endemics Aquilegia vitalii, Tulipa brachystemon. Plant communities with rare species belong to meadow, shrub, and forest types of vegetation, distributed on meadows of mountain slopes and gorges in combination with small-leaved and coniferous forests, and petrophytic shrubs on stony slopes. For each rare species the altitudinal belt, plant community and phytocenotic role were determined.

A rare species, which has a limited distribution on the northern macroslope of the Zhetysu Alatau has been identified as a bell-shaped pasqueflower (Pulsatilla campanella). The species does not have wide area of distribution; it forms sparse populations in the belt of dark coniferous forests and meadows. Vulnerable due to the fact that it is actively used in traditional medicine. It is recommended to include it into the regional Red Data Book.

Key words: Zhetysu Alatau, early-flowering species, rare plants, altitudinal zonality, plant communities.

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Қалиев Б.Ш.[1], Ситпаева Г.Т.[2], Иманалинова А.А.[3*], Димеева Л.А.[4]
[1]Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Қазақстан, Алматы қ.
[2,4]РМК «Ботаника және фитоинтродукция институты» ҚР БҒМ ҒК, Қазақстан, Алматы қ.
[3]әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.,
e-mail: azhar.imanalinova@gmail.com

Жоңғар-Алатау ұлттық паркіндегі сирек түрлердің қатысуымен ерте көктемгі өсімдіктер қауымдастықтарының сипаттамасы

Мақалада 2018 жылдың мамыр айында Жоңғар-Алатау ұлттық паркінде жүргізілген ерте көктемгі өсімдік қауымдастықтарын зерттеу нәтижелері келтірілген. Қазақстанның Қызыл кітабына енгізілген келесі өсімдіктердің тіршілік орталары анықталды, олар: Aquilegia vitalii, Fritillaria pallidiflora, Adonis tianschanica, Malus sieversii, Malus niedzwetzkyana, Paeonia anomala, Crocus alatavicus, Tulipa brachystemon, Tulipa patens. Осы өсімдіктердің ішінде тар эндемдерге жататындары Aquilegia vitalii, Tulipa brachystemon.

Сирек кездесетін түрлер бар өсімдік қауымдастықтарына шалғын, бұта, орман өсімдікжабын типтері жатады, олар тау беткейлеріндегі шалғындар мен шатқалдарда ұсақ жапырақты және қылқан жапырақты ормандар мен тасты беткейлердегі петрофитті бұта тоғайларында кездеседі. Әр сирек кездесетін түрлерге тән биіктік белдеулер, олардың өсімдік қауымдастықтары мен фитоценоздық рөлі анықталды.

Жетісу Алатауының солтүстік макробеткейінде шектеулі ареалы бар сирек түр – қоңыраулы құндызшөп (Pulsatilla campanella) табылды. Түр кең көлемде таралмаған, қылқан жапырақты ормандар мен шалғындар белдеуінде сирек популяциялар ретінде кездеседі. Дәстүрлі медицинада белсенді қолданылатындығына байланысты осал болып келеді. Қоңыраулы құндызшөпті аймақтық Қызыл кітапқа енгізуге кеңес береміз.

Түйін сөздер: Жетісу Алатауы, ерте-гүлдейтін түрлер, сирек өсімдіктер, биіктік белдеулік, өсімдік қауымдастықтары.

Введение

Государственный национальный природный парк «Жонгар-Алатауский» расположен на северном макросклоне Жетысуского (Джунгарского) Алатау. Жетысуский Алатау – это система горных хребтов и межгорных впадин, расположенных между озером Алаколь на севере и долиной реки Или на юге. Северный и южный макросклоны разделяются высокогорной впадиной, в которой протекают реки Коксу и Боротала.

Климат континентальный, переходный между горными областями Северного Тянь-Шаня и Алтая. Характеризуется значительной инсоляцией, сухим и теплым летом, холодной зимой со слабым снежным покровом в предгорьях, частыми температурными инверсиями и значительным снежным покровом в горах [1]. Среднее количество осадков на северном макросклоне 500-600 (до 800 мм), на южном – 300-450 мм в год. По данным метеостанции Лепси (северный макросклон, 1012 м н.ур.м) среднегодовая температура воздуха – 1,5°С, среднегодовое количество осадков 697 мм, количество безморозных дней 97. Среднесуточная положительная температура устанавливается в апреле (4,9 °С), в мае она составляет 11,5°С [2, 3].

Джунгарский Алатау богат ресурсами поверхностных вод [4]. По типу водного режима большинство рек относится к рекам с весенне-летним половодьем, максимумы расходов которых приурочены к периодам весеннего таяния снежного покрова и летнего – за счет ледникового питания. Почвенный покров подчиняется закономерностям высотной поясности. Почвы горно-луговой зоны располагаются на высоте 2000-3000 м над уровнем моря, к ним относятся горно-луговые альпийские и субальпийские почвы. В горно-лесостепной зоне на высоте 1500 – 2500 м распространены горно-лесные темноцветные, горно-лесные темносерые, горные выщелоченные и оподзоленные черноземы. Горно-степная зона тянется от 750 до 2000 м, здесь отмечены черноземы малогумусные, темно-каштановые и светлокаштановые карбонатные почвы, горно-степные малоразвитые почвы. В пустынной зоне в пределах 350-750 м распространены бурые и серобурые пустынные, лугово-бурые почвы, серозёмы малокарбонатные и лугово-сероземные почвы [5].

Флора и растительный покров северного и южного макросклонов имеют ряд отличительных особенностей. По разграничительной полосе можно провести границу между горносибирскими и северотяньшанскими флорами [6]. На

северном склоне Джунгарского Алатау наиболее сильно влияние алтае-сибирских флористических элементов [7]. Еще Н.И. Рубцовым [8] было отмечено, что на северном макросклоне более низкое расположение снеговой линии, более холодный климат, развитая гидрографическая сеть, слабое развитие третичных отложений, мощное развитие лессовидных суглинков, преобладание в почвенном покрове суглинистых разностей.

По ботанико-географическому районированию северный макросклон Жетысуского Алатау относится к Джунгаро-Северотяньшанской горной провинции Североджунгарской горной подпровинции, для которой характерен Заилийско-Североджунгарский тип поясности [9]. С учетом предшествующих исследований [8, 9], выявлена следующая последовательность высотных поясов: пояс предгорных пустынь (600-800 м); степной пояс с подпоясами опустыненных степей (800-1000 м), настоящих степей (1000-1200 м), луговых степей (1200-1700 м); пояс мелколиственных лесов (1400-1700 м), пояс темнохвойных лесов и лугов, (1700-2300 м); пояс субальпийских лугов, степей и стлаников (2300-2800 м); пояс криофитных (альпийских) лугов (2800-3300 м).

В Жетысуском Алатау насчитывается 73 вида редких растений, нуждающихся в охране [7], в Красной книге [10] перечислено 50 видов, из них в Жонгар-Алатауском национальном парке насчитывается 26 видов. Всестороннее изучение популяций редких видов, их приуроченности к определённым высотным поясам, экологическим условиям, растительным сообществам позволяет выявить требования к местообитаниям и возможные угрозы для их существования.

Среди редких растений много раннецветущих. Многие их них относятся к эфемероидам, которые используют благоприятные весенние факторы (свет и влага) для короткого вегетационного периода с полным фенологическим циклом.

Климатическим приходом весны считается устойчивый переход к среднесуточной температуре выше 0 градусов. По данным метеостанции Лепси этот период в среднем начинается 2 апреля (варьирует от 15 марта до 19 апреля). Он также изменяется в зависимости от высотного пояса. Даты начала цветения ранневесенних видов в горах зависят от высоты над уровнем моря, экспозиции склона, наличия укрытий, обеспечивающих защиту от перепадов температуры.

В степном поясе фенологически ранневесенний сезон начинается с цветения видов эфемероидов *Pulsatilla, Gagea, Primula, Tulipa*, *Corydalis*, деревьев и кустарников – *Populus tremula*, видов *Spiraea, Armeniaca, Salix* [11, 12]. Виды раннецветущих растений ценятся за декоративные свойства, используются в фармацевтический промышленности, народной медицине, многие занесены в Красные книги разного уровня [13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20]. Ранневесеннему аспекту растительных сообществ уделяется большое внимание [21, 22, 23]. В Казахстане этот вопрос изучен недостаточно.

Материалы и методы исследований

Материалом для статьи послужили полевые исследования, которые проводились 3-7 мая 2018 года на участках Лепсинского, Саркандского, Кокжарского филиалов ГНПП «Жонгар-Алатауский».

Цель экспедиции: Сбор полевых материалов и гербария для изучения сообществ с участием редких и краснокнижных видов на территории национального парка.

Наблюдения проводились на 17 ключевых участках (рисунок 1). Во время экспедиции сделано 17 геоботанических описаний растительных сообществ в окрестностях с. Лепсинск, на перевале Крутой, в ущелях Чернова, Никонова грива, Кокжота, Шымбулак. Применялись общепринятые геоботанические методы [24, 25]. На пробных площадках размером 100-200 м^2 проводились детальные геоботанические описания растительных сообществ. GPS-навигатором определялись координаты и абсолютная высота. Описание растительности производилось на специальных геоботанических бланках, в которые были занесены основные данные о растительных сообществах (географическое положение, координаты, рельеф, почвы, флористический состав, проективное покрытие, высота основной массы травостоя; для каждого вида обилие по шкале Друде и др.).

Сбор гербария проводился при описании растительных сообществ. Определение незнакомых видов растений осуществлялось при камеральной обработке собранного материала с использованием «Иллюстрированного определителя растений Казахстана» в 2 т. [26] и «Флоры Казахстана» в 9 т. [27].

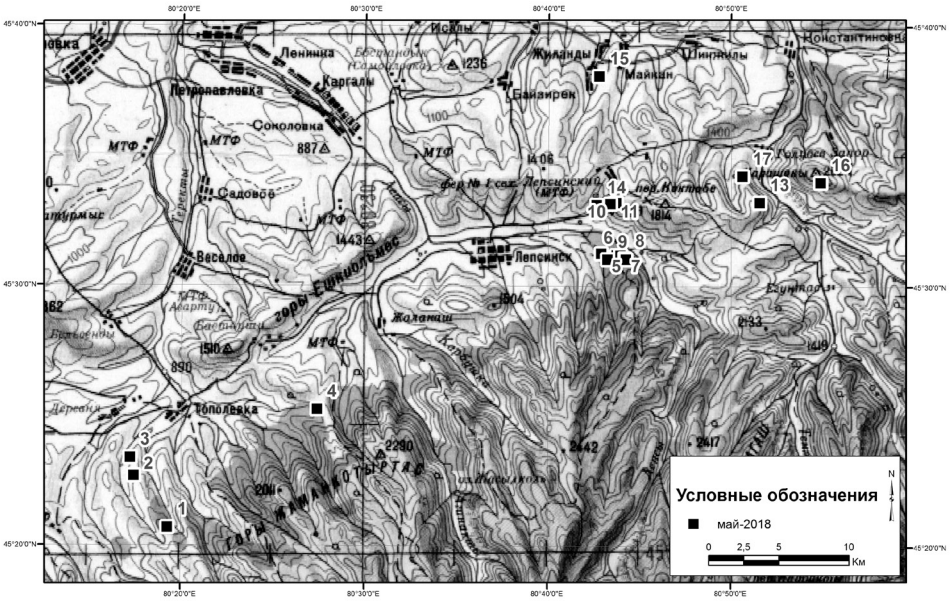


Рисунок 1 – Карта распределения точек обследования

Результаты исследования и их обсуждение

В исследованный период из травянистых видов растений цвели: *Ranunculus repens* L., *Corydalis ledebouriana* Kar. & Kir., *Crocus alatavicus* Regel & Semenow, *Adonis tianschanica* (Adolf) Lipsch., *Tussilago farfara* L., *Gagea* spp., *Pulmonaria mollis* Wulfen ex Hornem., *Astragalus alatavicus* Kar. & Kir., *Tulipa brachystemon* Regel, *Tulipa patens* C. Agardh ex Schult. & Schult. f., *Paeonia anomala* L., *Geranium transversale* (Kar. & Kir.) Vved., *Ligularia heterophylla* Rupr., *Solenanthus circinnatus* Ledeb., *Alyssum turkestanicum* Regel & Schmalh., *Anemone caerulea* DC., *Valeriana chionophila* Popov & Kult., *Viola acutifolia* (Kar. & Kir.) W. Becker, *Fritillaria pallidiflora* Schrenk, *Cerastium davuricum* Fisch. ex Spreng., *Primula kaufmanniana* Regel, *Taraxacum officinale* F.H. Wigg., *Geranium collinum* Stephan ex Willd. Из древесных растений цвели: *Padus avium* Mill., *Salix cinerea* L., *Populus tremula* L., *Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem., *Malus niedzwetzkyana* Dieck, *Rosa spinosissima* L., *Rosa platyacantha* Schrenk, *Cerasus tianschanica* Pojark., *Betula pendula* Roth; в стадии бутонизации находились *Crataegus almaatensis* Pojark., *Spiraea hypericifolia* L., *Ribes meyeri* Maxim.

В описанных ранней весной растительных сообществах не удалось определить все виды, т.к. многие из них только начали свою вегетацию. Поэтому в таблице 1 представлены не все виды. Доминанты и цветущие растения вошли в списки, среди которых встречаются редкие виды.

Таблица 1 – Характеристика ключевых участков с участием редких видов (жирным шрифтом отмечены виды из Красной книги РК)

№ точки	Высота над ур.м (м)	Высотный пояс (подпояс)	Название сообщества	Видовой состав
1	1489	Мелколиственных лесов	Злаково-разнотравное	***Aquilegia vitalii* Gamajun., *Malus sieversii,*** *Dactylis glomerata* L., *Ribes meyeri, Pulmonaria mollis, Fragaria viridis* (Duchesne) Weston, *Crataegus almaatensis* Pojark., *Trifolium pratense* L., *Taraxacum officinale, Mentha asiatica* Boriss., *Artemisia absinthium* L., *Rubus idaeus* L., *Ranunculus repens, Aconitum leucostomum* Worosch., *Angelica decurrens* Ledeb., *Solenanthus circinnatus*

Продолжение таблицы 1

№ точки	Высота над ур.м (м)	Высотный пояс (подпояс)	Название сообщества	Видовой состав
2	1208	Луговых степей	Злаково-разнотравное	***Tulipa brachystemon, Paeonia anomala,*** *Allium atrosanguineum* Kar. & Kir., *Carex caucasica* Steven, *Astragalus alatavicus, Artemisia absinthium, Hedysarum neglectum* Ledeb., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Euphorbia* sp.
3	1165	Настоящих степей	Разнотравно-злаково-пионовое	***Paeonia anomala****, Spiraea hypericifolia, Geranium transversale, Alyssum turkestanicum, Hedysarum neglectum, Achillea millefolium* L., *Carex melanostachya* M. Bieb. ex Willd., *Dactylis glomerata, Trisetum sibiricum* Rupr., *Ligularia heterophylla, Thlaspi arvense* L.
4	1326	Луговых степей	Злаково-разнотравное	*Pulmonaria mollis, Rubus idaeus, Corydalis ledebouriana Aconitum leucostomum, Ranunculus repens, Lonicera, Angelica decurrens, Dactylis glomerata, Salix cinerea, Populus tremula*
5	1118	Настоящих степей	Злаково-разнотравное	***Malus sieversii,*** *Pulmonaria mollis, Populus nigra* L., *Padus avium, Conium maculatum* L., *Ranunculus repens, Ligularia macrophylla* (Ledeb.) DC., *Arctium lappa* L., *Corydalis ledebouriana, Aconitum leucostomum, Angelica decurrens, Dactylis glomerata, Solenanthus circinnatus Populus tremula, Betula pendula, Salix cinerea, Lonicera* sp.
6	1274	Луговых степей	Рябчиково-злаковое с жимолостью	***Malus sieversii, Fritillaria pallidiflora,*** *Pulmonaria mollis, Corydalis ledebouriana, Arctium lappa, Hedysarum neglectum, Humulus lupulus* L., *Tussilago farfara, Dactylis glomerata, Gagea spp., Lonicera* sp., *Padus avium, Populus tremula, Betula pendula*
7	1283	Луговых степей	Разнотравно-злаковое с яблоней Сиверса	***Malus sieversii,*** *Pulmonaria mollis, Arctium lappa, Hedysarum neglectum, Humulus lupulus, Taraxacum officinale, Rubus idaeus, Corydalis ledebouriana, Picea schrenkiana* Fisch. & C.A. Mey., *Anemone caerulea, Ranunculus repens, Ligularia macrophylla, Dactylis glomerata, Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv., *Crataegus almaatensis*
8	1295	Луговых степей	Разнотравно-злаковое	***Fritillaria pallidiflora****,* ***Malus sieversii,*** *Pulmonaria mollis, Allium atrosanguineum, Humulus lupulus, Ligularia macrophylla Urtica dioica* L., *Aconitum leucostomum, Dactylis glomerata, Solenanthus circinnatus, Ribes meyeri, Crataegus almaatensis, Betula pendula*
9	1152	Настоящих степей	Тюльпаново-очитково-злаковое	***Paeonia anomala, Tulipa patens,*** *Achillea millefolium, Corydalis ledebouriana, Sedum hybridum* L., *Dactylis glomerata, Stachyopsis oblongata* (Schrenk) Popov & Vved., *Angelica decurrens, Ligularia macrophylla, Crataegus almaatensis, Betula pendula, Populus tremula*
10	1516	Мелколиственных лесов	Злаково-рябчиковое	***Fritillaria pallidiflora****, Hedysarum neglectum, Corydalis ledebouriana, Geranium collinum*, *Sedum hybridum, Brachypodium pinnatum, Pulmonaria mollis, Phleum phleoides, Rosa spinosissima, Spiraea hypericifolia*
11	1605	Мелколиственных лесов	Тюльпанно-полынно-очитковое	***Tulipa brachystemon, Tulipa patens****, Sedum hybridum, S. alberti* Regel, *Iris bloudowii* Ledeb., *Artemisia sp. Carex caucasica, Allium* sp., *Lonicera* sp.
12	1152	Настоящих степей	Разнотравно-злаковое	***Malus sieversii, Paeonia anomala,*** *Achillea millefolium, Allium* sp., *Hedysarum neglectum, Sedum hybridum, Rosa plathyacantha, Dactylis glomerata, Euphorbia* sp.
13	1359	Луговых степей	Злаково-разнотравно-яблоневое	***Malus niedzwetzkyana, Malus sieversii,*** *Pulmonaria mollis, Urtica dioica, Stachyopsis oblongata, Lonicera sp., Brachypodium pinnatum, Poa pratensis* L., *Elytrigia repens* (L.) Nevski
14	1338	Луговых степей	Петрофитно-кустарниковое	*Cerasus tianschanica, Rosa platyacantha, Ligularia heterophylla, Eremurus* sp., *Ferula* sp., *Vicia cracca* L., *Thlapsi arvense, Euphorbia* sp.
15	1322	Луговых степей	Разнотравно-злаково-яблоневое	***Malus niedzwetzkyana, M. sieversii,*** *Poa pratensis, Pulmonaria mollis, Humulus lupulus, Ranunculus repens, Anemone caerulea, Brachypodium pinnatum, Dactylis glomerata, Angelica decurrens, Hedysarum neglectum, Ligularia macrophylla, Lonicera microphylla, Betula pendula*

Продолжение таблицы 1

№ точки	Высота над ур.м (м)	Высотный пояс (подпояс)	Название сообщества	Видовой состав
16	1803	Темнохвойных лесов и лугов	Разнотравно-рябчиковое	***Fritillaria pallidiflora, Adonis tianschanica, Crocus alatavicus,*** *Pulsatilla campanella (*Fisch. ex Regel et Tiling) Krylov., *Elytrigia repens, Achillea millefolium, Primula kaufmanniana*, *Ranunculus repens, Gagea* sp., *Solenanthus circinnatus, Rosa spinosissima*
17	1714	Темнохвойных лесов и лугов	Злаково-разнотравное	***Fritillaria pallidiflora, Tulipa patens, Crocus alatavicus,*** *Pulsatilla campanella, Viola acutifolia,* *Potentilla asiatica* (Th. Wolf) Juz., *Sedum hybridum, Rosa spinosissima, Elytrigia repens*

Приведем краткую характеристику видов из Красной книги Казахстана [10], встреченных во время экспедиции. Для точного определения местонахождения видов были проанализированы флористические списки ГНПП «Алтын-Эмель» [28] и Иле-Алатауский [29].

Водосбор Виталия (*Aquilegia vitalii* Gamajun.)

Семейство: Лютиковые – *Ranunculaceae*

Статус. II категория. Редкий узкоэндемичный вид.

Встречается единичными экземплярами в трещинах скал, ущельях рек и ручьев, луговых склонах.

Ареал: Южные отроги Джунгарского Алатау (горы Шолак, Суат-тау, Алтын-Эмель; реки Чимбулак, Коксу, Аксельбасай).

Охраняется в Жонгар-Алатауском ГНПП.

Тюльпан короткотычиночный (*Tulipa brachystemon* Regel)

Семейство Лилейные – *Liliaceae*

Статус. II категория. Редкий узкоэндемичный вид.

Встречается немногочисленными популяциями на каменисто-щебнистых южных склонах, реже – на северных склонах низкогорий.

Ареал: Западные и юго-западные отроги Джунгарского Алатау: горы Котуркаин, хр. Алтын-Эмель.

Охраняется в ГНПП Жонгар-Алатауском и Алтын-Эмель.

Тюльпан поникающий (*Tulipa patens* Agardh ex Schult. et Schult. fil.)

Семейство Лилейные – *Liliaceae*

Статус. III категория. Редкий, сокращающийся в численности, вид.

Встречается в полосе опустыненных и сухих степей, в логах мелкосопочника и петрофитных вариантах степей.

Ареал: Центральный и Северный Казахстан, юго-западная часть Алтая. Вне Казахстана: в степных районах Украины и Европейской части России.

Охраняется в Жонгар-Алатауском ГНПП, в заповедниках Наурзумский, Коргалжын, Западно-Алтайский. Ранее этот вид не был указан для Джунгарского Алатау [7, 30].

Пион марьин корень (*Paeonia anomala* L.)

Семейство Пионовые – *Paeoniaceae*

Статус. IV категория. Неопределенный вид, имеет тенденцию к сокращению численности.

Встречается в лесной зоне по опушкам и полянам, на лесных лугах. В предгорьях по логам и луговым склонам гор, среди кустарников, реже в открытых, остепненных разнотравно-злаковых сообществах.

Ареал: от Алтая до Западного Тянь-Шаня. Вне Казахстана: европейская часть России, Сибирь, Монголия, Западный Китай.

Охраняется в Маркакольском заповеднике, Жонгар-Алатауском ГНПП.

Занесен в 20 региональных Красных книг России [31]

Рябчик бледноцветковый (*Fritillaria pallidiflora* Schrenk)

Семейство Лилейные – *Liliaceae*

Статус. II категория. Редкий вид, субэндемик.

Встречается изолированными популяциями на лугах, щебнисто-каменистых склонах, у скал в субальпийском и нижней части альпийского пояса в интервале высот 1600-2800 м над ур. моря.

Ареал: Джунгарский Алатау (хр. Алтын-Эмель, долины рек Борохудзир и М. Усек; северные отроги – ущ. р. Коксу), хр. Тарбаатай. За пределами Казахстана: Китай (Кульджа).

Охраняется в ГНПП Жонгар-Алатауском и Алтын-Эмель.

Адонис тянь-шанский (*Adonis tianschanica* (Adolf) Lipsch.)

Семейство Лютиковые – *Ranunculaceae*

Статус. III категория. Редкий вид, с сокращающейся численностью.

Встречается отдельными экземплярами и немногочисленными популяциями на остепненных горных травянистых склонах, субальпийских лугах, высокогорных степях.

Ареал: Джунгарский, Заилийский, Киргизский, Кунгей и Терскей Алатау. Вне Казахстана: Центральный Тянь-Шань (Джумголтау, Узун-Ахмат).

Охраняется в Жонгар-Алатауском и Иле-Алатауском ГНПП.

Шафран алатауский (*Crocus alatavicus* Regel et Semen.)

Семейство Касатиковые – *Iridaceae*

Статус. II категория. Редкий вид.

Встречается на предгорных равнинах, щебнистых, мелкоземистых и глинистых склонах предгорий и низкогорий.

Ареал: хребты Джунгарский, Заилийский, Кунгей, Кетмень, Терскей, Киргизский и Таласский Алатау, Сырдарьинский Каратау. За пределами Казахстана: в горах Средней Азии.

Охраняется в ГНПП Жонгар-Алатауском, Алтын-Эмель, Иле-Алатауском, Кольсай-Кольдери, в заповедниках Алматинском и Аксу-Жабаглы.

Занесен в Красную книгу Республики Узбекистан [32].

Яблоня Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana* Dieck.)

Семейство Розоцветные – *Rosaceae*

Статус. I категория. Вид, находящийся под угрозой исчезновения.

Встречается единичными экземплярами в лиственных лесах и кустарниковых зарослях по днищам ущелий и в нижних частях склонов.

Ареал: ущ. Беркара в восточной части Каратау, отроги Таласского Алатау (Даубаба и Машат). Вне Казахстана: Китай.

Охраняется в заповеднике Аксу-Жабаглы, в Жонгар-Алатауском и Иле-Алатауском ГНПП.

Занесен в Красную книгу Кыргызской Республики [33].

Яблоня Сиверса (*Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem.)

Семейство Розоцветные – *Rosaceae*

Статус. III категория. Сокращающийся в численности вид.

Встречается в нижней части лесного пояса, по долинам рек, днищам ущелий.

Ареал: горные районы юго-востока Казахстана: Тарбагатай (центр), Джунгарский, Заилийский, Киргизский, Таласский Алатау и Каратау, Шу- Илийские горы. Вне Казахстана – Средняя Азия и западный Китай.

Охраняется в заповедниках Аксу-Жабаглы и Алматинском, в ГНПП Жонгар-Алатауском, Иле-Алатауском и Алтын-Эмель.

Занесен в Красные книги Туркменистана [34], Кыргызской Республики (2006) [33].

Исследованные растительные сообщества относятся луговому, кустарниковому, лесному типам растительности, распространены на лугах горных склонов и ущелий в сочетании с мелколиственными и хвойными лесами, петрофитными кустарниковыми зарослями по каменистым склонам. Местообитания редких видов приурочены к разным высотным поясам (таблица 1). В поясе настоящих степей (1118-1165 м) в разнотравно-злаковых сообществах на темно-каштановых карбонатных почвах были встречены: *Malus sieversii, Paeonia anomala, Tulipa patens.* В поясе луговых степей (1208-1359 м) на черноземах малогумусных и выщелоченных были описаны сообщества с участием следующих видов: *Tulipa brachystemon, Paeonia anomala, Malus sieversii, Malus niedzwetzkyana, Fritillaria pallidiflora.* Для пояса мелколиственных лесов (1489-1605 м) характерны: *Aquilegia vitalii, Malus sieversii, Tulipa brachystemon, Fritillaria pallidiflora, Malus sieversii, Tulipa patens,* которые встречаются в злаково-разнотравных сообществах на черноземах малогумусных и выщелоченных. В поясе темнохвойных лесов и лугов (1714-1803 м) на черноземах горных выщелоченных распространены популяции *Fritillaria pallidiflora, Tulipa patens, Crocus alatavicus, Fritillaria pallidiflora, Adonis tianschanica, Crocus alatavicus,*

Рябчик бледноцветковый (*Fritillaria pallidiflora*) (рисунок 2) встречается единично или небольшими популяциями (точки 8, 17), может быть субдоминантом сообществ (точка 6) и даже доминировать в ранневесенних травостоях в поясе мелколиственных (точка 10) и хвойных лесов и лугов (точка 16). Этот редкое, представляющее высокую ценность лекарственное растение, было встречено в диапазоне высот от 1274 до 1803 м н.ур.м. в луговых сообществах. Нередко луга с участием рябчика сочетаются с кустарниковыми зарослями (*Rosa spinosissima)*, мелколиственными лесами (*Populus tremula, Betula pendula*) и яблоневыми рощами (*Malus sieversii).*

а б

а – злаково-рябчиковое; б – *Fritillaria pallidiflora*

Рисунок 2 – Растительные сообщества с участием рябчика бледноцветкового

Виды тюльпанов приурочены к каменистым склонам с высоким обилием очитка (*Sedum hybridum, S. alberti)* (рисунок 3). Тюльпан поникающий (*Tulipa patens)* был встречен в трех точках – в поясах настоящих степей (точка 9), мелколиственных лесов (точка 11) и темнохвойных лесов и лугов (точка 17) в диапазоне высот от 1152 до 1714 м. Встречается единично, но может быть субдоминантом в весенних травостоях (точка 9). Тюльпан короткотычиночный (*T. brachystemon*) был отмечен в луговых сообществах в диапазоне высот от 1208 до 1605 м в пределах поясов луговых степей и мелколиственных лесов. Встречается единично или образует разреженные популяции. На южном макросклоне этот вид приурочен к степным сообществам [35] и кустарниковым зарослям [36].

а б

в г

а – тюльпаново-очитково-злаковое; б – *Tulipa patens*; в – злаково-разнотравное; г – *Tulipa brachystemon*

Рисунок 3 – Растительные сообщества с участием видов тюльпана

Пион уклоняющийся (*Paeonia anomala*) распространен в поясе настоящих степей, где встречается как единичными особями, разреженными популяциями, так и может быть субдоминантом (точка 12) и доминантом в весенних сообществах (точка 3) (рисунок 4). В составе сообществ отмечены в основном луговые растения, иногда встречаются степные виды (*Stipa capillata* L.) [37]. Луга с участием пиона нередко встречаются в сочетании с яблоневыми рощами.

а б

а – разнотравно-злаково-пионовое; б – *Paeonia anomala*

Рисунок 4 – Растительные сообщества с участием пиона уклоняющегося

Водосбор Виталия (*Aquilegia vitalii*) отмечен в одной точке, во время исследования не был в цветущем состоянии, хотя период цветения начинается в мае. Злаково-разнотравные луга с участием водосбора встречаются в сочетании с рощами боярышника алмаатинского и ельниками по склонам. Красочный фиолетовый аспект луговой растительности придавала цветущая медуница (*Pulmonaria mollis*).

Шафран алатауский (*Crocus alatavicus*) отмечен в двух точках на высоте 1714 и 1809 м на злаково-разнотравных лугах по склонам и выровненным поверхностям, где образует разреженные популяции (рисунок 5). В этих местообитаниях также встречены другие краснокнижные виды – рябчик, тюльпан поникающий и адонис тянь-шанский. На лугах заметны следы выпаса, но это не оказывает влияния на популяции, т.к. до появления скота «первоцветы» успевают пройти все фенологические фазы и переходят в состояние покоя.

Адонис тянь-шанский (*Adonis tianschanica*) встречен на высоте 1809 м в составе разнотравно-рябчикового сообщества (точка 16). В этом ценозе отмечено три краснокнижных вида. Популяция адониса разреженная. Среди раннецветущих растений также отмечены: *Pulsatilla campanella*, *Primula kaufmanniana*, *Ranunculus repens, Solenanthus circinnatus*, виды *Gagea.*

Яблоня Сиверса (*Malus sieversii*) была встречена на высоте от 1118 до 1489 м н.ур.м. Для Джунгарского Алатау диапазон высот варьирует от 800 до 2000 (2500) м [38, 39], где местами образуется пояс дикоплодовых лесов. В яблоневых лесах представлены три яруса. В древесном ярусе кроме яблони отмечены *Populus nigra* L., *Padus*, *Betula, Populus*, редко *Picea*. В кустарниковом ярусе – *Lonicera, Salix, Crataegus, Rosa* с невысоким обилием. В травяном ярусе яблоневых лесов обычны луговые виды: злаки (*Dactylis glomerata, Brachypodium pinnatum, Elytrigia repens, Poa pratensis)*, высокотравье (*Ligularia macrophylla, Angelica decurrens)*, среди раннецветущих – *Ranunculus repens, Anemone caerulea, Pulmonaria mollis, Stachyopsis oblongata, Solenanthus circinnatus, Corydalis ledebouriana.*

Яблоня Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana)* встречается отдельными особями среди яблоневых лесов (рисунок 6). Была отмечена в двух точках на высоте 1322 и 1359 м. Некоторые ученые считают ее подвидом яблони Сиверса [40].

а б

а – разнотравно-злаковое; б – *Crocus alatavicus*

Рисунок 5 – Растительные сообщества с участием шафрана алатауского

а б

а – разнотравно-злаково-яблоневое; б – *Malus niedzwetzkyana.*

Рисунок 6 – Растительные сообщества с участием яблони Недзвецкого

Обследование раннецветущей флоры выявило еще один редкий вид, который имеет ограниченное распространение на северном макросклоне Джунгарского Алатау. Это прострел колокольчатый. Несмотря на обширный ареал, вид не имеет широкого площадного распространения, редко образует сообщества. Уязвим в связи с тем, что активно используется в народной медицине. Для сохранения популяций этого растения необходимо придать ему охранный статус. Он представляет значительный ресурс для фармацевтической промышленности.

Приводим краткую характеристику вида согласно «Флоре Казахстана» (4) [26] и свои предложения по его охране.

Прострел колокольчатый (*Pulsatilla campanella* Fisch. ex Regel & Tiling) (рисунок 7).

Многолетнее растение высотой 12–25 см, при плодах до 40 см, цветки наклоненные, колокольчатые, с синеватым околоцветником, 20–30 мм дл., с отогнутыми наружу верхушками долей; тычинки многочисленные, немного короче околоцветника; железки почти сидячие; плодики с остями около 2,5 см дл.

Цветет: май – июнь, плодоносит в июле.

Растет но скалам, каменистым склонам, в моховых ельниках, по опушкам от луговостепного до альпийского пояса гор, до 3300 м над ур. моря.

Распространение в Казахстане: Алтай, Тарбагатай, Джунгарский, Заилилийский, Кунгей Алатау, Кетмень, Западный Тянь-Шань. За пределами: Западная Сибирь, Памироалай, Северная Монголия.

В Жонгар-Алатауском ГНПП встречается разреженными популяциями на высоте от 1714 до 1803 м на лугах в злаково-разнотравных сообществах.

Хозяйственное значение: раннецветущее декоративное растение, лекарственное: содержит алкалоиды, сапонины, жирное масло. Используется при сердечно-сосудистых, желудочно-кишечных заболеваниях [18]. Занесен в Красную книгу Алтайского края [41] в категории 2б – уязвимый вид. Предложение: внести в Красную книгу Алматинской области в IV категории – неопределенный вид с возможной тенденцией к сокращению численности.

а б

а – злаково-разнотравное; б – *Pulsatilla campanella.*

Рисунок 7 – Растительные сообщества с участием прострела колокольчатого

Заключение

Целью исследований было изучение ранневесенних растительных сообществ с участием редких видов на территории Жонгар-Алатауского национального парка. В период экспедиции были выявлены места обитания раннецветущих редких растений: *Aquilegia vitalii*, *Fritillaria pallidiflora, Adonis tianschanica, Malus sieversii, Malus niedzwetzkyana, Paeonia anomala, Crocus alatavicus, Tulipa brachystemon, Tulipa patens, Pulsatilla campanella*. Для каждого редкого вида определена приуроченность к высотному поясу, типу растительности и роль в фитоценозах. Рябчик бледноцветковый встречается в луговых сообществах единично, небольшими популяциями а также может быть субдоминантом сообществ и доминантом в ранневесенних травостоях. Виды тюльпанов приурочены к каменистым склонам с высоким обилием очитка. Пион уклоняющийся распространен в поясе настоящих степей, где встречается единичными особями, разреженными или обильными популяциями. Разреженные популяции образуют водосбор Виталия, шафран алатауский, адонис тянь-шанский. Яблоня Сиверса формирует растительные сообщества, редко с участием яблони Недзвецкого. В травяном ярусе преобладают луговые злаки и разнотравье.

Для Жонгар-Алатауского ГНПП выявлен редкий раннецветущий вид – прострел колокольчатый (*Pulsatilla campanella*), популяции которого имеют ограниченное распространение. Наряду с другими видами прострела активно используется в народной медицине. Для сохранения популяций следует рекомендовать включить этот вид в региональную Красную книгу.

Дальнейшие исследования позволят определить приуроченность других редких видов растений к высотным поясам, экологическим условиям и растительным сообществам.

Благодарности

Авторы благодарят дирекцию ГНПП «Жонгар-Алатауский» за помощь в организации экспедиции. Исследования осуществлялись совместно с коллегами из отдела науки, информации и мониторинга старшим научным сотрудником Г. Оразгалийкызы и научным сотрудником А. Канапьяновой.

Работа выполнялась по Программе BR05236546 «Реализация государственными ботаническими садами приоритетных для Казахстана научно-практических задач Глобальной стратегии сохранения растений как устойчивой системы поддержания биоразнообразия».

Литература

1 Гвоздецкий Н.А., Михайлов Н.И. Физическая география СССР. Азиатская часть. – Москва: «Мысль», 1978. – 512 с.

2 Справочник по климату Казахстана. Многолетние данные. Раздел 1 Температура воздуха. Алматинская область. – Алматы, РГП Казгидромет. – 2004а. – 562 с.

3 Справочник по климату Казахстана. Многолетние данные. Раздел 2 Атмосферные осадки. Выпуск 8. Алматинская область. – Алматы: РГП Казгидромет, 2004б. – 71 с.

4 Водный баланс и ресурсы поверхностных вод территории СССР. Ленинград: Гидрометиздат, 1984. – 447 с.

5 Соколов С.И., Ассинг И.А., Курмангалиев А.Б., Серпиков С.К. Почвы Алма-Атинской области. – Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1962. – Вып. 4. – 424 с.

6 Камелин Р.В. Флорогенетический анализ естественной флоры горной Средней Азии. Л.: Наука, 1973. 356 с.

7 Голоскоков В.П. Флора Джунгарсого Алатау. – Алма-Ата: Наука, 1984. – 224 с.

8 Рубцов Н.И. Растительный покров Джунгарского Алатау. – АН КазССР, Алма-Ата, 1948. -183 с.

9 Ботаническая география Казахстана и Средней Азии (в пределах пустынной области). – СПб., 2003. – 424 с.

10 Красная книга Казахстана. Том 2: Растения (колл. авт.). Астана, 2014. – 452 с.

11 Попова О.А., Лескова О.А., Якимова Е.П. Эколого-биологические особенности раннецветущих растений Восточного Забайкалья // Вестник БГУ. Вып. 4. – Улан-Удэ: Изд-во БГУ, 2008. – С. 130–135.

12 Попова О.А. Адаптационные особенности ранневесенних раннецветущих растений Восточного Забайкалья // Ученые записки ЗабГГПУ. – 2011. – № 1 (36). – С. 102-110.

13 Fisher J., Simon N., Vincent J. The Red book: wildlife in danger. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. Survival Service Commission. – London, Collins, 1969. – 363 p.

14 Newton AC, Oldfield S. Red Listing the world's tree species: a review of recent progress. Endangered Species Research. – 2008. – No 6. – P. 137–147.

15 Bilz M., Kell Sh.P., Maxted N. and Lansdown R.V. European Red List of Vascular Plants. – Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2011. – 130 p.

16 Özhatay N., Koçyiğit M., Yüzbaşıoğlu S., Gürdal B. Mediterranean flora and its conservation in Turkey: with special reference to Monocot geophytes // Flora Mediterranean. – 2013. – Vol. 23. – P. 195-208.

17 Korkmaz M., Alpaslan Z, Nevzat T., Ilhan V. Ethnobotanical aspects of some geophytes from Ergan Mountain, Turkey // Bangladesh J. Bot. – 2014. – 43(3). – P. 315-321.

18 Грудзинская Л.М., Гемеджиева Н.Г., Нелина Н.В., Каржаубекова Ж.Ж. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана. – Алматы, 2014 – 200 с.

19 Sitpayeva G.T., Danilov M.P., Koudabayeva G.M. Couverture végétale du Kazakhstan // Hommes & Plantes. Trimestriel Janvier /Février /Mars 2011 – Revue du CCVS – No 76. – P. 4-9.

20 Sitpayeva G.T., Vesselova P.V., Koudabayeva G.M. *Tulipes* sauvagesdu Kazakhstan // Plante à découvrir. Hommes & Plantes. – No 79. – 2011. – P. 36-41.

21 Шкляр А.Х. Календарь природы Беларуси. – Минск, 1967. – 272 с.

22 Горышина Т. К. Ранневесенние эфемероиды лесостепных дубрав. – Л: Изд-во ЛГУ, 1969. – 232 с.

23 Вершинина О. М. Лесные растительные сообщества парков петергофской дороги: автореф. дисс. канд. биол.наук. – Санкт-Петербург: 2007. – 215 с.

24 Полевая геоботаника. – М.; Л.: Наука, 1959–1976. – В 5 томах. – Т. 1. – 498 с., т. 2. – 500 с., т. 3. – 530 с., т. 4. – 336 с., т. 5. – 320 с.

25 Быков Б.А. Геоботаника. – Алма-Ата: Наука, 1978. – 288 с.

26 Иллюстрированный определитель растений Казахстана / Под ред. В. П. Голоскокова. – Алма-Ата: Изд-во «Наука» Казахской ССР, 1969. – Т. 1. – 644 с.; –1972. – Т. 2. – 572 с.

27 Флора Казахстана / Под ред. Н. В. Павлова. – Алма-Ата: Изд-во АН Казахской ССР, 1956. – Т. 1. – 354 с.; 1958. – Т. 2. – 292 с.; 1960. – Т. 3. – 460 с.; 1961. – Т. 4. – 548 с.; 1961. – Т. 5. – 515 с.; 1963. – Т. 6. – 465 с.; 1964. – Т. 7. – 497 с.; 1965. – Т. 8. – 447 с.; 1966. – Т. 9. – 640 с.

28 Данилов М.П., Веселова П.В., Кудабаева Г.М. Список видов сосудистых растений флоры ГНПП «Алтын-Эмель» // Труды государственного национального природного парка «Алтын-Эмель». – Алматы, 2016. – Вып. 2. – С. 63-118.

29 Иващенко А.А. Материалы к флоре Иле-Алатауского национального парка и прилегающих территорий // Труды Иле-Алатауского государственного национального парка. – Астана: Жасыл-Орда, 2015. – С. 29-71.

30 Иващенко А.А. Тюльпаны и другие луковичные Казахстана. – Алматы: ИД «Две столицы», 2005. – 192 с.

31 http://www.plantarium.ru

32 Красная книга Республики Узбекистан. – Ташкент, 2009.– Т. 1. Растения и грибы. – 356 с.

33 Красная книга Кыргызской Республики. – 2-е изд. – Бишкек: 2006. – 544 с.

34 Красная книга Туркменистана. – Ашхабад, 1999. Т. 2: Растения, – 263 с.

35 Иващенко А.А. О некоторых редких растениях Национального парка «Алтын-Эмель» и прилегающих территорий // Труды государственного национального природного парка «Алтын-Эмель». – Алматы, 2016. – Вып. 2. – С. 119-130.

36 Dimeyeva L., Vesselova P. Identification of Important Plant Areas in Kazakhstan // Proceedings of 7th PLANTA EUROPA Conference «Plants for people, People for plants». – USA: Horizon Research Publishing, 2015. – P. 52-57.

37 Dimeyeva L., Sitpayeva G., Ussen K., Orlovsky L., Ablaikhanov E., Islamgulova A., Zhang YM., Zhang J., Suleimenova N. Meadow vegetation of the Zhetysu Alatau Mountains // Applied ecology and environmental research. – 2016. – 14 (4). – P. 375-398.

38 Джангалиев А.Д. Дикая яблоня Казахстана. – Алма-Ата: Наука КазССР, 1977. – 284 с.

39 Огарь Н.П. Яблоня Сиверса. – Алматы: Полидей, 2018. – 200 с.

40 Forsline P.L. Wild Apple and Fruit of Central Asia // Horticultural Reviews. – 2003. – Vol. 29. – P. 1-61.

41 Александрова О.В., Ваганов А.В., Верещагина И.В. Красная книга Алтайского края. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений. – Барнаул: ОАО «ИПП «Алтай». – 2006. – Т. 1. – 262 с.

References

1 Aleksandrova O.V., Vaganov A.V., Vereshchagina I.V. (2006) Krasnaya kniga Altayskogo kraya. Redkie i nahodyaschiesya pod ugrozoy ischeznoveniya vidyi rasteniy [Red Book of the Altai Territory. Rare and endangered plant species]. Barnaul, JSC "IPP" Altai", T. 1, 262 p.

2 Botanicheskaya geografiya Kazakhstana i Sredney Azii (v predelakh pustynnoy oblasti). (2003) [Botanical geography of Kazakhstan and Central Asia (within the desert region)]. SPb., – 424 p.

3 Bykov B.A. (1978) Geobotany [Geobotanika]. Alma-Ata, Nauka, 288 p.

4 Danilov MP, Veselova P.V., Kudabayeva G.M. (2016) Spisok vidov sosudistyih rasteniy floryi GNPP «Altyin-Emel» [List of species of vascular plants of the flora of GNPP "Altyn-Emel"]. Proceedings of the state national natural park "Altyn-Emel", Almaty, vol. 2, pp. 63-118.

5 Dimeyeva L., Vesselova P. (2015) Identification of Important Plant Areas in Kazakhstan. Proceedings of 7th PLANTA EUROPA Conference «Plants for people, People for plants», USA, Horizon Research Publishing, pp. 52-57.

6 Dimeyeva Liliya, Sitpayeva Gulnara, Ussen Kapar, Orlovsky Leah, Ablaikhanov Elshat, Islamgulova Anastasia, Zhang YuanMing, Zhang, J., Suleimenova N. (2016) Meadow vegetation of the Zhetysu Alatau Mountains. Applied ecology and environmental research, 14 (4), pp. 375-398.

7 Dzhangaliev A.D. (1977) Dikaya yablonya Kazahstana [Wild apple tree of Kazakhstan]. Alma-Ata, Science of the Kazakh SSR, 1977, 284 p.

8 Fisher J., Simon N., Vincent J. (1969) The Red book: wildlife in danger. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. Survival Service Commission, London, Collins, 363 p.

9 Flora Kazakhstana (1956, 1958, 1960, 1961, 1963, 1964, 1965, 1966) [Flora of Kazakhstan] . Pod red. N. V. Pavlova, Alma-Ata, Izd-vo AN Kazakhskoy SSR, vol. 1., 354 p;. vol. 2. 292 p.; vol. 3, 460 p.;. vol.. 4, 548 p.; vol. 5, 515 p.; vol. 6, 465 p.; vol. 7, 497 p; vol. 8, 447 p.; vol. 9, 640 p.

10 Forsline P.L. (2003) Wild Apple and Fruit of Central Asia. Horticultural Reviews, vol. 29, pp. 1-61.

11 Goloskokov V.P. (1984) Flora Dzhungarsogo Alatau [Flora Dzhungar Alatau], Nauka, Alma-Ata. – 224 p.

12 Goryshina T. K. (1969) Rannevesenniye efemeroidy lesostepnykh dubrav [Early spring ephemeroids of forest-steppe oak forests]. L., Izd-vo LGU, 232 p.

13 Grudzinskaya L.M., Gemedzhiyeva N.G., Nelina N.V., Karzhaubekova Zh.Zh. (2014) Annotirovanny spisok lekarstvennykh rasteny Kazakhstana [Annotated list of medicinal plants of Kazakhstan]. Almaty, 200 p.

14 Gvozdetsky N.A., Mikhaylov N.I. (1978) Fizicheskaya geografiya SSSR. Aziatskaya chast. [Physical geography of the USSR. Asian part], «Mysl», Moskva. – 512 p.

15 http:. www.plantarium.ru

16 Illyustrirovanny opredelitel rasteny Kazakhstana (1969, 1972) [Illustrated determinant of plants of Kazakhstan] . Pod red. V. P. Goloskokova, Alma-Ata, Izd-vo «Nauka» Kazakhskoy SSR, V. 1. 644 p; T. 2., 572 p.

17 Ivashchenko A.A. (2005) Tyulpany i drugiye lukovichnye Kazakhstana [Tulips and other onion of Kazakhstan]. Almaty, ID «Dve stolitsy», 192 p.

18 Ivashchenko A.A. (2015) Materialyi k flore Ile-Alatauskogo natsionalnogo parka i prilegayuschih territoriy [Materials on the flora of the Ile-Alatau National Park and adjacent territories]. Trudyi Ile-Alatauskogo gosudarstvennogo natsionalnogo parka, Astana, Zhasyil-Orda, pp. 29-71.

19 Ivashchenko A.A. (2016) O nekotoryih redkih rasteniyah Natsionalnogo parka «Altyin-Emel» i prilegayuschih territoriy [About some rare plants of the National Park "Altyn-Emel" and adjacent territories]. Trudyi gosudarstvennogo natsionalnogo prirodnogo parka «Altyin-Emel», Almaty, vol. 2, pp. 119-130.

20 Kamelin R.V. (1973) Florogeneticheskiy analiz yestestvennoy flory gornoy Sredney Azii [Florogenetic analysis of natural flora of mountain Central Asia]. Nauka, Leningrad, 356 p.

21 Korkmaz M., Alpaslan Z, Nevzat T., Ilhan V. (2014) Ethnobotanical aspects of some geophytes from Ergan Mountain, Turkey. Bangladesh J. Bot., 43(3), pp. 315-321.

22 Krasnaya kniga Kyrgyzskoy Respubliki (2006) [Red Book of the Kyrgyz Republic]. – 2-e izd. Bishkek. – 544 p.

23 Krasnaya kniga respubliki Uzbekistan (2009) [Red Book of the Republic of Uzbekistan].Tashkent, T. 1. Rasteniya i griby, 356 p.

24 Krasnaya kniga Turkmenistana (1999) [Red Book of Turkmenistan]. Ashkhabad, T.2: Rasteniya, – 263 p.

25 Krsanaya kniga Kazakhstana. [Red Book of Kazakhstan] (2014), Tom 2: Rasteniya (koll. avt.). Astana. -452 p.

26 Melanie Bilz, Shelagh P. Kell, Nigel Maxted and Richard V. (2011) Lansdown European Red List of Vascular Plants. Luxembourg, Publications Office of the European Union, 130 p.

27 Newton AC, Oldfield S. (2008) Red Listing the world's tree species: a review of recent progress. Endangered Species Research. №6, pp. 137–147.

28 Ogar N.P. (2018) Yablonya Siversa [Apple Sievers]. Almaty, Polidey, 200 p.

29 Özhatay N., Koçyiğit M., Yüzbaşıoğlu S., Gürdal B. (2013) Mediterranean flora and its conservation in Turkey: with special reference to Monocot geophytes. Flora Mediterranean, vol. 23, pp. 195-208.

30 Polevaia geobotanika (1959-1976) [Field geobotany]. M., L., Science. In 5 volumes: 1: 498, 2: 500, 3: 530, 4: 336. 5: 320.

31 Popova O. A., Leskova O. A., Yakimova Ye. P. (2008) Ekologo-biologicheskiye osobennosti rannetsvetushchikh rasteny Vostochnogo Zabaykalya [Ecological and biological features of early-flowering plants in Eastern Transbaikalia]. Vestnik BGU, Vyp. 4, Ulan-Ude: Izd-vo BGU, pp. 130–135.

32 Popova O.A. (2011) Adaptatsionnye osobennosti rannevesennikh rannetsvetushchikh rasteny Vostochnogo Zabaykalya [Adaptation features of early spring early-flowering plants of Eastern Transbaikalia]. Uchenye zapiski ZabGGPU, № 1 (36), pp. 102-110.

33 Rubtsov N.I. (1948) Rastitelny pokrov Dzhungarskogo Alatau [Vegetation cover of Dzhungar Alatau] – AN KazSSR, Alma-Ata. -183 p.

34 Shklyar A.Kh. (1967) Kalendar prirody Belarusi [Calendar of nature of Belarus]. Minsk, 272 p.

35 Sitpayeva G.T., Danilov M.P., Koudabayeva G.M. Couverture végétale du Kazakhstan . Hommes & Plantes. Trimestriel Janvier . Février . Mars 2011 – Revue du CCVS – No 76. – P. 4-9.

36 Sitpayeva G.T., Vesselova P.V., Koudabayeva G.M. Tulipes sauvagesdu Kazakhstan . Plante à découvrir. Hommes & Plantes. – No 79. – 2011. – P. 36-41.

37 Sokolov S.I., Assing I.A., Kurmangaliyev A.B., Serpikov S.K. (1962) Pochvy Alma-Atinskoy oblasti [Soils of the Alma-Ata region]. Alma-Ata, Izd-vo AN KazSSR, vol. 4, 424 p.

38 Spravochnik po klimatu Kazakhstana. Mnogoletniye dannye. Razdel 1 Temperatura vozdukha. Almatinskaya oblast (2004a) [Guide to the climate of Kazakhstan. Long-term data. Section 1 Air temperature]. Almaty, RGP Kazgidromet, -562 p.

39 Spravochnik po klimatu Kazakhstana. Mnogoletniye dannye. Razdel 2 Atmosfernye osadki. Vypusk 8. Almatinskaya oblast (2004b) [Guide to the climate of Kazakhstan. Long-term data. Section 2 Atmospheric precipitation. Issue 8. Almaty region]. Almaty, RGP Kazgidromet, – 71 p.

40 Vershinina O. M. (2007) Lesnye rastitelnye soobshchestva parkov petergofskoy dorogi [Forest Vegetative Communities of the Peterhof Road Park]: avtoref. diss. kand. biol.nauk, Sankt-Peterburg, 215 p.

41 Vodny balans i resursy poverkhnostnykh vod territorii SSSR [Water balance and surface water resources of the USSR] (1984) Gidrometizdat. Leningrad. – 447 p.

FTAMP 34.29.35:34.35.25 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b3

Сатова К.М.[1], Жумадина Ш.М.[2], Абилова Ш.Б.[3], Акшабакова Ж.Е.[4]

С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті,
Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.

ШЫҒЫС ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫ БЕСҚАРАҒАЙ ОРМАН АЛҚАБЫ АҒАШ ӨСІМДІКТЕРІ ЖАПЫРАҚТАРЫНЫҢ АУЫР МЕТАЛДАРДЫ БИОАККУМУЛЯЦИЯЛАУЫ

Мақалада Бесқарағай орман алқабы қарағай қылқандарының құрамындағы ауыр металдардың жылжымалы мөлшері және оның биоаккумуляциялануы туралы мағлұмат келтірілген. Онан басқа, элементтердің биотикалығы көрсеткішінің (ЭБК), жинақталу коэффициентінің $К_ж$ және де орман экожүйесінің ластану деңгейін бағалау үшін қылқандардың жиынтық ластану көрсеткішінің және жапырақтар мен топырақтағы ауыр металдардың мөлшері арасындағы сызықтық қатынастың сипаттаушысы болып келетін Пирсонның корреляциялық коэффициенттерінің есептеулері көрсетілген. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, барлық аумақтардан алынған топырақ үлгілерінің ЭБК мәндері 0,03 төмен болып тұрған элементтер тек қобальт пен қорғаныс. Қалған элементтердің ЭПК мәндері жоғары. Ол жағдай бұл металдардың биогеохимиялық айналымындағы алатын орны. Бесқарағай орман экожүйесіндегі өнімділік үдерісі үшін өте маңызды екеніне нұсқайды. Пирсонның корреляциялық коэффициенті қарағай жапырақтарындағы ауыр металдар мөлшері олардың топырақтағы жылжымалы түрлерімен тығыз байланыста екендігін көрсетіп тұр. Бесқарағай орманында ағаш жапырақтарының ауыр металдармен ластану деңгейі төмен екендігі байқалды. Зерттеу нәтижелердің орман экожүйелерінде ауыр металдардың жөнку ағындарын бағалаумен байланысты қоршаған орта күйінің мониторингілік биоиндикациялық зерттеулерін жүргізу кезінде пайдалануға болады.

Түйін сөздер: жолақты орман, қарағай қылқандары, ауыр металдар, биоаккумуляция, коэффициенттер, биотикалық, жинақталу, концентрация, Пирсон, жиынтық ластану көрсеткіші.

Satova K.M.[1], Zhumadina Sh.M.[2], Abilova Sh.B.[3], Akshabakova J.E.[4]

S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University,
Kazakhstan, Nur-Sultan

Bioaccumulation of heavy metals in woody leaves of the Beskaragai forest area of the East Kazakhstan region

The article provides information on the content of mobile heavy metals in the pine leaves of the Beskaragai forest and their bioaccumulation. In addition, the bioticity coefficient of elements (CBE), accumulation coefficient (KN) are calculated, and to estimate the degree of pollution of forest ecosystems, calculations are made of the total pollution of coniferous leaves and correlation Pearson coefficients describing the linear relationship between the content of heavy metals in the leaves and the soil. Cobalt and lead were detected in soil samples of the studied areas, the CBE value of which is below 0.03. In the rest of the elements, the CBE is higher, which indicates the significant role of the mettal in the biochemical circulation of substances in the forest ecosystem of Beskaragai ribbon boron. It was revealed that the volume of heavy metals in woody leaves is closely related to the active types of soil metals. It is shown that the level of contamination by heavy metals of woody leaves in conditions of Beskaragai ribbon boron is low. The results of the study can be used in monitoring bioindicative studies of the state of the environment related to the assessment of migration flows of heavy metals in ecosystems.

Key words: tape forest, pine needles, heavy metals, bioaccumulation, coefficients, biotic, accumulation, concentration, Pearson, total pollution indicators.

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Сатова К.М.[1], Жумадина Ш.М.[2], Абилова Ш.Б.[3], , Акшабакова Ж.Е.[4]
Казахский агротехнический университет им С. Сейфуллина,
Казахстан, г. Нур-Султан

Биоаккумуляция тяжелых металлов в древесных листьях Бескарагайского лесного массива Восточно-Казахстанской области

В статье приводятся сведения о содержании тяжелых металлов в составе сосновых листьев Бескарагайского лесного массива и их биаккумуляции. Рассчитаны коэффициент биотичности элементов (КБЭ), коэффициент накопления ($К_н$), для оценки степени загрязнения лесных экосистем представлены расчеты суммарного загрязнения хвойных листьев и корреляционных коэффициентов Пирсона, описывающих линейное соотношение между содержанием тяжелых металлов в листьях и почве. Как показали результаты исследований в образцах почвы исследуемых участков, значение КБЭ составляет 0,03 только у кобальта и свинца. В остальных элементах КБЭ выше, что указывает на их важное значение в биохимическом круговороте для процесса продуктивности в Бескарагайской лесной экосистеме. Корреляционный коэффициент Пирсона показал, что содержание тяжелых металлов в листьях сосны тесно связано с их подвижными видами в почве. Выявлено, что уровень загрязнения тяжелыми металлами древесных листьев в условиях Бескарагайского ленточного бора низкий. Результаты исследования могут быть использованы в мониторинговых биоиндикационных исследованиях состояния окружающей среды, связанных с оценкой миграционных потоков тяжелых металлов в экосистемах.

Ключевые слова: ленточный бор, сосновые иглы, тяжелые металлы, биоаккумуляция, коэффициенты, биотические, накопление, концентрация, Пирсон, суммарные показатели загрязнения.

Кіріспе

Жақында индустрияның қарқынды дамуына байланысты қоршаған ортадағы ауыр металдар деңгейінің едәуір ұлғаюы байқалды. Топырақтағы ауыр металдардың концентрациясы биологиялық және геохимиялық белсенділігімен байланысты және антропогендік белсенділіктің әсеріне ұшырайды [1, 2]. Ауыр металдар маңызды ластаушы болып саналады, өйткені олар улы және ыдырайтын емес [3-7]. Топырақта ауыр металдардың жиналуы адам мен экожүйелерге үлкен қауіп төндіреді [8].

Қазақстандағы орман экожүйелерінің ауыр металдармен ластануы туралы әдебиеттік мәліметтер өте аз [9-14]. Сол экожүйенің бір бөлігі болып келетін «Семей орманы» резерватына қарасты Бесқарағай орман жолақтарының ауыр металдармен ластануын қарастырумәселесі сондықтан қазіргі таңда өзекті деп есептейміз.

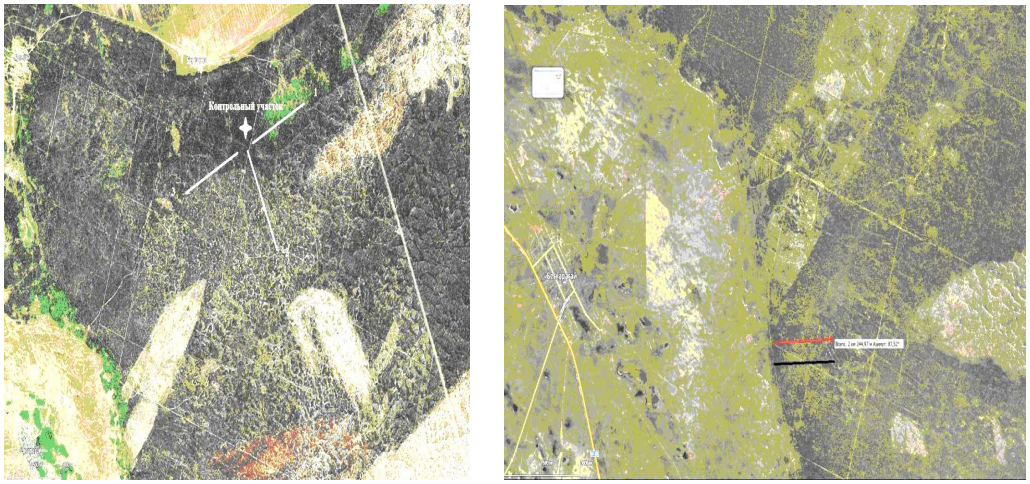
Соңғы жүз жылдықта биосфераның зиянды заттармен ластануының неғұрлым қуатты көздері болып табылатын өнеркәсіп пен көлік кешенінің қарқынды дамуы елеулі экологиялық проблема туғызды. Адамның іс-әрекеті нәтижесінде пайда болған бейорганикалық ксенобиотиктер арасында ауыр металдардың қауіптілігі өте жоғары және олардың қоршаған ортадағыкөлемі қарқынды түрде өсіп жатыр.

Зерттеу нәтижелері экожүйедегі ауыр металдардың жөңку ағындарын бағалаумен, өсімдік ағзалары тіршілік жай-күйінің бұзылуын диагностикалаумен байланысты болғандықтан, жұмыстың тәжірибелік маңыздылығын жоғары деп бағалаймыз.

Зерттеу нысаны болып келетіні Шығыс Қазақстан облысындағы «Семей орманы» резерватына қарасты құрғақ далалық Бесқарағай жолақты орманының қарағай жапырақтары. Бұл алаңдардың бейнесі 1-суретте келтірілген.

Зерттеу мақсаты: орманның қарағай жапырақтарындағы ауыр металдар мөлшерін анықтап, олардың биоаккумуляциялану үдерісін зерделеу.

Ағаш өсімдіктерінің жапырақтары әртүрлі элементтерді топырақтан суырып алып, өздерінің ұлпаларында жинақтайтын болғандықтан, оларды техногендік ластану барысында ауыр металдардың аккумуляциялану деңгейін анықтау үшін пайдаланады. Ауыр металдардың көп мөлшері өсімдіктердің тамырында, онан соң сабақтары мен жапырақтарында қалып қояды, тек аз дәрежеде гүлдерінде, дәндерінде және жемістерінде болады [15-17]. Ауыр металдардың топырақтан өсімдікке өтіп, онда жинақталуының негізгі факторлары болып келетіндері – ол элементтің өзі және оның топырақ ерітіндісіндегі концентрациясы, топырақтың pH және өсімдіктің түрі [18].



А Б

1-сурет –Бесқарағай аумақтарының сынақ алаңдары
А – табиғи жағдайлар, Б – антропогендік жағдайлар

Зерттеу материалдары және әдістері

Қарағай жапырақтары орман алқабының төрт нүктесіндегі қарағайлардан жиналды: бархандар, табиғи жазықтар аумағынан, автокөлік және ыза жолдар бойынан. Антропогендік әсерге аз ұшырыған табиғи жазықтардағы ағаштардан қылқандар жинау үшін орман шетіне жақын орналасқан елді мекеннен 15 км ара-қашықтықтағы аумақ таңдалды. Жапырақ үлгілерін олардың өсуі тоқтағаннан кейін (шілденің ортасынан әрі қарай) және генеративті жас шамасына жеткен ағаштардан жинадық. Жапырақтарды тасымалдау және сақтауды ғылыми зерттеулерде қолданылатын көпке белгілі әдістер бойынша жүргіздік. Қазіргі заманда өсімдіктерді температуралық бекіту және лиофильдік әдіспен кептіру қолданылады, сондай жағдайда өсімдік ферменттері белсенді күйде сақталады, ал ақуыздар құрылымы бұзылмайды.

Жапырақтардың температуралық бекітуін алдын ала 105-110°С дейін қыздырылған желдеткіші бар кептіру шкафында жүргіздік. Жапырақтарды кептіру шкафтарына салғаннан кейін өсімдік материалының қасиеттеріне байланысты 10-20 мин аралығында 90-95°С температурада ұстадық. Бекітудің аяқталғанын келесі жолмен біледі: үлгілерді шкафтан алғаннан кейін олар ылғалды әрі жұмсақ болып, өз түсін сақтап қалуы қажет, яғни сарғаймау керек. Әрі қарай үлгілерді ашық қапшықтарда 3-4 сағат бойы 50-60°С температурада кептірдік. Осы температура мен уақыт аралығын қатаң сақтау қажет. Егер үлгілерде тек химиялық элементтер жиынтығы ғана анықталса, онда оларды бекітпей, бөлме температурасында да кептіруге болады. Алайда өсімдік материалдарын температурасы 40-60°С термостаттарда кептірген жөн, себебі бөлме температурасында шіру үдерісі жүруі және атмосферадағы шаңды бөлшектермен ластануы мүмкін. Талдау үшін зертханаға жібермес бұрын кепкен қылқандарды електен өткізе отырып, ешгбір бөлігін тастамай, тұрмыстық ұнтақтағыштарда үгіп, мұқият араластырдық.

Ауыр металдар мөлшерлері SPECTRO ARCOS (Германия) индуктивті байланысқан плазмасы бар оптикалық эмиссиялық спектрометрде анықталды. Элементтердің массалық үлесін өлшеу барысындағы салыстырмалы рұқсат етілетін қателіктің шектері ± 5 % құрайды. Ауыр металдың жалпы мөлшері топырақтың жалпы ластануын сипаттайды, бірақ өсімдіктер үшін элементтердің қол жетімділік дәрежесін көрсетпейді. Тірі ағза құрамының биосферамен биогеохимиялық байланысының тығыздығын бағалау үшін жапырақтардағы элемент мөлшерінің жер қыртысының кларкына қатынасын (1-кесте) білдіретін элементтер биотикалығының көрсеткішін (ЭБК) есептедік [19].

$$ЭБК = С_{ө} / К_{лит}, \quad (1)$$

$С_{ө}$ – өсімдіктегі жалпы мөлшері, мг/кг

$К_{лит}$ – элементтің литосферадағы кларкі, мг/кг (А.П. Виноградов бойынша, 1 кесте).

1-кесте – Элементтердің литосферадағы кларкі

Элемент	Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
Элемент тің кларкі	0,13	30,00	200,00	47,00	900,00	80,00	16,00	83,00

Элементтердің тірі зат пен абиотикалық ортада таралуын сипаттау үшін жинақталу коэффициенттерін ($К_ж$) анықтадық. $К_ж$ – өсімдіктердің құрғақ массасындағы ауыр металдардың концентрациясының (мг/кг) топырақтағы ауыр металдардың белсенді түрлерінің концентрациясына қатынасын (мг/кг) көрсетеді [20].

$$К_ж = С_ө / С_т, \quad (2)$$

$С_ө$ – өсімдіктердің құрғақ массасындағы ауыр металдардың концентрациясы, мг/кг;

$С_т$ – топырақтағы ауыр металдардың жылжымалы түрлерінің концентрациясы, мг/кг.

Орман экожүйесінің ластану деңгейін бағалау үшін Ю.Е.Сает [21] ұсынған өрнек бойынша қылқандардың жиынтық ластану көрсеткішін есептедік:

$$Z_c = \sum K_c - (n - 1), \quad (1)$$

бұл жерде K_c – концентрациялар коэффициенті;

n –ластаушы заттардың саны.

K_c мәнін келесі өрнек бойынша есептелді:

$$K_c = С_i / С_{Ф\,i}, \quad (2)$$

$С_i$ – химиялық элементтің мөлшері;

$С_{Ф\,i}$ – элементтердің фондық аумағындағы мөлшері.

$С_{Фi}$ ретінде антропогендік әсерге аз ұшыраған бархандардар аумағында өскен қарағайлар қылқандарының құрамындағы металдар мөлшерін қабылдадық.

Элементтердің уыттылығын ескерген жағдайдағы жиынтық ластану көрсеткішті Ю.Н. Водяницкий [22] бойынша есептедік:

$$Z_c = \Sigma\,(K_c * K_{ті}) - (n - 1), \quad (3)$$

бұл жерде $K_{ті}$ –і элементінің уыттылық коэффициенті.

Элементтердің уыттылық коэффициенттері мәнімен қауіптілік тобы арасындағы байланыс 2 кестеде келтірілген.

2-кесте – Элементтердің уыттылық коэффициенттерінің мәні

Қауіптілік тобы	Уыттылық коэффициентінің мәні	Химиялық элементтер
1	1,5	As, Cd, Hg, Se, Pb, Zn
2	1,0	Co, Ni, Mo, Cu, Sb, Cr
3	0,5	Ba, V, W, Mn, Sr

Ауыр металдардың жапырақтардағы және топырақтағы мөлшері арасындағы сызықтық қатынасты сипаттауды біз Пирсонның корреляциялық коэффициенттері [23] арқылы жүргіздік, ол үшін біз элементтердің топырақ (X) пен жапырақтардағы (Y) мөлшерлері мәндерінің жалпы қосындысын X_i және Y_i шығардық. Есептеулер келесі сатылардан құралды:

1. X_i және Y_i арифметикалық орташасын есептедік (X^-_i; Y^-_i);
2. Әр элемент мәнініңарифметикалық орташасынанайырмасын шығардық (X^-_i – X; Y^-_i–Y);
3. Әр айырманың квадраттарын есептедік [$(X^-_i - X)^2$; $(Y^-_i - Y)^2$];
4. Айырманың квадраттарының қосындысын есептедік: $\sum(X^-_i - X)^2$ және$\sum(Y^-_i - Y)^2$;
5. Онан соң арифметикалық орташасы мен әр элемент арасындағы айырмашылықтарды көбейттік $(X^-_i - X)*(Y^-_i - Y)$;
6. $\sum(X^-_i - X)*(Y^-_i - Y)$;

$$r_{xy} = \frac{\sum (x_i - \bar{x}) \times (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \times \sum (y_i - \bar{y})^2}} \quad (4)$$

7. Шыққан мәндерді келесі өрнекке салдық:

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

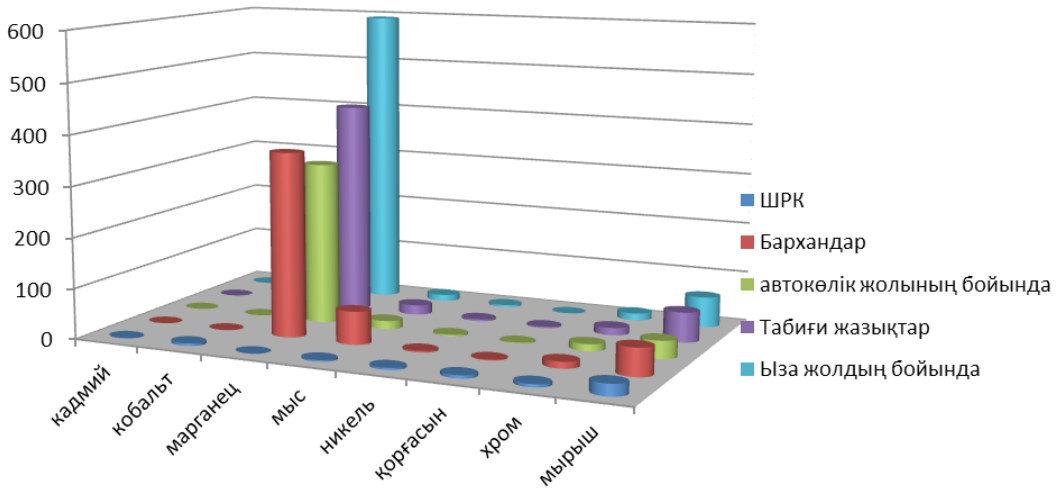
Ағаш өсімдіктері жапырақтарының ауыр металдарды биоаккумуляциялауы. Бұл зерттеулердің нәтижелері 3-кестеде және 2-суретте көрсетілген.

3-кестедегі мәліметтерден көрініп тұрғандай, барлық аумақтардағы ауыр металдардың мөл-

шерін талдағанда кадмий, кобальт, никель және қорғасынның мәндері ШРК аспағанын, ал мыс, хром және мырыштікінің артып тұранын байқауға болады. Мысалы, мыстың мөлшері автокөлік жолындағы, табиғи жазықтар мен ыза жолындағы қарағай қылқандарында сәйкесінше 5,5; 6,4; 4,2 ШРК құрап тұр. Ал фондық аумақ қылқандарында мыстың мөлшері 21,7 ШРК жетіп тұр. Хромның мөлшері барлық аумақтарда 2,2–2,4 ШРК, мырыштікі 1,5– 2,6 ШРК құраған. Енді үш аумақ қылқандарындағы металдар мөлшерлерін фондық аумақтағымен салыстырып көрейік.

3-кесте – Әртүрлі аумақтан алынған қарағай жапырақтарындағы ауыр металдардың мөлшері

Ауыр металл	Мөлшері, мг/кг				
	ШРК	бархандар	автокөлік жолы	табиғи жазықтар	ыза жолы
кадмий	1,0	0,08	0,11	0,10	0,07
кобальт	5,0	0,30	0,20	0,30	0,20
марганец	-	363,30	320,6	420,00	593,30
мыс	3,0	65,20	16,40	19,10	12,50
никель	4,0	3,20	3,00	3,80	4,00
қорғасын	6,0	1,80	1,90	2,70	0,50
хром	6,0	13,10	14,10	14,60	13,70
мырыш	23,0	54,80	35,60	59,40	60,40



2-сурет – Қарағай жапырақтарындағы ауыр металдар мөлшерінің сипаты

2-суреттегі диаграммаларға қарап барлық аумақтардың ағаш жапырақтарында кадмий мен кобальттың мөлшерлері жақын екенін көруге болады (сәйкесінше 0,07–0,11 және 0,2–0,3 мг/кг аумағында). Марганецтің мөлшері фондық аумақта 363,3 мг/кг көрсетіп тұрса, автожол маңындағы жапырақта 42,7 мг/кг азайып, табиғи жазық пен ыза жол бойында өскен қарағай қылқандарында сәйкесінше 15,6 және 63,3% артқан (3-кесте, 2-сурет).

Мыстың мөлшері фондықтан басқа аумақтарда 12,5-19,1 мг/кг аралығында, ол фондық аумақ жапырақтағыдан (65,2 мг/кг) 5,2-3,4 есе кем. Никельдің мөлшері фондық аумақтан алынған ағаш жапырақтарында 3,2 мг/кг құраса, қалған аумақтар жапырақтарында

оның концентрациясы 3,0–4,0 мг/кг ауқымында тұр. Қорғасын мен хром бархандар аумағындағы қарағай қылқандарында сәйкесінше 1,8 және 13,1мг/кг құрап тұр. Қорғасын мөлшері тек ыза жол бойындағы қылқандарда 1,3 мг/кг азайып, табиғи жазықтарда 0,9 мг/кг артқан, автокөлік жолы бойында оның мөлшері фондық аумақтағымен шамалас (1,9 және 1,8 мг/кг). Фондық аумақтағыға қарағанда, қалған антропогендік аумақтарда хром мөлшері ептеп артып, 13,7-14,6 мг/кг аралығында орналасқан. Мырыштың мөлшері автокөлік жолындағы қылқандарда 19,2 мг/кг азайып, табиғи жазықтар мен ыза жолдары бойындағы қылқандарда сәйкесінше 4,6-5,6 мг/кг артқан.

Элементтердің топырақта және *Pinus sylvestris* L. қылқан жапырақтарында таралуы арасындығы байланысты анықтау

Микроэлементтердің жеткілікті мөлшерде болуы өсімдіктің қалыпты өсуі мен дамуы үшін қажет. Зерттеліп отырған қылқан жапырақтардағы микроэлементтердің концентрациясын А. Кабата-Пендиас бойынша өсімдіктің өсуі мен дамуы үшін қалыпты (жеткілікті) микроэлементтер концентрациясымен салыстыру 4-кестеде келтірілген [24].

4-кестедегі мәліметтер бойынша марганец пен мыс мөлшерлері өсімдік үшін қалыпты деңгейден асып тұрғандықтан (орташа мөлшері 424,3 және 28,3 мг/кг), олардың сол мөлшерлері уытты деп есептедік. Зерттелген үлгілердегі мырыш пен кобальт мөлшерлері А. Кабата-Пендиас және S. Messenger and M. W. Stelford еңбектерінің мәліметтеріндегі көрсеткіштермен салыстырғанда өсімдіктер үшін жеткілікті болып келеді [24,25].

Элементтердің топырақта және Pinus sylvestris L. қылқан жапырақтарында таралу сипаты жинақталу коэффициенттерін ($К_ж$) анықтау нәтижелері 5-кестеде және 3-суретте көрсетілген. Егер жинақталу коэффициенті бірден кем болса, онда ластану көзі – топырақ болып табылады. Яғни элементтер өсімдіктермен селқос сіңіріледі, себебі оларды белсенді жинақтайтын механизм жоқ. Егер жинақталу коэффициенті бірден жоғары болса, ауыр металдар өсімдіктерге атмосферадан да түседі [28].

5-кесте бойынша әртүрлі аумақтардағы ағаш жапырақтарында ауыр металдардың жинақталу коэффициентінің мәндері бірден кем болып келгендері келесідегідей: ыза жолдар бойынан алынған үлгілердегі кобальттың $К_ж$ =0,82; қорғасын үшін – 0,67; автокөлік жолы бойынан алынған үлгілер құрамындағы кобальт үшін $К_ж$ = 0,78; кадмий үшін – 0,35.

4-кесте – Зерттеліп отырған қылқандардағы микроэлементтердің мөлшері

Микро элемент	Қылқандардағы элементтің мөлшері, мг/кг			
	орташа	максималды	минималды	қалыпты (жеткілікті)
Cu	28,3	65,20	12,50	2-20
Mn	424,3	593,30	320,6	20-300
Zn	52,55	60,40	35,60	27-100 (10-62*)
Co	0,25	0,30	0,20	0,02-1

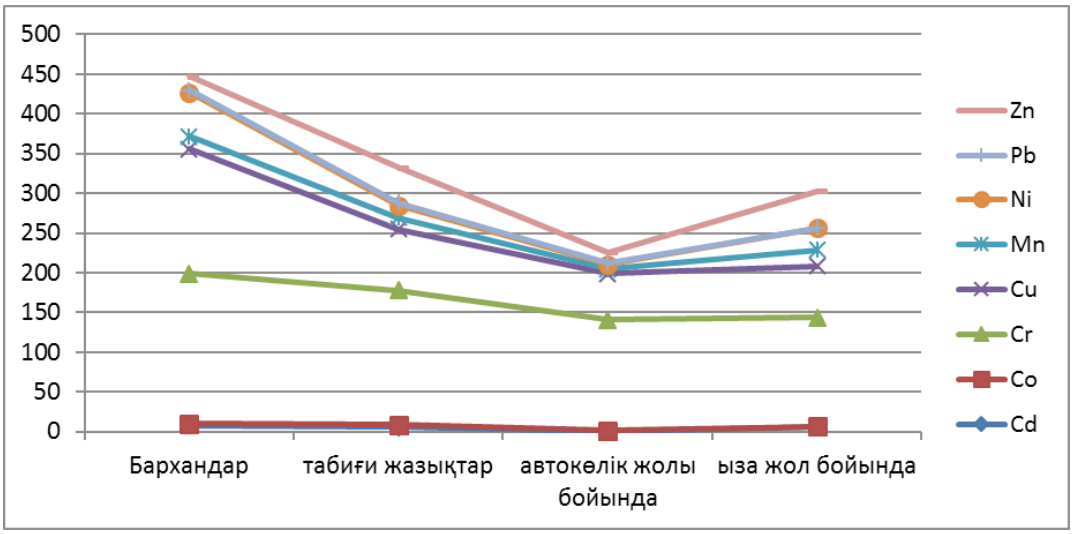
* S. Messengerand M.W. Stelford еңбектерінің мәліметтері бойынша (1997)

5-кесте – Бесқарағай орманынан алынған үлгілердегі ауыр металдардың жинақталу коэффициенті

Ауыр металл	$К_ж$ мәндері			
	Бархандар	Табиғи жазықтар	Автокөлік жолы бойында	Ыза жолдар бойында
Cd	8	5,88	0,35	5,83
Co	1,93	2,5	0,78	0,82
Cr	189	169,7	139,6	137
Cu	157	76,7	57,95	64,4
Mn	15,9	14,69	5,97	20,8

5-кестенің жалғасы

Ауыр металл	$К_ж$ мәндері			
	Бархандар	Табиғи жазықтар	Автокөлік жолы бойында	Ыза жолдар бойында
Ni	55	15.2	5,64	27
Pb	3	3,4	2,39	0,67
Zn	17,28	44,3	13,3	46



3-сурет – Бесқарағай орманынан алынған үлгілердегі элементтердің жинақталу коэффициенті

Демек, жоғарыда аталған элементтерді орман ағаштары топырақтан сіңірсе, қалған металдарды атмосфера арқылы жинақтайды. Бархандар, табиғи жазықтар, ыза жолдың бойындағы ағаш жапырақтарында кадмийдің жинақталу коэффициенті 8,0; 5,9 және 5,8 мәнін көрсетіп тұр, осыдан бұл аумақтардағы ағаштарға кадмий негізінен атмосферадан келіп түскен деп айтуға болады.

Бархандар мен табиғи жазықтардығы қарағай қылқандарында кобальттың жинақталу коэффициенті 1,93 және 2,5 құрады. Хромның жинақталу коэффициенті барлық үлгілерде өте жоғары болып шықты: бархандардағы қарағай жапырақтарында 189; табиғи жазықтардан алынған үлгілерде 169,7; автокөлік жолы бойында 139,6; ыза жолдың бойында 137 санын құрады. Мыстың да хром сияқты жинақталу коэффициентінің мәндері барлық үлгілердеөте жоғары: бархандардан алынған қарағай қылқандарында 157; табиғи жазықтардан алынған үлгілерде 76,7; автокөлік жолы бойындағы ағаш жапырақтарында 57,95 және ыза жолдың бойынан алынған жапырақтарда 64,4. Барлық аумақтарда жинақталу коэффициентінің мәндеріне қарап, марганец негізінен атмосферадан келіп түскенін байқауға болады. Бархандардан алынған үлгілерде оның мәні 15,9 болса, табиғи жазықтардан алынған жапырақтарда – 14,7; автокөлік жолы бойындағы ағаш жапырақтарында – 6,0; ыза жолдың бойындағы қарағай қылқандарында – 20,8 болып шықты.

Барлық үлгілерде жинақталу коэффициенті бірден жоғары болып шыққан металл – никель. Оның бархандардан алынған үлгілердегі $К_ж$ = 15,9; табиғи жазықтарда алынған жапырақтардағы $К_ж$ = 14,69; автокөлік жолы бойындағы ағаш жапырақтарында – 5,97 және ыза жолдың бойындағы қылқандарда – 27 санын құрады.

Бархандардан алынған үлгілерде қорғасынның жинақталу коэффициенті 3, табиғи жазықтардағы ағаш жапырақтарында – 3,4 және автокөлік жолы бойындағы қарағай қылқандарында 2,39 тең болды.

Бархандардан жиналған ағаш жапырақтарында мырыштың жинақталу коэффициенті 17,3

болып шықты. Табиғи жазықтардағы жапырақ үлгілерінде мырыштың $К_ж$ = 44,3 болса, ыза жолдың бойындағы қарағай қылқандарында 46 тең болды. Ал автокөлік жолы бойындағы қарағай жапырақтарында оның жинақталу коэффициенті 13,3 құрады.

3-суретте көрсетілгендей, бархандардан алынған үлгілердегі ауыр металдар келесі ретпен орналасады: Cr > Cu > Ni > Zn > Mn > Cd> Pb > Co. Табиғи жазықтардан алынған жапырақ үлгілеріндегі металдар жинақталу коэффициенттері бойынша былай орналасқан: Cr > Cu > Zn> Ni > Mn > Cd> Pb > Co. Автокөлік жолы бойында алынған үлгілердегі ауыр металдардың орналасуы келесідегідей: Cr > Cu > Zn> Mn> Ni > Pb > Co> Cd. Ыза жолдар бойындағы қарағай жапырақтарында ауыр металдардың жинақталу ретінің бейнесі мынандай: Cr > Cu > Zn> Mn> Ni > Cd> Co> Pb.

Тірі ағза құрамының биосферамен биогеохимиялық байланысының тығыздығын бағалау үшін элементтің биотикалығының көрсеткіштерінің мәндері 6-кестеде және 4-суретте келтірілген. Оны есептеу арқылы біз кәдімгі қарағай ағаштарының жер үсті фитомассасының биогеохимиялық айналымына қатысқан ауыр металдардың массасын анықтадық. ЭБК өсімдіктердің элементтерді сіңіру қарқындылығына тура пропорционал. ЭБК ≥ 0,3 элементтер орман экожүйелеріндегі заттардың биогеохимиялық айналымында үлкен қызмет атқарады.

6-кесте – Элементтердің биотикалық көрсеткіші

Ауыр металл	Телімдердегі ЭБК			
	бархандар	табиғи жазықтар	автокөлік жол бойында	ыза жолдар бойында
Cd	0,651	0,769	0,84	0,53
Co	0,01	0,01	0,006	0,006
Cr	0,065	0,073	0,07	0,068
Cu	1,38	0,406	0,34	0,265
Mn	1,81	0,466	0,35	0,659
Ni	0,04	0,047	0,037	0,05
Pb	0,11	0,16	0,118	0,031
Zn	0,66	0,715	0,42	0,73

6-кестеде және 4-суретте келтірілгендей барлық үлгілердегі кадмий, марганец, мырыш пен бархандар, табиғи жазықтардан, автокөлік жолы бойынан алынған үлгілердегі мыстың биотикалық көрсеткіші ≥ 0,3. Ол көрсеткіш бархандарда өсетін қарағайлардан алынған жапырақтарда 1,38 құрады; табиғи жазықтардағы қарағай жапырақтарында – 0,406; автокөлік жолы бойындағы қарағай қылқандарында ЭБК = 0,34.

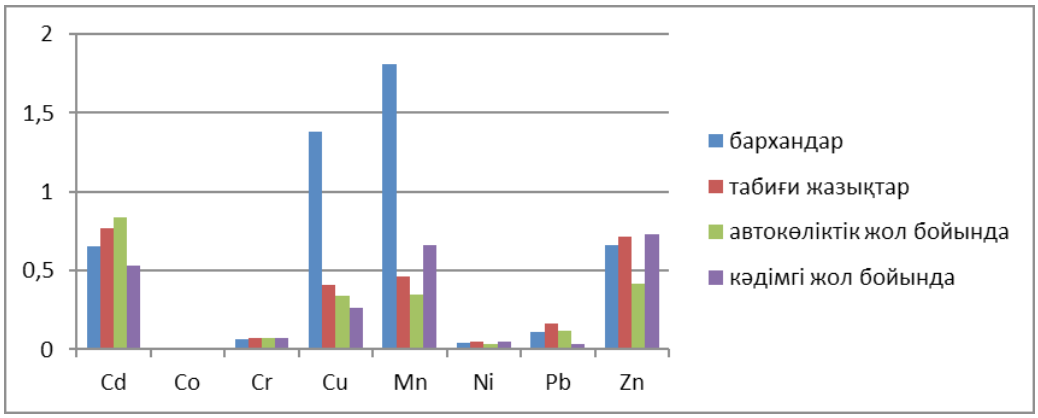
Кадмийдің биотикалық көрсеткіші (ЭБК) мәндері бархандарда өсетін орман қылқандарында 0,65, ал табиғи жазықтықтарда 0,79 құраған; автокөлік жолы бойында ЭБК =0,84; ыза жолдар бойында – 0,53 көрсетіп тұр.

Зерттелген орман экожүйесінің биогеохимиялық айналымына қатысқан марганецтің мөлшері бархандардағы ағаш жапырақтарында 1,81 мәнін көрсетіп тұр, табиғи жазықтардағы қарағай қылқандарында – 0,47, автокөлік жолы бойынан алынған үлгілерде 0,35 және ыза жолдыр бойындағы ағаш жапырақтарында 0,66 құрады.

Бархандар, табиғи жазықтар, автокөлік және ыза жолдары аумақтарында өсетін ағаш жапырақтарында мырыштың биотикалық көрсеткіші сәйкесінше 0,66; 0,715; 0,42; 0,73 тең.

Келтірілген сандардың мәндері Бесқарағай орман экожүйесіндегі өнімділік үдерісі үшін бұл элементтердің биогеохимиялық айналымындағы алатын орны өте маңызды екенін көрсетеді.

Ауыр металдардың жапырақтарындағы және топырақтағы мөлшерлері арасындағы сызықтық қатынасты сипаттау үшін Пирсонның корреляциялық коэффициенті -1 және +1 аралығындағы мәндерін қабылдайды. Белгілер арасындағы байланыс 7-кестеде көрсетілген Чеддок шкаласы бойынша бағаланады.



4-сурет – Элементтердің биотикалығының көрсеткіштерін салыстыру

7-кесте – Сызықтық байланыс коэффициенттерінің Чеддок шкаласы бойынша бағалануы

r_{xy} мәні	Байланыстың бағалануы
0,1 – 0,3	әлсіз
0,3 – 0,5	орташа
0,5 – 0,7	айқын
0,7 – 0,9	жоғары
0,9 – 1	өте жоғары

Пирсонның корреляциялық коэффициенті зерттелген қарағай жапырақтарындағы ауыр металдар мөлшері олардың топырақтағы белсенді түрлерімен тығыз байланыста екендігін көрсетті (барлық аймақтарда r_{xy} = 1).

Ластану көрсеткіштерін анықтау. Ауыр металдар концентрацияларының коэффициенттері ($К_c$) зерттелетін телімдердегі қарағайдың ассимиляциялық аппаратындағы химиялық элементтердің салыстырмалы ластанбаған телімде өсетін қылқан жапырақты элементтің фондық мөлшеріне қатынасын көрсетеді. $К_c$>1 болған сайын қылқан жапырақтарының элементпен ластануы артады.

Ауыр металдар Ксесептеу нәтижелері 8 кестеде көрсетілген. Есептеулерге қажет бархандардан алынған қарағай қылқандары ауыр металдардарының фондық мөлшерлерін 1 кестеден қарау қажет.

Кадмий, хром және қорғасын үшін $К_c$ > 1. Ал ыза жолдың бойындағы $К_c$ > 1 элементтер келесілер: марганец (1,63), никель (1,25), хром (1,04), мырыш (1,01).

Бесқарағай орманы қарағай жапырақтарының жиынтық ластануын есептеу нәтижелері 9 және 10-кестелерде көрсетілген.

8-кесте – Зерттелген элементтер концентрацияларының коэффициенттері

Телімдер	Ауыр металдардың $К_c$ мәндері							
	Cd	Co	Mn	Cu	Ni	Cr	Pb	Zn
табиғи жазықтар	0,13	1,00	1,15	0,29	1,18	1,11	1,5	0,99
автокөлік жолы бойында	1,38	0,66	0,8	0,25	0,93	1,07	1,05	0,59
ыза жолы бойында	0,88	0,66	1,63	0,19	1,25	1,04	0,27	1,01

9-кесте – Металдардың уыттылығын ескермегендегі ағаш жапырақтары ластануының жиынтық көрсеткіші

Телім	Z_c
табиғи жазықтар	1,94
автокөлік жолы бойында	1,49
ыза жолы бойында	1,93

9-кестеден көріп отырғанымыздай, ауыр металдардың уыттылығын ескермегендегі ластанудың жиынтық көрсеткіші табиғи жазықтардағы қарағай жапырақтарында Z_c = 1,94, автокөлік жолы бойындағы қылқындандарда оның мәні 1,49 тең, ыза жолдың бойындағы ағаш жапырақтарында – 1,93.

10-кестеде көрсетілгендей бірінші уыттылық тобындағы металдармен автокөлік жолы бойындағы орман жапырақтары ластанған (Z_c = 2,64), одан кейін табиғи жазықтардағы (Z_c = 2,25), ыза жолдардың бойындағы ағаш жапырақтарының Z_c = 1,5 тең. Екінші уыттылық тобына жататын металдар табиғи жазықтар мен ыза жолдар бойындағы қылқандарды ластаған, Z_c = 1,29. Автокөлік жолы бойындағы қарағай қылқандарында Z_c = 1,07.

Табиғи жазықтардағы қарағай жапырақтарында Z_c = 0,575 және ыза жол бойындағы қылқандарда – 0,815. Барлық зерттеліп отырған аумақтарда ластану негізінен бірінші уыттылық тобындағы ауыр металдар есебінен жүрген.

10-кестемәндерін 11-кестеде көрсетілген шектермен салыстырғанда, қауіптілік деңгейі бойынша Z_c < 16 болғандықтан, зерттеліп отырған орманда ластану деңгейі төмен деп айтуға болады.

10-кесте – Үлгілер алынған телімдердегі элементтердің уыттылығын ескергендегі ластанудың жиынтық көрсеткіші

Телімдер	Элементтердің уыттылығын ескергендегі Z_c мәндері		
	I топ	II топ	III топ
табиғи жазықтар	2,25	1,29	0,575
автокөлік жолы бойында	2,64	1,07	-
ыза жол бойында	1,5	1,29	0,815

11-кесте – Ластанудың жиынтық көрсеткіші мәндерінің шектері

Z_c мәні	Ластану деңгейі
< 16	төмен
16-32	орташа қауіпті
32-128	қауіпті
> 128	төтенше қауіпті

Қорытынды

Барлық телімдердің ағаш жапырақтарында кадмий мен кобальттың мөлшерлері жақын аумақта жатыр. Фондық аумақта, басқа металдарға қарағанда, марганец, мыс және мырыш мөлшерінің көрсеткіші жоғары. Басқа аумақтардағы никельдің концентрациясы фондық аумақтағыға жақын, тек табиғи жазық пен ыза жол жапырақтарында ептеп асып тұр. Автокөлік жолы бойында өскен қарағай қылқандарында қорғасынның мөлшері фондыққа тақау, ал табиғи жазықтағыда артып, ыза жолы бойында қайтадан төмендеген. Хромның мөлшері бархандарда 13,1, ал қалған аумақтарда 13,7-14,6 мг/кг аумағында орналасқан.

Әртүрлі аумақтардағы ағаш жапырақтарында ауыр металдардың жинақталу коэффициенттерінің мәндері бірден кем болып келгендері: ыза жолдар бойынан алынған үлгідегі кобальт пен қорғасын, автокөлік жолы бойынан алынған үлгідегі кобальт пен кадмий үшін. Қалған металдардың $К_ж$ > 1. Барлық аумақтарда бұл көрсеткіштің мәні өте жоғары болып келетін металдар Cr, Cu, Mn, Ni және Zn. Сонда бұл металдарды орман ағаштары әрі топырақтан, әрі атмосфера арқылы жинақтайды. Негізі Бесқарағай орманының ластануына оның бұрынғы Семей ядролық сынақ полигонына жақын орналасуы және Өскемен өңірінің түсті металлургия орталығы болуымен себептеледі. Тағы өз үлесін Семей және Өскемен цемент зауыттары да қосатыны белгілі.

Барлық аумақтардан алынған топырақ үлгілерінің ЭБК мәндері 0,03 төмен болып тұрған элементтер кобальт пен қорғасын. Қалған

элементтердің ЭБК > 0,03. Ол жағдай бұл металдардың биогеохимиялық айналымындағы алатын орны Бесқарағай орман экожүйесіндегі өнімділік үдерісі үшін өте маңызды екенін көрсетеді.

Пирсонның корреляциялық коэффициенті қарағай жапырақтарындағы ауыр металдар мөлшері олардың топырақтағы белсенді түрлерімен тығыз байланыста екендігін көрсетті (r_{xy} = 1).

Табиғи жазықтарда $К_с$ > 1 элементтерге марганец, никель, қорғасын жатады; автокөлік жолының бойында $К_с$ мәні > 1 болып келетін металдар кадмий, хром және қорғасын; ал ыза жолдың бойындағы қарағайлар қылқандарын ластаушы металдар болып келетіндері марганец, никель және мырыш, өйткені осы элементтер үшін ғана $К_с$ > 1.

Ауыр металдардың уыттылығын ескермеген және ескерген жағдайдағы Z_c < 16, сондықтан зерттеліп отырған Бесқарағай орманында ластану деңгейі төмен деп айтуға болады.

Жұмыс ҚР БҒМ 055 Бюджеттік бағдарлама (2018-2020 жж.) шеңберінде «Қазақстанның далалық аймағындағы орман жүйесінің жай – күйіне экологиялық факторлардың әсерін зерттеу» жобасы бойынша орындалады. Мемтіркеу № 0118 РК 00610.

Қысқартулар

ЭБК – элементтер биотикалығының көрсеткіші

$С_ө$ – өсімдіктердің құрғақ массасындағы ауыр металдардың концентрациясы, мг/кг;

$С_т$ – топырақтағы ауыр металдардың жылжымалы түрлерінің концентрациясы, мг/кг.

$К_с$ – концентрациялар коэффициенті;

n – ластаушы заттардың саны.

$К_с$ – мәні келесі өрнек бойынша есептелді:

$С_i$ – химиялық эелементтің мөлшері;

$С_{Ф\ i}$ – элементтердің фондық аумағындағы мөлшері.

$С_{Фi}$ – ретінде антропогендік әсерге аз ұшырраған бархандардар аумағында өскен қарағайлар қылқандарының құрамындағы металдар мөлшерін қабылдадық.

$К_{т\ i}$ – і элементінің уыттылық коэффициенті

Әдебиеттер

1 Ebong, G.A., Etuk, H.S and Johnson, A.S 2007. Heavy metals Accumulation by Talinum Triangulare Grown on Waste Dumpsites in Uyo Metropolis Akwa-Ibom State, Nigeria J. App. Sci., 7(10), 1404-1409.

2 Saedi M and Amini, H.R. 2007. Chemical, Physical, Mineralogical, Morphology and Leaching Characteristics of a Thermal Power Plant Air Heater Washing Waste. Int. J. Environ Res., 1(1), 74-79.

3 Tam, N.F.Y and Wong, Y.S 2000. Spatial variation of heavy metals ins urface sediments of Hong Kong mangrove swamps. Environ. Pollut; 100(2) 195-205.

4 Yuan, C.J Shi, B; He, J; Liu, L; Jiang, Go 2004 Speciation of heavy metals in marine sediments from the East Chino sea by ICP-MS with sequential extraction Environ. Int, 30(6) 769-783.

5 Nwuche, C.O., Ugoji, E.O. 2008. Effects of heavy metal pollution on the soil microbial activity. Int. J. Environ. Sci. Tech., 5(3) 409-414.

6 Aina, M., Matejka G., Mama, D., Yao, B., Moudachirou M. 2009. Chractrization of stabilized waste; Evaluation of pollution risk. Int. J. environ Sci. Tech, 6 (1), 159-165.

7 Mohiuddin, K.M., Zakir, H.M; Otomo, K., Sharmin S, Shikazono, N. 2010. Geochem distribution of trace metal pollutants in water and sediments of downstream of an urban river. Int. J. Environ Sci Tech. 7(1), 17-28.

8 Odoh R; Agbaji, E.B; Kagbu, J.A; Thomas, S.A. 2011. Heavy metal speciation in agricultural farmland in some selected local government areas of Benue state, Nigeria. Archives of Applied Science Research, 3(3), 560-573.

9 Panin M.S. Akkumulyaciya tyazhelyh metallov rasteniyami Semipalatinskogo Priirtysh'ya. – Semipalatinsk: Izd. gos. univer. 1999. — s.308.

10 Sibirkina, A.R. Soderzhanie Cr v peskah sosnovogo bora Semipalatinskogo Priirtysh'ya Respubliki Kazahstan / A.R. Sibirkina // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. – 2012. – № 4; URL: www.science-education.ru/104-6477 (Data publikacii: 19.06.2012).

11 Cibipkina A.P. Biogeoximicheckie ocobennocti nakopleniya tyazhelyx metallov pacteniyami cocnovogo bopa Cemipalatinckogo Ppiiptysh'ya // Voppocy obpazovaniya i nayki v XXI veke: Cbopnik naychnyx tpydov po matepialam Mezhdynapodnoj naychno-ppakticheckoj konfepencii 29 appelya 2013 g.: v 11 chactyax. CHact' 8; Minictepctvo obp. inayki PF. Tambov: Izd-vo TPOO «Biznec –Nayka – Obshchectvo», 2013. – C.118-120.

12 Sibirkina, A.R. Biogeohimicheskie usloviya formirovaniya pochvennogo pokrova sosnovogo bora Semipalatinskogo Priirtysh'ya // Aktual'nye voprosy v nauchnoj rabote i obrazovatel'noj deyatel'nosti: Sbornik nauchnyh trudov po materialam Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii 31 yanvarya 2013 g.: v 13 chastyah; CHast' 13; Ministerstvo obr. i nauki RF. Tambov: Izd-vo TROO «Biznes-Nauka-Obshchestvo», 2013. – S. 127-128.

13 Cibipkina A.P. Ocobennocti codepzhaniya cinka, ctponciya i mapganca v opganax i tkanyax cocny obyknovennoj (Pinussylvestris L.) cocnovogo bopa Cemipalatinckogo Ppiiptysh'ya (Pecpyblika Kazaxctan) // Vectnik IGPI im. P.P. Epshova. – 2014. – №4 (16). – C.97-100.

14 Sibirkina, A.R. Soderzhanie kadmiya v organah sosny obyknovennoj lentochnyh borov Priirtysh'ya Respubliki Kazahstan / A.R. Sibirkina // Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Himiya. Biologiya. Farmaciya. – 2013. – № 2. – S. 130-137.

15 Popova L. F., Nakvacina E. N. Ekologicheckoe obocnovanie nopmipovaniya cinka i medi v pochvax Apxangel'cka // Vectnik TGPU (TSPU Bulletin). – 2015. – 155 c.

16 Evceeva T., YUpaneva I., Xpamova E. Mexanizmy poctypleniya, pacppedeleniya i detokcikacii tyazhelyx metallov y pactenij // Fiziologiya pactenij. – 2003. – T. 133. – C.218-229.

17 Panin M. C. Migpaciya tyazhelyx metallov i pyti poctypleniya ix v pacteniya // Akkymylyaciya tyazhelyx metallov pacteniyami Cemipalatinckogo Ppiiptysh'ya. – 1999. – C.23-30.

18 18. Sibirkina A. R. Biogeohimicheskaya ocenka soderzhaniya tyazhelyh metallov v sosnovyh borah semipalatinskogo Priirtysh'ya. Dissertaciya na soiskanie uch. step. dokt. biol. nauk. Omsk, 2014.– 496s.

19 Saet YU.E. Geohimiya okruzhayushchej sredy / YU. E. Saet, B. A. Revich, E. P. YAnin i dr. M.: Nedra, 1990.335 s.:

20 Vodyanickij YU.N.http://elibrary.ru/item.asp?id=17073847Ob opacnyx tyazhelyx metallax/metalloidax v pochvaxhttp://elibrary.ru/item.asp?id=17073847 // Byulleten' Pochvennogo inctityta im. V.V. Dokychaeva. – 2011.– № 68. – C. 56-82.

21 Primer rascheta koefficienta korrelyacii Pirsona. Elektronnyj resurs.https://statpsy.ru › Korrelyaciya Pirsona

22 Kabata-PendiacA., Pendiac X. Mikpoelementy v pochvax i pacteniyax. – M.: Mip, 1989. – 440c.

23 Messenger A., Stelford M. W. White pine chlorosis in northern Illinois: iron deficiency or not? // Journal of Arboriculture. – 1997. – V. 23(5). – P. 191.

24 Il'in V. B.,Ctepanova M. D. Zashchitnye vozmozhnocti cictemy pochva-pacteniya ppi zagpyaznenii pochv TM // TM v okpyzhayushchej cpede. – M.: MGU, 1986. – C.80-85.

25 Il'in, V.B. Mikroelementy i tyazhelye metally v pochvah i rasteniyah / V.B. Il'in, A.I. Syso. – Novosibirsk: izd-vo SO RAN, 2001. – 229 s.

2-бөлім

БИОТЕХНОЛОГИЯ

Section 2

BIOTECHNOLOGY

Раздел 2

БИОТЕХНОЛОГИЯ

МРНТИ 34.27.51 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b4

Бражникова Е.В.[1], Мукашева Т.Д.[2], Игнатова Л.В.[3]

[1]e-mail: PoLB_4@mail.ru, [2]e-mail: Togzhan.Mukasheva@kaznu.kz,
[3]e-mail: Lyudmila.Ignatova@kaznu.kz
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

СКРИНИНГ ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РОСТА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Одним из актуальных направлений развития интенсивного земледелия является разработка микробных биотехнологий, способствующих экологизации сельскохозяйственного производства. Микроорганизмы способны стимулировать рост и развитие растений с помощью различных прямых и опосредованных механизмов. Интерес к таким микроорганизмам связан с возможностью их применения для повышения урожайности агрокультур, улучшения качества сельскохозяйственной продукции, восстановления плодородия почв и т.д. В настоящей работе изучены биотехнологически ценные свойства 848 штаммов микромицетов (653 изолята мицелиальных грибов и 195 дрожжей), выделенных из агроценозов зерновых, кормовых и масличных культур Казахстана. Выявлены штаммы, способные продуцировать фиотгормоны ауксины и гидролитические ферменты, обладающие способностью к фосфат-мобилизации, проявляющие целлюлозолитическую и антагонистическую активности, а также устойчивость к тяжелым металлам. В результате проведенного скрининга отобрано 44 штамма, продемонстрировавших наибольшую активность и обладающих сразу несколькими ценными свойствами. Предпосевная обработка семян данными штаммами (в 35 случаях из 44) привела к стимулирующему эффекту, выражающемуся в повышении всхожести семян и увеличении морфометрических параметров 14-дневных проростков ячменя. В результате было отобрано 35 штаммов для дальнейшего детального исследования их свойств и возможности применения для стимуляции роста сельскохозяйственных культур.

Ключевые слова: микромицеты, ростстимулирующая активность, фитогормоны, фосфат-мобилизация, антагонизм.

Brazhnikova Y.V.[1], Mukasheva T.D.[2], Ignatova L.V.[3]

[1]e-mail: PoLB_4@mail.ru , [2]e-mail: Togzhan.Mukasheva@kaznu.kz,
[3]e-mail: Lyudmila.Ignatova@kaznu.kz
al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

Screening of micromycete strains that are promising for crop growth promotion

One of the current trends in the development of sustainable agriculture is the microbial biotechnology, contributing to the greening of agricultural production. Microorganisms are able to promote the growth and development of plants through various direct and indirect mechanisms. The interest in such microorganisms is associated with the possibility of using them to increase the yield of agricultural crops, improve the quality of agricultural products, restore soil fertility, etc. In the present study we examined the biotechnologically valuable properties of 848 micromycete strains (653 filamentous fungi and 195 yeasts) isolated from the agrocenoses of grain, forage and oilseeds of Kazakhstan. The strains capable of producing phyothhormones auxins and hydrolytic enzymes, the isolates with phosphate-mobilizing ability, cellulolytic and antagonistic activities, as well as tolerant to heavy metals, were identified. As a result of the screening, 44 strains that demonstrated the highest activity and possess several valuable properties were selected. Seed pre-treatment with these strains (in 35 cases out of 45) led to the promoting effect expressed in enhancing seed germination and increasing morphometric parameters of 14-day-old barley seedlings. As a result, 35 strains were selected for further detailed study of their properties and the possibility of application them for crop growth promotion.

Key words: micromycetes, plant growth promoting activity, phyothhormones, phosphate-mobilization, antagonism.

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Бражникова Е.В.[1], Мукашева Т.Д.[2], Игнатова Л.В.[3]
[1]e-mail: PoLB_4@mail.ru, [2]e-mail: Togzhan.Mukasheva@kaznu.kz,
[3]e-mail: Lyudmila.Ignatova@kaznu.kz
әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

Ауыл шаруашылығы дақылдарының өсуін ынталандыру үшін перспективалы микромицеттер штаммдарына скрининг жүргізу

Қарқынды егін шаруашылығын дамытудың өзекті бағыттарының бірі ауыл шаруашылық өндірісін экологияландыруға ықпал ететін микробтық биотехнологияларды әзірлеу болып табылады. Микроорганизмдер өсімдіктердің өсуі мен дамуын әртүрлі тікелей және жанама тетіктердің көмегімен ынталандыруға қабілетті. Мұндай микроорганизмдерге деген қызығушылық оларды агрокультураның өнімділігін арттыру, ауыл шаруашылығы өнімдерінің сапасын жақсарту, топырақтың құнарлылығын және т. б. қалпына келтіру үшін қолдану мүмкіндігімен байланысты. Осы жұмыста Қазақстанның дәнді, жем-шөп және майлы дақылдарының агроценоздарынан бөлінген 848 микромицет штаммдарының (653 мицелиалды саңырауқұлақтардың және 195 ашытқылардың изоляттары) биотехнологиялық құнды қасиеттері зерттелінді. Бөлініп алынған штаммдар ауксин фитогормондары мен гидролитикалық ферменттер өндіруге, фосфат-мобилизациялауға қабілетті, сондай-ақ целлюлолитикалық және антагонистік белсенділіктері мен ауыр металдарға төзімді екенін көрсетті. Жүргізілген скринингтің нәтижесінде аса жоғары белсенділікті көрсеткен және бірнеше құнды қасиеттерге ие болған 44 штамм іріктелініп алынды. Осы штаммдармен тұқымдарды себу алдында өңдеу (45-тен 35 жағдайда) тұқымдардың өнгіштігін арттыруда және 14 күндік арпа өскіндерінің морфометриялық параметрлері артуда. Нәтижесінде ауыл шаруашылығы дақылдарының өсуін ынталандыру үшін олардың қасиеттері мен қолдану мүмкіндіктерін әрі қарай егжей-тегжейлі зерттеу үшін 35 штамм алынды.

Түйін сөздер: микромицеттер, өсуді ынталандыратын белсенділік, фитогормондар, фосфат-мобилизация, антагонизм.

Введение

Всё большее внимание исследователей в последнее время привлекает способность ряда микроорганизмов стимулировать рост растений. Интерес к таким микроорганизмам связан главным образом с возможностью их применения для решения одновременно несколько задач: повышение урожайности агрокультур, улучшение качества сельскохозяйственной продукции, защита растений от болезней и вредителей и т.д.. Применение таких микроорганизмов представляется привлекательной альтернативой химическим удобрениям, позволяющей уменьшить загрязнение окружающей среды [1-4].

Вступая в сложные ассоциативные и симбиотические взаимоотношения с растениями, данные микроорганизмы способны обеспечить целый ряд положительных эффектов, основными из которых являются:

– выработка фитогормонов, которые способствуют ускорению роста корневой системы, а также регулируют развитие растений [7,8];

– повышение доступности для растений элементов питания (в том числе, доступности воды) и увеличение коэффициента использования питательных веществ из удобрений и почвы [9-13];

– повышение устойчивости растений к неблагоприятным условиям внешней среды (недостаток влаги, высокие температуры, загрязнение почв и др.) [14-16];

– ограничение (биоконтроль) роста фитопатогенной микрофлоры с помощью таких механизмов, как выделение антибиотических соединений, растворение гиф патогенных грибов с помощью гидролитических ферментов, конкуренция за места заселения на корнях, перехват питательных веществ и др. [17-19];

– подавление у растений стрессовых реакций и индукция системного иммунитета [20, 21].

Использование биопрепаратов на основе микроорганизмов как для стимуляции роста растений, так и для защиты растений от неблагоприятных факторов является одним из приоритетных направлений в биотехнологии и защите окружающей среды [1-4]. В настоящее время исследования направлены на получение многокомпонентных биопрепаратов широкого спектра действия. Их сущность заключается в селекции микроорганизмов, обладающих комплексом положительных свойств; выяснении механизмов положительного действия; изучении их колонизирующей и конкурентной способности, влияния на резидентную микрофлору ризосферы и ризопланы растений; оценке технологичности и эффективности.

Целью настоящего исследования явился скрининг штаммов и отбор наиболее активных

изолятов, обладающих биотехнологически ценными свойствами, для дальнейшего их применения для стимуляции роста сельскохозяйственных культур.

Материалы и методы

Материалом исследования служили 848 штаммов микромицетов (653 изолята мицелиальных грибов и 195 дрожжей), выделенных из агроценозов зерновых, кормовых и масличных культур Казахстана.

Для определения способности микромицетов продуцировать фитогормоны ауксины штаммы культивирровали в жидкой питательной среде Сабуро с L-Trp (в концентрации 1000 мг/л) в качестве предшественника. Наличие ауксинов в культуральной жидкости выявляли с помощью высокоспецифичной качественной реакции Сальковского на индольные вещества. К 1мл супернатанта (фильтрата) добавляли 1мл реагента Сальковского, выдерживали в течение 30 мин и отмечали изменение окраски [22].

Фосфат-мобилизующую активность выявляли по способности штаммов расти на плотной питательной среде Пиковской, содержащей труднорастворимые фосфаты кальция в виде $Ca_3(PO_4)_2$ и формировать зоны гало (зоны просветления) вокруг колоний. Способность к фосфат-мобилизации оценивали путем определения индекса солюбилизации (ИС), который вычисляли по отношению диаметра зоны просветления к диаметру колонии [23].

Для определения целлюлозолитической активности микромицетов использовали экспресс-метод, основанный на формировании комплексов полисахарида с хромогенным красителем. Производили посев культур на поверхность агаризованной среды с добавлением натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) в качестве единственного источника углерода. Способность штаммов к гидролизу целлюлозы оценивали по наличию и величине зоны просветления вокруг колоний после прокрашивания чашек 0,1% красителем конго красным [24].

Свойство микромицетов аккумулировать тяжелые металлы определяли по способности штаммов расти на плотной питательной среде Сабуро с добавлением тяжелых металлов (цинк, кадмий, свинец) в концентрации 1 мМ. Устойчивость к тяжелым металлам оценивали путем вычисления индекса толерантности (ИТ) по соотношению диаметра колонии в опыте и контроле [25].

Антагонистическая активность штаммов была исследована методом агаровых блоков в отношении фитопатогенных грибов *Fusarium solani, Phytophtora infestans* и *Alternaria alternata*. Способность к антагонизму оценивали путем измерения зоны подавления роста фитопатогенов [26].

Для изучения протеазной активности использовали среду «молочный агар» следующего состава: 500 мл обезжиренного молока, 500 мл воды, 20 г агара. Штаммы изучаемых микромицетов засевали уколом на поверхность среды. Продолжительность культивирования составляла 7 сут. Гидролиз казеина обнаруживали по зоне просветления среды вокруг выросшей культуры микроорганизма [27].

Для изучения амилазной активности использовали среду с крахмалом следующего состава (г/л): пептон 10,0; KH_2PO_4 5,0; крахмал 2,0; агар 15,0. Штаммы изучаемых микромицетов засевали уколом на поверхность среды, посевы инкубировали 7 сут. Для проявления зон растворения крахмала чашки после инкубации заливали 10 мл раствора Люголя. Среда, содержащая крахмал, окрашивалась в синий цвет. При наличии амилазной активности у штаммов зоны вокруг колоний окрашивались либо в красно-бурый цвет – гидролиз дошел до стадии декстринов, либо оставались бесцветными – гидролиз прошел до стадии образования сахара. Зону гидролиза крахмала измеряли в мм от края колонии до границы светлой зоны [28].

Для изучения липазной активности использовали среду следующего состава (г/л): пептон 10,0; $(NH_4)_2HPO_4$ 0,5; $MgSO_4$ 0,5; $FeSO_4$ 0,1; KH_2PO_4 1,0; Бромтимоловый синий 0,05% 10,0; агар 15,0. Среду разливали по чашкам Петри, после застывания на поверхность среды наносили 100 мкл стерильного подсолнечного масла и равномерно распределяли шпателем. Штаммы исследуемых микромицетов засевали уколом на поверхность среды, посевы инкубировали 7 сут. По изменению окраски индикатора от синего до желтого, свидетельствующей о гидролизе жиров с образованием жирных кислот, судили о наличии липазной активности у штаммов [28].

Для изучения влияния штаммов мицелиальных грибов и дрожжей на рост растений проводили модельные эксперименты в лабораторных условиях на растениях ярового ячменя (*Hordeum vulgare*) сорта *Байшешек*. Штаммы выращивали в жидкой питательной среде Сабуро при 25°С в течение 7 сут, после чего отделяли биомассу путем фильтрования (для грибов) или центрифуги-

рования (для дрожжей). Полученный фильтрат (супернатант) использовали для предпосевной обработки семян путем их замачивания на 6 ч. В качестве контроля использовали семена, замоченные в водопроводной воде. Семена проращивали в сосудах с почвой в течение 14 суток, после чего оценивали влияние штамма, учитывая всхожесть семян, длину и биомассу стеблей и корней двухнедельных проростков.

Результаты исследований и обсуждение

Одним из важнейших свойств микроорганизмов, стимулирующих рост и развитие растений является продуцирование ими фитогормонов таких, как: ауксины, гиббереллины и цитокинины [7,8]. Многие микроорганизмы выделяют ауксины в ризосферную зону растений, способствуя увеличению площади поверхности корня и количества корневых волосков, а также индуцируя рост растений путем растяжения клеток [29]. Результаты исследований по определению ауксин-синтезирующей способности у 848 штаммов микромицетов в качественной реакции Сальковского с разделением по интенсивности окрашивания культуральной жидкости демонстрируют неоднородность распределения этого признака среди исследуемых культур. Наибольшее количество ауксин-положительных штаммов обнаружено среди дрожжевых изолятов (39,5% от общего числа дрожжевых культур). Мицелиальные грибы в значительно меньшей степени проявили способность продуцировать данный фитогормон (6,7% от общего числа грибных штаммов). Соответствующие данные представлены на рисунке 1.

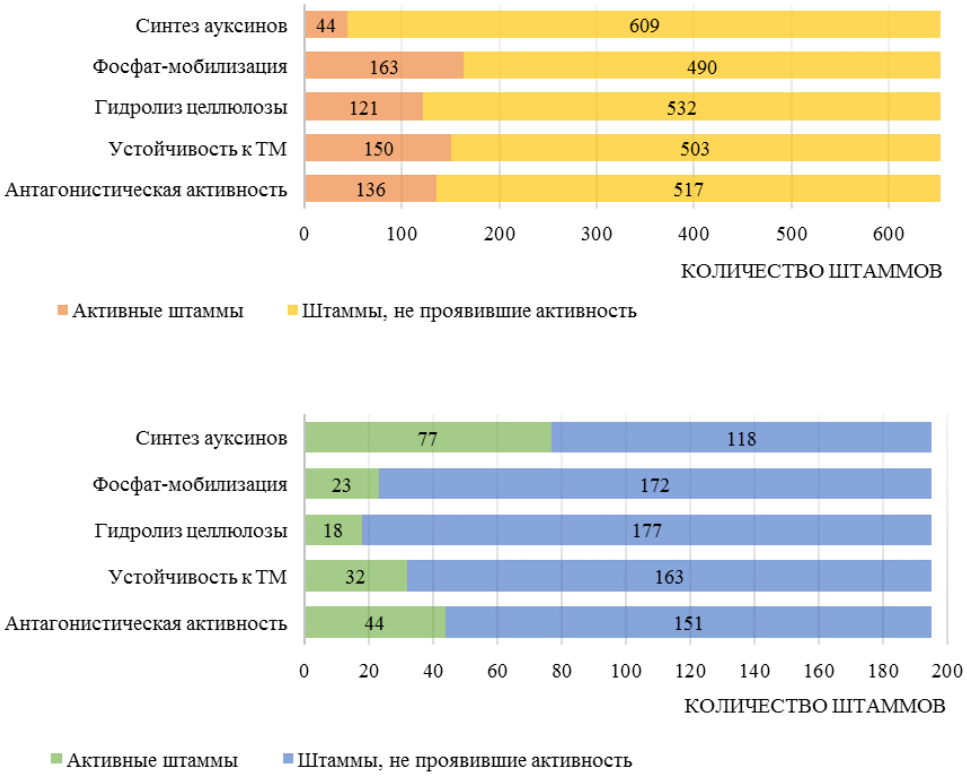
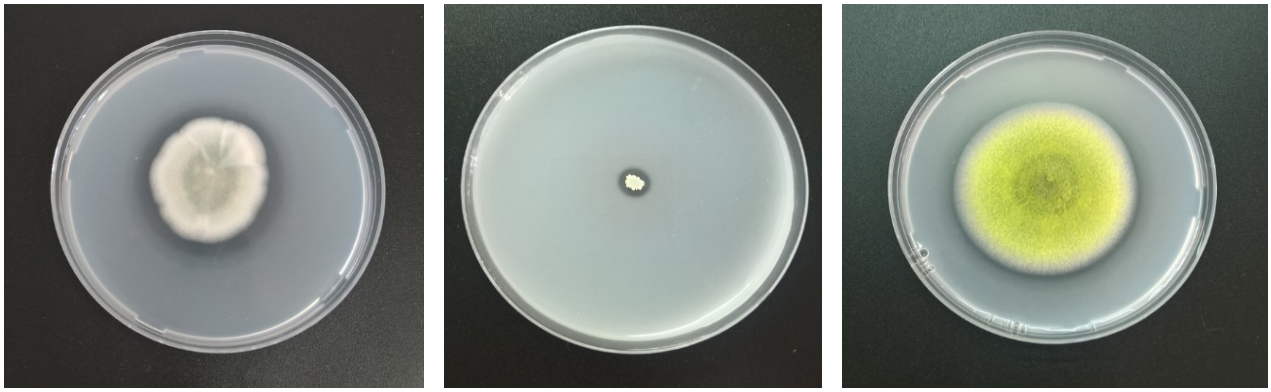


Рисунок 1 – Количество штаммов микромицетов с биотехнологически ценными свойствами. А – мицелиальные грибы, Б – дрожжи

Микроорганизмы могут стимулировать рост и развитие растений за счет повышения доступности элементов питания [9, 10]. Поскольку биодоступность содержащегося в почве фосфора весьма ограничена ввиду нахождения его в труднорастворимых формах, для улучшения фосфорного питания растений применяются микроорганизмы, способные мобилизовать и

переводить нерастворимые соединения фосфора почвы в доступную для растений форму [11-13]. При росте культур микромицетов на плотной питательной среде Пиковской, содержащей труднорастворимый фосфат в виде $Ca_3(PO_4)_2$, наблюдалось формирование зон просветления вокруг колоний на изначально мутной среде, что свидетельствовало о наличии фосфат-мобилизующей активности у штаммов (рисунок 2). Из 653 исследованных грибных изолятов данная активность была характерна для 24,9 % (рисунок 1). Дрожжи в меньшей степени продемонстрировали способность к мобилизации труднорастворимых фосфатов. Индекс солюбилизации варьировали в диапазоне от 1,05 до 1,54 в зависимости от штамма.



Aspergillus sp. T17 *Cryptococcus sp.* K3 *Penicillium sp.* AC 14

Рисунок 2 – Гало зоны вокруг колоний штаммов, обладающих фосфат-мобилизующей активностью

Одним из опосредованных механизмов стимуляции роста и развития растений с помощью микроорганизмов является их влияние на почвенное плодородие, которое в значительной мере зависит от запасов органических соединений и процессов их разложения. Целлюлоза составляет до 60% сухой массы органического вещества, в следствие этого микроорганизмам, обладающим целлюлозолитической активностью, принадлежит важная роль в формировании главного свойства почвы плодородия [30, 31]. При проведении скрининга на наличие целлюлозолитической активности 139 культур из 848 изученных продемонстрировали способность к деградации целлюлозосодержащего субстрата при культивировании на среде с Na-КМЦ в качестве единственного источника углерода (рисунок 1). Целлюлозолитическая активность в большей степени была характерна для штаммов мицелиальных грибов, размер гало зон у которых достигал 23,3 мм, в то время как у дрожжей данный показатель не превышал 7,3 мм.

К комплексу положительных эффектов, оказываемых PGPF на растения, принадлежит их способность защищать растения от неблагоприятных биотических и абиотических факторов окружающей среды [1,2, 14-16].

Тяжелые металлы (ТМ) являются сильным абиотическим стресс-фактором для растений, приводят к задержке их роста и развития, а в определенных случаях и к гибели. Многие микроорганизмы, проявляющие устойчивость к ТМ, участвуют в процессах их трансформации, биосорбиции и биоаккумуляции [16, 32]. При культивировании штаммов микромицетов на плотных питательных средах с добавлением тяжелых металлов (цинк, кадмий, свинец) в концентрации 1 мМ выявлено, что 23% мицелиальных грибов и 16,4% дрожжевых культур обладают устойчивостью к исследуемым металлам (рисунок 1). Индекс толерантности варьировал в диапазоне от 0,27 до 1,12. Ряд изолятов продемонстрировал устойчивость одновременно к нескольким тяжелым металлам (рисунок 3).

Среди неблагоприятных факторов биотической природы ключевое значение имеет фитопатогенная микрофлора. Уровень развития фитопатогенных грибов в почве и на семенном материале в последнее время достиг критического значения. Уровень потерь урожая вследствие поражения сельскохозяйственных растений фитопатогенными микроорганизмами постоянно растет [17, 33]. В связи с этим следующим критерием скрининга стала способность штам-

мов подавлять рост и развитие фитопатогенной микрофлоры. Исследование антагонистической активности у 848 изолятов микромицетов по отношению к *Fusarium solani, Phytophtora infestans* и *Alternaria alternata* позволило установить, что доля штаммов, способных подавлять развитие фитопатогенных грибов, довольно высока и составляет около 21,2% от общего числа микромицетов (рисунок 1). Кроме того, установлено, что 11,5% всех выделенных штаммов в той или иной степени подавляли развитие сразу нескольких фитопатогенов. Зона подавления роста варьировала в диапазоне от 3,1±0,1 до 22,4±0,7 мм в зависимости от штамма.

Контроль Zn^{2+} Cd^{2+} Pb^{2+}

Рисунок 3 – Рост штамма Beauveria sp. T7 на средах с добавлением тяжелых металлов в концентрации 1 мМ

Одним из механизмов, обеспечивающим биоконтроль фитопатогенной микрофлоры штаммами микромицетов, является синтез гидролитических ферментов, таких как протеазы, амилазы, липазы, хитиназы и др., которые могут лизировать клетки грибных фитопатогенов [17-19]. При проведении скрининга на способность микромицетов к синтезу гидролитических ферментов наличие протеаз выявлено у 16,9% исследуемых штаммов, амилаз – 24,4%, липаз – у 13,4% культур (таблица 1). Следует отметить, что некоторые штаммы характеризовались комплексной активностью – продуцировали сразу несколько ферментов, в то время как ряд изолятов имел четко выраженную способность к синтезу только определенного фермента.

Таблица 1 – Штаммы, обладающие способностью синтезировать гидролитические ферменты

	Общее количество штаммов	Количество штаммов, продуцирующих гидролитические ферменты		
		Протеаза	Амилаза	Липаза
Мицелиальные грибы	653	129	177	97
Дрожжи	195	14	31	17
Всего	848	143	207	114

В результате проведенного скрининга из 848 изолятов почвенных и эндофитных микромицетов было отобрано 44 штамма, проявивших наибольшую активность и обладающих сразу несколькими биотехнологически ценными свойствами. Данные штаммы были использованы для проведения модельных экспериментов по изучению их влияния на рост растений.

В ряде случаев предпосевная обработка семян фильтратами отобранных грибных культур и супернатантами дрожжей не привела к стимулирующему эффекту: длина и масса проростков не превышала данные показатели в контрольном варианте с водой. Однако у 35 штаммов была выявлена ростстимулирующая способность, о чем свидетельствовали достоверные отличия по сравнению с контролем по таким морфометрическим показателям как длина и сырая масса стебля и корня. Отмечено увеличение данных параметров в 1,2 -1,5 раза в зависимости

от штамма. Количество проросших семян в вариантах с обработкой штаммами достигало 99%, в то время как в контроле данный показатель составил 95%. Следует отметить, что в некоторых случаях прорастание семян начиналось раньше по сравнению с контрольным вариантом.

Заключение

В настоящей работе были изучены биотехнологически ценные свойства 848 штаммов микромицетов (653 изолята мицелиальных грибов и 195 дрожжей), выделенных из агроценозов зерновых, кормовых и масличных культур Казахстана. Выявлены штаммы, способные продуцировать фитогормоны ауксины и гидролитические ферменты (амилазы, протеазы, липазы), обладающие способностью к фосфат-мобилизации, проявляющие целлюлозолитическую и антагонистическую активности, а также устойчивость к тяжелым металлам (цинк, кадмий, свинец). В результате проведенного скрининга было отобрано 44 штамма, продемонстрировавших наибольшую активность и обладающих сразу несколькими ценными свойствами. Предпосевная обработка семян данными штаммами (в 35 случаях из 44) привела к стимулирующему эффекту, выражающемуся в повышении всхожести и увеличении морфометрических параметров 14-дневных проростков ячменя. В результате было отобрано 35 штаммов для дальнейшего детального исследования их свойств и возможности применения для стимуляции роста сельскохозяйственных культур.

References

1 Pérez-Montaño F., Alías-Villegas C., Bellogín R.A., del Cerro P., Espuny M.R. (2014) Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. Microbiol Res., vol.169 (5-6), pp. 325-36.

2 Dixon G.R., Tilston E.L. Soil microbiology and sustainable crop production. Netherlands: Springer; 2010.

3 Kim Y.C., Leveau J., McSpadden Gardener B.B., Pierson E.A. (2011) The multifactorial basis for plant health promotion by plant-associated bacteria. Appl Environ Microbiol., vol. 77(5), pp. 1548–55.

4 Vessey J.K. (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil, vol. 255, pp.571–86.

5 Martínez-Viveros O., Jorquera M.A., Crowley D.E., Gajardo G., Mora M.L. (2010) Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. J. Soil Sci Plant Nutr., vol. 10(3), pp. 293–319.

6 Vessey J.K. (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil, vol. 255, pp. 571–86.

7 Spaepen S. (2015) Plant Hormones Produced by Microbes. In: Lugtenberg B. (eds) Principles of Plant-Microbe Interactions. Springer, Cham

8 Shi T.Q., Peng H., Zeng S.Y., Ji R.Y., Shi K., Huang H., Ji X.J. (2017) Microbial production of plant hormones: Opportunities and challenges. Bioengineered., vol. 8(2), pp. 124–128

9 Adesemoye A., Torbert H., Kloepper, J. (2008). Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. Can. J. Microbiol., vol. 54, pp. 876–86.

10 Richardson A.E., Barea J.M., McNeill A.M., Prigent-Combaret C. (2009) Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. Plant Soil, vol. 321, pp. 305–339.

11 Budania K., Yadav J. (2014) Effects of PGPR blended biochar and different levels of phosphorus on yield and nutrient uptake by chickpea. Ann. Agric. Bio Res., vol. 19, pp. 408–412.

12 Satyavir S.S., Phour M., Choudhary S.R.,Chaudhary D. (2014) Phosphorus cycling prospects of using rhizosphere microorganisms for improving phosphorus nutrition of plants. Geomicrobiol. Biogeochem., vol. 39, pp.199-237

13 Johri A.K., Oelmüller R., Dua M., Yadav V., Kumar M., Tuteja, N., et.al. (2015) Fungal association and utilization of phosphate by plants: success, limitations, and future prospects. Frontiers in microbiology, vol. 6, pp. 984.

14 Meena K.K., Sorty A.M., Bitla U.M., Choudhary K., Gupta P., Pareek, A. et.al. (2017) Abiotic Stress Responses and Microbe-Mediated Mitigation in Plants: The Omics Strategies. Frontiers in plant science, vol. 8, pp. 172.

15 Enebe M.C., Babalola O.O. (2019) The impact of microbes in the orchestration of plants' resistance to biotic stress: a disease management approach. Appl Microbiol Biotechnol., vol. 103, pp. 9.

16 Rajkumar M, Sandhya S, Prasad M.NV, Freitas H. (2012) Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. Biotechnol Adv, vol. 30, pp.1562–1574

17 Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C. (2005) Use of plant growth-promoting bacteriafor biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and futureprospects. Appl Environ Microbiol., vol. 71(9), pp. 4951–9.

18 Narayanasamy P. (2013) Mechanisms of Action of Fungal Biological Control Agents. In: Biological Management of Diseases of Crops. Progress in Biological Control, vol 15. Springer, Dordrecht

19 Whipps J.M. (2001) Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. J Exp Bot., vol.52, pp.487- 511.

20 Choudhary D.K., Prakash A., Johri, B.N. (2008). Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. Indian journal of microbiology, vol. 47(4), pp. 289–297.

21 Pieterse C.M., Zamioudis C., Berendsen R.L., Weller D.M., Van Wees S.C., Bakker P.A. (2014) Induced systemic resistance by beneficial microbes. Annu Rev Phytopathol., vol. 52, pp. 347-75.

22 Glickmann E., Dessaux Y. (1995) A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. Applied and environmental microbiology, vol. 61(2), pp. 793–796.

23 Jayadi M., Baharuddin, Ibrahim B. (2013) In vitro selection of rock phosphate solubility by microorganism from Ultisols in South Sulawesi, Indonesia. American Journal of Agriculture and Forestry, vol. 1(4), pp. 68-73

24 Yoon J.H., ParkтJ.E., Suh D.Y., Hong S.B., Ko S.J., Kim S.H. (2007) Comparison of dyes for easy detection of extracellular cellulases in fungi. Mycobiology, vol. 35(1), pp. 21–24

25 Oladipo O.G., Awotoye O.O., Olayinka A., Bezuidenhout C.C., Maboeta M.S. (2018) Heavy metal tolerance traits of filamentous fungi isolated from gold and gemstone mining sites. Braz J Microbiol., vol. 49(1), pp. 29-37.

26 Collins C., Grange J., Lyne P. Microbiological Methods. – 8th Edition. – London:Hodder Arnold, 2004. – 480 p.

27 Ariffin Z.Z., Ahmad M.S., Pepi R., Noor Z.M. (2016) Proteolytic fungi from virgin forest. Jurnal Teknologi, vol. 78(6-7), pp. 37-41

28 Saryono, Piska F, Sari N., Pratiwi N.W., Ardhi A. (2018) Morphological identification and hydrolytic enzyme producing abilities of fungi associated with wilting banana plants (Musa sp.). Res J Chem Environ., pp. 79-86.

29 Spaepen S., Vanderleyden J., Remans R. (2007) Indole-3-acetic acid in microbial andmicroorganism-plant signaling. FEMS Microbiol., vol. 31, pp. 425–48.

30 Schulz S., Brankatschk R., Dumig A., Kogel-Knabner I., Schloter M., Zeyer J. (2013) The role of microorganisms at different stages of ecosystem development for soil formation. Biogeosciences, vol.10, pp. 3983–9

31 Khalid M., Yang W.J., Kishwar N., Rajput Z. I., Arijo, A. G. (2006). Study of cellulolytic soil fungi and two nova species and new medium. Journal of Zhejiang University. Science. B, vol. 7(6), pp. 459–466.

32 Gadd, G.M. (1992) Metals and microorganisms: A problem of definition. FEMS Microbiol Lett., vol.100 (1-3), pp. 197-204.

33 Savary S., Ficke A., Aubertot J., Hollier C. (2012). Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. Food Security, vol. 4(4), pp. 519-537.

МРНТИ 62.33.29 68.35.53 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b5

Кабылбекова Б.Ж.[1*], Чуканова Н.И.[2], Турдиев Т.Т.[3], Рымханова Н.[4], Ковальчук И.Ю.[5]

[1*]научный сотрудник, e-mail: kabylbekova.balnur@gmail.com
[2]инженер, e-mail: chukanova_n_i@mail.ru
[3]кандидат биологических наук, e-mail: turdievtt@mail.ru
[4]магистр, младший научный сотрудник, e-mail: nazka_0993@mail.ru
[5]кандидат сельскохозяйственных наук, e-mail: kovalchuk_i_u@mail.ru
[1,2,5] Казахский НИИ плодоовощеводства, Казахстан, г. Алматы
[3,4,5] Институт биологии и биотехнологии растений, Казахстан, г. Алматы

ОПТИМИЗАЦИЯ КЛОНИРОАВНИЯ *IN VITRO* РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ ЯБЛОНИ

На каждом этапе клонального микроразмножения растений появляются трудности, такие как неудачная стерилизация, слабое размножение, аномальное развитие микрорастений, а также фенольное окисление растений в питательной среде. Последствия таких неудач могут привести к некрозу растений, а иногда и гибели. Успешное микроразмножение растений зависит от нескольких внутренних и внешних факторов, включая условия ex vitro и in vitro. Для достижения высокого коэффициента размножения растений in vitro важно создавать оптимальные условия на каждом этапе клонального микроразмножения. В статье представлены результаты усовершенствования технологии клонального микроразмножения растений яблони на различных этапах. Проведённые эксперименты показали, что побеги яблони эффективно стерилизовать 0,2% $HgCl_2$ в экспозиции 4 мин. В этом случае количество эксплантов, способных регенерировать составляет у сорта Голден Делишес 76%, у сорта Восход – 85%, у сорта Максат – 75%. Лучшей для изоляции эксплантов является среда МС, содержащая удвоенное количество хелата железа, 1,5 мг/л витамина С, 250 мг/л поливинилпирралидона, 2 мг/л глицина, 0,5 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК (получено 79% регенерирующих побегов яблони). Оптимальная среда для клонального микроразмножения – минеральная основа МС, содержащая 1,0 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мг/л ГК. В культуру in vitro введены и размножены 36 сортов и 9 дикорастущих форм яблони.

Ключевые слова: клональное микроразмножение, in vitro, стерилизация, питательная среда, яблоня.

Kabylbekova B.Zh.[1], Chukanova N.I.[2], Turdiyev T.T.[3], Rymkhanova N.[4], Kovalchuk I.Y.[5]

[1*]Researcher, e-mail: kabylbekova.balnur@gmail.com
[2]Engineer, e-mail: chukanova_n_i@mail.ru
[3]Candidate of Biological Sciences, e-mail: turdievtt@mail.ru
[4]MA, Junior Researcher, e-mail: nazka_0993@mail.ru
[5]Candidate of Agricultural Sciences, e-mail: kovalchuk_i_u@mail.ru
[1,2,5]Qazaq Research Institute of Fruit & Vegetable Growing, Kazakhstan, Almaty
[3,4,5]Institute of Plant Biology and Biotechnology, Kazakhstan, Almaty

Optimization of the cloning in vitro different apple genotypes

At each stage of plant clonal micropropagation appear difficulties, such as a failed sterilization, poor reproduction, abnormal development of microplants and phenolic oxidation plants in a nutrient medium. The consequences of such failures can lead to plant necrosis, and sometimes death. Successful micropropagation of plants depends on several internal and external factors, including ex vitro and in vitro conditions. It is important to create optimal conditions at each stage of micropropagation to achieve a high multiplication coefficient of in vitro plants. The article presents the results of improving the technology of clonal micropropagation of apple plants at different stages. Experiments conducted have shown that apple shoots are effectively sterilized with 0,2% $HgCl_2$ at an exposure of 4 min. In this case, the number of explants capable of regenerating is 76% for variety Golden Delicious, 85% for variety Voskhod, 75% for variety Maksat. The best medium for isolating explants is MS medium containing double amount of iron chelate; vitamin C -1.5 mg/l; polyvinylpyrralidone – 250 mg/l; glycine – 2 mg/l; BAP – 0.5 mg/l; The IMC is 0.1 mg/l, 79% of regenerating apple shoots were obtained with such a

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

composition of the nutrient medium. The optimal medium for micropropagation of apple is the mineral basis of MS with a hormonal composition: 1.0 mg/l BAP, 0.1 mg/l IMC, 0.1 mg/l HA. The multiplication coefficient of the studied cultivars ranged from 4 to 13 depending on the genotype. 36 cultivars and 9 wild forms of apple are introduced into in vitro culture and propagated.

Key words: clonal micropropagation, in vitro, sterilization, nutrient medium, apple.

Кабылбекова Б.Ж.[1*], Чуканова Н.И.[2], Турдиев Т.Т.[3],
Рымханова Н.[4], Ковальчук И.Ю.[5]

[1*]ғылыми қызметкер, e-mail: kabylbekova.balnur@gmail.com
[2]инженер, e-mail: chukanova_n_i@mail.ru0
[3]биология ғылымдарының кандидаты, e-mail: turdievtt@mail.ru
[4]магистр, кіші ғылыми қызметкер, e-mail: nazka_0993@mail.ru
[5]ауыл шаруашылық ғылымдарының кандидаты, e-mail: kovalchuk_i_u@mail.ru
[1,2,5]Қазақ жеміс-көкөніс шаруашылығы институты, Қазақстан, Алматы қ.
[3,4,5]Өсімдік биологиясы және биотехнологиясы институты, Қазақстан, Алматы қ.

Алманың әр түрлі генотиптерін in vitro клондауды оңтайландыру

Өсімдіктерді клонды микрокөбейтудің әр сатысында сәтсіз залалсыздандыру, әлсіз көбею, микроөсімдіктердің аномальды өзгерістері, сонымен қатар өсімдіктердің қоректік ортада фенолдық қышқылдануы тәрізді қиындықтар туады. Осындай сәтсіздіктердің соңы өсімдіктердің қараюына (некроз), ал кей жағдайда жоғалуына әкеп соғады. Өсімдіктерді сәтті микрокөбейту бірнеше ішкі және сыртқы факторларға, сондай-ақ ex vitro және in vitro жағдайына да байланысты болады. In vitro жағдайында өсімдікті көбейтудің жоғары коэффициентіне қол жеткізу үшін клонды микрокөбейтудің әр бір сатысында оңтайлы жағдай жасау маңызды. Мақалада әр түрлі кезеңде алма өсімдіктерін клонды микрокөбейту технологиясын жетілдіру нәтижелері баяндалған. Жүргізілген эксперименттер алманың микроөскін $HgCl_2$ 0,2% 4 минуттық экспозицияда залалсыздандырған тиімді екендігін көрсетті. Бұл жағдайда регенерацияға қабілетті эксплантар саны Голден Делишес сортында – 76%, Восход – 85%, Максат – 75% құрады. Құрамында екі еселенген темір хелаты; С дәрумен -1,5 мг/л; поливинилпирралидон – 250 мг/л; глицин – 2 мг/л; БАП – 0,5 мг/л; ИМҚ – 0,1 мг/л МС қоректік ортасы эксплантарды қоректік ортағы оқшаулауға ең абзалы (регенерацияға қабілетті 79% алма өскін алынды). Клонды микрокөбейтуге оңтайлы қоректік орта – МС минералдық ортасы, құрамында: 1,0 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМҚ, 0,1 мг/л ГҚ. In vitro ортасына алманың 36 сорты және 9 жабайы формалары енгізілді және көбейтілді.

Түйін сөздер: клонды микрокөбейту, in vitro, залалсыздандыру, қоректік орта, алма.

Введение

Яблоня – основная плодовая культура в странах умеренного климата характеризующаяся высокой адаптивностью по сравнению с другими плодовыми культурами, ценными свойствами плодов, доступными в течение практически всего года. В южных и юго-восточных регионах Казахстана сложились исключительно благоприятные условия для выращивания яблони. Однако темпы развития отрасли плодоводства и существующий сегодня сортимент не в полной мере отвечают современным требованиям интенсификации. Доля импорта плодовой продукции составляет около 50%, то есть находится у «красной черты», превышение которой может привести к зависимости страны от импортных поставок. При этом поступающая на отечественный продовольственный рынок импортная продукция не всегда отвечает требованиям качества, срокам хранения и безопасности для здоровья.

В результате проводимой в течение восьми десятилетий селекционной работы на основе обширного генофонда, используемого в качестве исходного материала в Казахском НИИ плодоовощеводства создан ряд новых сортов, характеризующихся высокой конкурентоспособностью. Сорта нового поколения включены в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в Республике Казахстан. Они имеют высокую продуктивность и качество плодов, устойчивы к наиболее распространенным заболеваниям, и характеризуются высоким адаптивным потенциалом. Однако внедрение новых отечественных и интродуцированных сортов и подвоев в практическое садоводство затруднено медленными темпами размножения посадочного материала. Для ускорения этого процесса целесообразно включить в технологию производства биотехнологические методы, в частности клональное микроразмножение, что даст возможность бы-

стро размножить генотипы и протестировать их на отсутствие или присутствие патогенов.

Для клонального микроразмножения часто используют базовые питательные среды: Мурасиге и Скуга (1962), Lepoivre (Quoirin и Lepoivre 1977), Driver-Kuniyuki Walnut (Driver и Kuniyuki 1984) и Woody Plant Medium (Lloyd и McCown 1980). В литературе имеется достаточно много сведений об изучении различных этапов клонального микроразмножения. История культуры тканей яблони относится к концу 1960-х началу 1970-х годов [1-3]. В последующие десятилетия ряд ученых определили методику, подходящую для микроклонального размножения яблони, которая и стала началом активного применения культуры *in vitro* [4-9]. Позже микроразмножение яблони сыграло важную роль в производстве оздоровленного посадочного материала сортов и подвоев. Однако опубликованные исследования по клональному микроразмножению отдельных сортов, не всегда могут быть использованы для других генотипов, поскольку проявляется сортоспецифичность и требуемые факторы культивирования могут значительно отличаться у каждого конкретного генотипа.

Практические работы по клональному микроразмножению казахстанских сортов, особенно по введению в асептическую культуру небыли успешны. В связи с этим возникла необходимость подбора условий стерилизации эксплантов и оптимизации питательных сред для изоляции и клонирования *in vitro*.

Представленные исследования направлены на усовершенствование регламента клонального микроразмножения для внедрения ускоренного массового размножения казахстанских сортов в практику питомниководства.

Материалы и методы исследования

Растительный материал – побеги сортов яблони казахстанской и зарубежной селекции, а также отобранные формы дикорастущей яблони *Malus sieversii* (Ledeb.) M.Roem., собранные в коллекционных насаждениях Помологического сада Казахского НИИ плодоовощеводства.

Оптимизация условий клонирования заключалась в подборе эффективных стерилизующих препаратов при введении апексов *in vitro* и гормонального состава питательных сред, регулирующих регенерационные механизмы эксплантатов, изолированных на искусственные питательные среды, пролиферацию и размножение в асептической культуре.

Вычленение апексов и пересадку проводили в ламинарных боксах предварительно стерилизованных кварцевой или бактерицидной лампами. Апексы стерилизовали от сапрофитной микрофлоры, которая препятствует развитию эксплантата на среде и высаживали на питательную среду. Через некоторое время образовавшиеся розетки или микропобеги пересаживали на среду для пролиферации и размножения. Микроклональное размножение проводили в термостатируемых комнатах с освещённостью 40 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$, 16-ти часовым фотопериодом, температурой +23-25°С. Питательные среды разливали в культуральные сосуды (Magenta GA7) по 40 мл и автоклавировали при давлении 1 атм. 30 мин. Повторность опытов 5-10-ти кратная.

Введение в культуру *in vitro* проводили в два периода: первый – искусственно инициировали рост побегов из спящих почек в период покоя (январь-февраль), второй – в период активного роста (май-июнь). Инициацию проращивания почек проводили в лабораторных условиях в сосудах с раствором 1/2 макро- и микроэлементов по Мурасиге и Скугу (МС). Отросшие побеги или верхушки активно растущих побегов (не менее 10 каждого генотипа) изолировали, отмывали в мыльном растворе, ополаскивали в дистиллированной воде. Затем погружали в стерилизующий препарат с различной концентрацией и экспозицией. После чего промывали 3 раза в стерильной воде и высаживали на питательную среду МС с соответствующими добавками. Экспланты пересаживали на свежие среды ежедневно.

Тест на скрытое инфицирование сапрофитной и патогенной микрофлорой проводили в чашках Петри на провокационной среде VISS, которая содержит 10 г/л сахарозы, 8 г/л гидролизата казеина, 4 г/л дрожжевого экстракта, 2 г/л KH_2PO_4, 15 г/л $MgSO_4\ 7H_2O$, 6 г/л джелрайта [10]. Для проверки инфицированности эксплантa у побега срезали базальную часть и инкубировали на среде в течение 1-3 недель, за это время выявляется большинство внутренних системных инфекций. Наблюдения за растениями, введёнными *in vitro*, проводили еженедельно, при этом учитывали число живых, погибших и инфицированных эксплантов.

Оптимизировали гормональный состав для клонирования *in vitro* растений яблони. На основе среды МС испытывали регуляторы роста 6-бензиламинопурин (БАП), индолилмасляную кислоту (ИМК) и гиббереллoвую кислоту (ГК) в различных концентрациях. Пересадку на свежие питательные среды, наблюдения и учёт прово-

дили ежемесячно, отмечали состояние и число образовавшихся побегов, рассчитывали коэффициент размножения средний за 1 пассаж для каждого генотипа по формуле: $К_р$ = а/10б·в; (а – количество вновь образовавшихся побегов; б – количество побегов, высаженных для размножения; в – количество пассажей).

Результаты исследования и их обсуждение

Объекты исследований

Исследования проведены на сортах яблони отечественной и зарубежной селекции, а также на формах дикорастущей яблони *M. Sieversii*.

Введение in vitro

Изоляция побегов и введение в асептические условия является ответственным этапом клонального микроразмножения растений. Произрастая в полевых условиях растения накапливают огромное количество сапрофитной и патогенной микрофлоры, которая при попадании на искусственные питательные среды активно размножается и препятствует развитию растений в условиях *in vitro.* В местах произрастания растений складывается индивидуальный биоценоз микрофлоры свойственный конкретному месту произрастания, который зависит от вида, культуры и генотипа растения, заражённости объекта болезнями, погодных условий, а также экологической ситуации, складывающейся из многих факторов. Поэтому подбор оптимальных способов и стерилизующих препаратов для получения асептических растений является необходимым этапом в разработке регламента клонального микроразмножения. Как правило, стандартная процедура, применяемая для стерилизации растительного материала плодовых культур при введении их *in vitro*, включает использование растворов ртутьсодержащих веществ – сулемы и диацида или хлорсодержащие препараты, в основном применяемые в быту в качестве отбеливателей. Однако концентрация и время обработки рознятся в зависимости от объекта введения в асептическую культуру.

Проведено изучение эффективности использования различных стерилизующих веществ для подавления роста сапрофитной и патогенной микрофлоры при введении в асептическую культуру апексов побегов. Эксплантыизолировали, стерилизовали и высаживали на искусственные питательные среды. Для выявления эффективных стерилизующих препаратов испытывали в различных концентрациях и экспозициях $HgCl_2$, отбеливатель, содержащий гипохлорит натрия – «Domestos» и 3% перекись водорода (H_2O_2). Эксперименты проводили с терминальными побегами сортов яблони: Голден Делишес, Восход и Максат. Результаты стерилизации сегментов побегов от заражения микрофлорой приведены на рисунке 1 (рисунок 1).

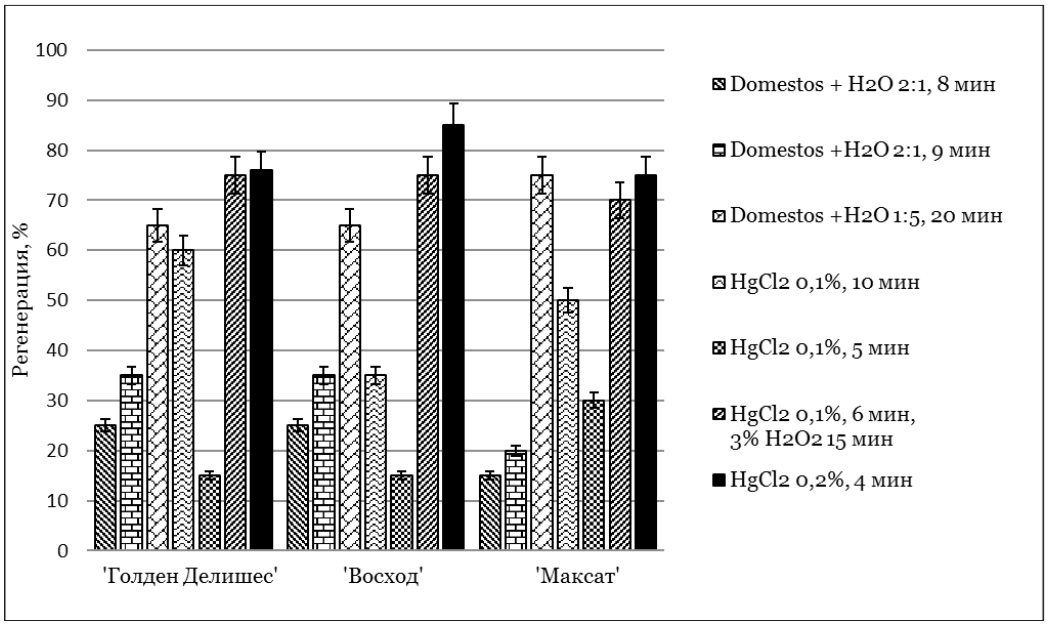


Рисунок 1 – Результаты стерилизации апексов яблони от сапрофитной и патогенной микрофлоры различными препаратами

Проведённые эксперименты показали, что побеги яблони эффективно стерилизовать 0,2% $HgCl_2$ в экспозиции 4 мин. В этом случае количество эксплантов способных регенерировать составляет у сорта Голден Делишес 76%, у сорта Восход 85%, у сорта Максат 75%. Хороший эффект был получен при сочетании стерилизации $HgCl_2$ 0,1% (6 мин) с последующей обработкой 3% H_2O_2 (4 мин). Число живых побегов составило 75%, 75% и 70% соответственно. Стерилизация «Domestos» также успешна в разведении с H_20 1:5 при экспозиции 20 мин, при этом обеззараживается от 65 до 75% побегов.

Реакция сортов на стерилизацию различными реагентами не одинакова. Так, например стерилизация $HgCl_2$ 0,2% в экспозиции 4 мин приводила к некрозу нескольких побегов сорта Голден Делишес, а у сортов Восход и Максат некроза не наблюдалось, однако число побегов, зараженных бактериями и грибами, было выше. Подобные различия наблюдались и в пределах одного сорта, одни побеги погибали или были заражены, а другие после тех же манипуляций регенерировали.

В работах многих ученых также рекомендуется применять для стерилизации от микрофлоры $HgCl_2$ в различной концентрации или бытовые отбеливатели, содержащие хлор [11-14]. Другие исследователи рекомендуют менее опасные средства $Ca(ClO)_2$, $HgCl_2$ и H_2O_2 [15], дезинфицирующее средство септодор-форте [16], гипохлорит натрия и фосфопаг [17] или ступенчатую стерилизацию: 70%-ный этанол, 1%-ный раствор Thimerosal и 0,08% раствор нитрата серебра [18].

Особенностью введения культуры яблони в асептическую культуру *in vitro* является окисление фенольных соединений, выделяемых в питательную среду при отчленении эксплантa, в результате чего микропобег погибает. В связи с этим оптимизировали состав питательных сред. Основой являлась не агаризованная среда МС с различными добавками, снижающими окислительные процессы (поливенилпирралидон, витамин С, NaFeEDTA) и регуляторами роста (БАП, ИМК, ГК). В течение 7 суток каждые 24 часа растения пересаживали на свежие среды (таблица 1, рисунок 2а).

Таблица 1 – Влияние состава питательных сред на введение в культуру *in vitro* эксплантов яблони (среднее по сортам Голден Делишес, Восход, Максат)

Варианты питательных сред и концентрации фитогормонов, мг/л	Высажено побегов, шт.	Некроз побегов, шт.	Регенерировано		Ошибка среднего показателя (±)
			шт.	%	
МС, 0,5 БАП; 0,2 ИМК	370	356	14	3,8	0,67
МС, NaFeEDTA × 3; 15 витамин С; 250 поливенилпирралидон; 0,5БАП; 0,2 ИМК	150	108	42	28,0	1,53
МС, NaFeEDTA × 4; 20витамин С; 500 поливенилпирралидон; 4глицин; 0,5 БАП; 0,2 ИМК; 0,1 ГК	120	36	84	70	1,15
МС, NaFeEDTA × 2; 1,5 витамин С; 250 поливенилпирралидон; 2 глицин; 0, 5 БАП; 0,1ИМК	120	25	95	79	0,33

Среда МС, NaFeEDTA × 2, 1,5 мг/л витамина С, 250 мг/л поливинилпирралидона, 2 мг/л глицина, 0,5 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК была лучшей для изоляции эксплантов на питательную среду, получено 79% регенерирующих побегов яблони.

В ряде публикаций также сообщается, что на этапе введения *in vitro* микропобеги яблони часто подвергаются фенольному окислению, которое приводит не только к потемнению питательной среды и тканей, но и ингибированию морфогенеза. Для решения такой проблемы ученые применяли антиоксиданты – аскорбиновую (АК) и лимонную кислоты (ЛК), поливинилпиролидон (ПВП) и их комбинации АК+ЛК+ активированный уголь (АУ). Однако, использование антиоксидантов не приводило к полному исключению окисления фенолов, а только снизило их появление и способствовало образованию 6,2-38,9% микрочеренков, пригодных для дальнейшего укоренения, и для введения в культуру рекомендуют БАП в концентрации 0,5мг/л с добавлени-

ем антиоксидантов [13, 19-20]. M. Laimer и др. (1988) предложили на этапе введения в культуру при микроразмножении яблони использовать 2,0 мг/л БАП совместно с НУК 0,4 мг/л [21].

В противоположность подобного утверждения результаты наших исследований показали, что одновременное применения ряда антиоксидантов приводит к значительному снижению окисления фенольных соединений (выживаемость 79%). Возможно, такой результат был достигнут благодаря ежедневной пересадке побегов на свежие среды.

а б

Рисунок 2 – Введение и клональное микроразмножение яблони ‘Максат’ *in vitro*:
а) введение эксплантов в асептическую культуру (не агаризованная среда МС, NaFeEDTA × 2, 1,5 мг/л витамин С, 250 мг/л поливинилпирралидон, 2 мг/л глицин, 0,5 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК; б) клонирование на искусственной питательной среде (МС, 1,0 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мг/л ГК)

Тестирование на наличие грибных и бактериальных инфекций, отбраковка заражённых

Кроме сапрофитной микрофлоры в растениях может развиваться патогенная, которая в отличие от сапрофитной не всегда погибает при стерилизации. При пассаже таких растений на питательную среду, со временем патогенная микрофлора начнет развиваться и может погубить растения. Во избежание этого, во время введения растений в культуру *in vitro,* целесообразно проверять микропобеги на заражение скрытой микрофлорой на провокационной VISS среде, это эффективный способ диагностики на наличие патогенной и сапрофитной микрофлоры. Провокационная среда специализирована для активного развития бактерий и грибов, в течение 1-3 недель в случае заражения появляется характерный рост микрофлоры. Поражённые растения, растущие на среде для размножения, отбраковываются.

Базальная часть побегов всех сортов яблони прошедших стерилизацию от сапрофитной микрофлоры была высажена на VISS среду. Результаты тестирования показали эффективность применённого метода для выявления латентного заражения побегов. В результате проверки зараженные растения от 0 до 80 % в зависимости от сорта были отбракованы. Свободные от микрофлоры от 20 до100% пассированы на среды для дальнейшего размножения.

Клональное микроразмножение

После успешного прохождения начального этапа введения эксплантов в асептическую культуру, провели эксперименты по клональному микроразмножению. Н.В. Катаева и Р.Г. Бутенко (1983) выделили два принципиально различных типа клонального микроразмножения один из них активация уже существующих в растении меристем, находящихся в апексе стебля, пазушных и спящих почках, которые можно используются в качестве экспланта [22-23]. Для активации роста и мультипликации применяют различные стимуляторы роста. Часто используются фитогормоны и их аналоги: цитокинины (зеатин, синтетические – 6-бензиламинопурин (БАП), 6-фурфураминопурин (кинетин), 2-изопентениладенин (2ip)), ауксины (индолил-3-уксусная кислота (ИУК), индолил-3-масляная кислота (ИМК), α-нафтил-уксусная кислота (α-НУК)), гиббереллины (ГК), витамины (аскорбиновая кислота, пиридоксин HC l, никотиновая кислота, тиамин HC l и др.). Ряд авторов счита-

ют, что целесообразно применять цитокинины и ауксины совместно. D. Dunstan et al. выявил, что на среде МС, содержащей 1,15 мг/л БАП и 0,15 – 0,20 мг/л ИМК можно получить высококачественные побеги подвоя яблони М4 [24]. Lane и McDougald (1982) изучали размножение побегов четырех сортов яблони («М.27», «М.9», «М.26», Macspur) и обнаружили, что культурные сорта различаются по их реакции на концентрацию цитокининов, 6-бензоаминопурина (БАП) в среде: оптимальные уровни для развития максимального количества побегов были разными для каждого сорта (5 мкм для «М.26» и «Маскура» и 10 мкм для «М.27» и «М.9») [25]. Пазушные почки сорта Douce de Djerba *in vitro* прорастали до 80%, и средняя длина побега достигала 2,8 см при 1.0mg/L^{-1} BAP, при 1.0mg/L^{-1} BAP + 0,5mg/L^{-1} IBA, прорастание составило 85%, а длина побегов 3,2 см. [13]. Матушкина и Пронина изучив воздействия БАП, кинетина, тидиазурона и зеатина на пролиферацию сортов и подвоев яблони, выявили, что при высоких концентрациях БАП (2,0 мг/л) коэффициент размножения бывает очень низким, даже равен нулю [19-20]. Несколькими авторами описана генотип-зависимость размножения микропобегов яблони [26-28].

В связи с разноречивостью информации и слабым коэффициентом размножения при применении рекомендованных регуляторов роста в клонировании *in vitro* казахстанских сортов, нами проведён ряд экспериментов по подбору гормонального состава питательных сред оптимальных для размножения в искусственных условиях. Минеральной основой являлась среда МС, испытывали регуляторы роста БАП, ИМК и ГК в различных концентрациях. Эксперименты проводили с сортом Грушовка Верненская и дикорастущей формой ТМ-6 (рисунок 3).

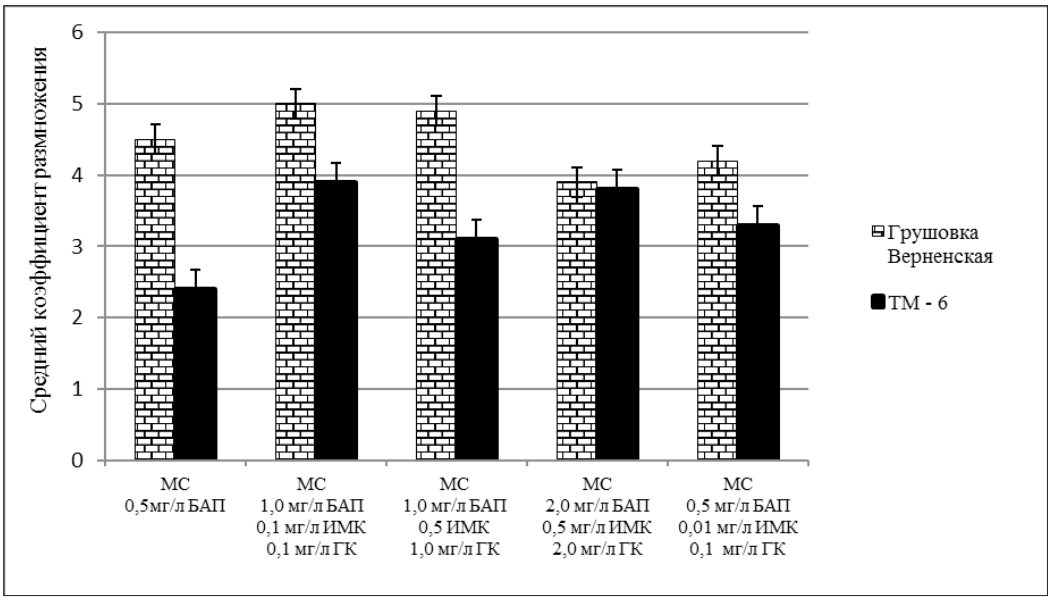


Рисунок 3 – Влияние гормонального состава среды на клональное микроразмножение яблони сорта Грушевка Верненская и дикорастущей формы ТМ-6

В результате определена оптимальная среда для клонального микроразмножения яблони: минеральная основа МС, содержащая: 1,0 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мг/л ГК. Средний коэффициент размножения двух сортов составил 4,45 (рисунок 3).

Впоследствии на оптимизированной нами среде успешно размножено 36 сортов и 8 дикорастущих форм яблони: сорта отечественной селекции Дамира, Бельфлёр Алматинский, Максат, Заря Алатау, Восход, Анель, Даналык, Салтанат, Талгарское, Байтерек, Карлыгаш, Заман, Тюльпан, Егемен, Заилийское, Казахское Юбилейное, Нургуль, Рахат, Румянка Алматинская, Синап Алматинский, Улан; районированные интродуцированные сорта: Голден Делишес, Суйслеппер, Мутсу и Рояль Ред Делишес, Агат, Айдаред, Горицвет, Кандиль Синап, Старкримсон; стародавние сорта: Апорт и Форма Апорта 5/18, Форма Апорта 5/3, Форма Апорта 5/7, Пеструш-

ка, Грушовка Верненская; дикоростущие формы *M. sieversii*: № 28, № 36, № 43, №4, ТА-28, ТП-24, ТП-27, ТС-15, ТМ-6.

Следует отметить, что некоторые сорта имели более высокий коэффициент размножения чем сорта участвующие в эксперименте, что подтвердило правильность подобранной среды – сорта Анель ($К_р$ 13,2), Голден Делишес ($К_р$ 9,5), Даналык ($К_р$ 7,9), Максат ($К_р$ 7,4), Восход ($К_р$ 7,2).

Результаты наших экспериментов подкреплены литературными данными, где утверждается, что для размножения *in vitro* многих генотипов яблони необходима оптимизация лабораторных условий выращивания [17, 20], а подбор регуляторов роста являются одним из ключевых моментов клонального микроразмножения [28-29].

Заключение

В результате проведённых исследований разработаны приемы получения асептических побегов яблони *in vitro* (стерилизация $HgCl_2$ в экспозиции 4 мин. или Domestos» с H_20 1:5 – 20 мин, проверка на VISS среде). Подобран гормональный состав питательной среды для изоляции, стимулирующий регенерационные процессы (минеральная основа МС без агара, удвоенное содержание NaFeEDTA, витамин С – 1,5 мг/л, поливинилпирралидон – 250 мг/л, глицин – 2мг/л, БАП – 0,5 мг/л, ИМК – 0,1 мг/л). Для микроклонального размножения яблони определена оптимальная среда МС, содержащая: 1,0 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мг/л ГК.

На основе полученных результатов экспериментов, приведённых выше в культуру *in vitro* введены и размножены 36 сортов и 9 дикорастущих форм яблони.

Результаты исследований могут успешно использоваться в научных и производственных лабораториях по клональному микроразмножению, а также в создании криобанка и хладоколлекции гермоплазмы яблони.

Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке грантового финансирования проекта AP05132995 «Совершенствование биотехнологического регламента клонального микроразмножения яблони с применением современного программного обеспечения для пополнения генофонда и внедрения в агропроизводство элитных саженцев» Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Литература

1 Jones O. P. Effect of benzyl adenine on isolated apple shoots //Nature. – 1967. – Т. 215. – №. 5109. – P. 1514.

2 Elliott R. F. Axenic culture of shoot apices of apple //New Zealand Journal of Botany. – 1972. – Т. 10. – №. 2. – С. 254-258.

3 Walkey D. G. Production of apple plantlets from axillary-bud meristems //Canadian Journal of Plant Science. – 1972. – Т. 52. – №. 6. – P. 1085-1087.

4 Marin J. A., Jones O. P., Hadlow W. C. C. Micropropagation of columnar apple trees //Journal of Horticultural Science. – 1993. – Т. 68. – №. 2. – P. 289-297.

5 Noiton D., Vine J. H., Mullins M. G. Effects of serial subculture in vitro on the endoge-nous levels of indole-3-acetic acid and abscisic acid and rootability in microcuttings of 'Jona-than'apple //Plant growth regulation. – 1992. – Т. 11. – №. 4. – P. 377-383.

6 Webster C. A., Jones O. P. Micropropagation of some cold-hardy dwarfing rootstocks for apple //Journal of horticultural science. – 1991. – Т. 66. – №. 1. – P. 1-6.

7 Welander M. In vitro rooting of the apple rootstock M 26 in adult and juvenile growth phases and acclimatization of the plantlets //Physiologia Plantarum. – 1983. – Т. 58. – №. 3. – P. 231-238.

8 Yepes L. M., Aldwinckle H. S. Micropropagation of thirteen Malus cultivars and root-stocks, and effect of antibiotics on proliferation //Plant Growth Regulation. – 1994. – Т. 15. – №. 1. – P. 55-67.

9 Zimmerman R. H. Propagation of fruit, nut, and vegetable cropsoverview //Tissue culture as a plant production system for horticultural crops. – Springer, Dordrecht, 1986. – P. 183-200.

10 Viss P. R., Brooks E. M., Driver J. A. A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture //In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. – 1991. – Т. 27. – №. 1. – P. 42-42.

11 Волгина М.А., Карычев К.Г., Ковальчук И.Ю. Микроклональное размножение яб-лони и груши // Научные достижения в биотехнологии, виноградарстве и ягодоводстве. Сб. трудов КазНИИ плодоводства и виноградарства.- Алматы.- 1997.- Т. 13. – С.11-15.

12 Ромаданова Н.В., Серадж Н.А., Нурманов М.М., Карашолакова Л.Н. Введение в культуру in vitro дикорастущей яблони Malus Sieversii. Ізденістер, нәтижелер – Исследования, результаты. № 3 (75) 2017. Стр. 103-110.

13 Boudabous, M., Mars, M., Marzougui, N., & Ferchichi, A. Micropropagation of apple (Malus domestica L. cultivar Douce de Djerba) through in vitro culture of axillary buds //Acta Bo-tanica Gallica. – 2010. – Т. 157. – №. 3. – P. 513-524.

14 Турдиев Т.Т., Ковальчук И.Ю., Успанова Г.К., Чуканова Н.И., Фролов С.Н. Опти-мизация клонального микроразмножения для сохранения генофонда растений груши // Вестник КазНУ, Серия биологическая. – 2015. – № 3. – С. 356-362.

15 Halim, M. A., Alam, M. F., Rahman, M. H., Hossain, M. B., & Uddin, M. B. Sterilization process for In vitro regeneration of Stevia (Stevia rebundiana Bertoni) //International Journal of business, social and scientific research. – 2016. – Т. 4. – №. 4. – P. 320-323.

16 Красноштан Т. В. Експозиція стерилізації та підбір стерилізатора для введення мікроживців смородини золотистої (Ribes aureum Pursh.) in vitro //Агробіологія. – 2013. – №. 10. – С. 134-136.

17 Беседина Е. Н., Бунцевич Л. Л. Усовершенствования технологии клонального микроразмножения подвоев яблони на этапе введения в культуру in vitro // Политематиче-ский сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного уни-верситета. – 2015. – №. 111. – с. 1-19.

18 Иванова Н. Н., Хохлов С. Ю., Митрофанова И. В. Особенности введения эксплан-тов хурмы восточной в условия in vitro //Бюллетень Государственного Никитского ботани-ческого сада. – 2016. – №. 119. – с. 44-51.

19 Матушкина О. В., Пронина И. Н. Особенности воздействия экзогенных цитоки-нинов и их производных на регенерацию яблони и груши in vitro //Достижения науки и тех-ники АПК. – 2010. – №. 8. Стр. 34-35.

20 Матушкина О. В., Пронина И. Н. Размножение яблони и груши in vilro //Достижения науки и техники АПК. – 2009. – №. 2. Стр. 15-17.

21 Laimer M., A. da Camara Machado, V. Hanzer, H. Weiss,D. Mattanovich, G. Himmler, H. Katinger In vitro Kultur zur Virusfreimachung alter Apfelsorten // Mitt. Klosterneuburg, 1988. – v. 38, №6. – P. 247-249

22 Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 96 с.

23 Катаева Н. В., Бутенко Р. Г. Принципы микроклонального размножения растений на примере герберы //Изв. АН СССР. Сер. биол. – 1982. – №. 1. – С. 126-130.

24 Dunstan D. I., Turner K. E., Lazaroff W. R. Propagation in vitro of the apple rootstock M4: effect of phytohormones on shoot quality //Plant cell, tissue and organ culture. – 1985. – Т. 4. – №. 1. – P. 55-60.

25 Lane W. D., McDougald J. M. Shoot tissue culture of apple: comparative response of five cultivars to cytokinin and auxin //Canadian Journal of Plant Science. – 1982. – Т. 62. – №. 3. – P. 689-694.

26 Kovalchuk, I., Lyudvikova, Y., Volgina, M., & Reed, B. M. Medium, container and gen-otype all influence in vitro cold storage of apple germplasm //Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2009. – Т. 96. – №. 2. – P. 127-136.

27 Dobránszky, J., Abdul-Kader, A., Magyar-Tábori, K., Jámbor-Benczúr, E., Bubán, T., Szalai, J., & Lazányi, J. Single and dual effects of different cytokinins on shoot multiplication of different apple scions //International Journal of Horticultural Science. – 2000a. – Т. 6. – №. 4. – P. 76-78.

28 Dobránszky, J., Abdul-Kader, A., Magyar-Tábori, K., Jámbor-Benczúr, E., Bubán, T., Szalai, J., & Lazányi, J. In vitro shoot multiplication of apple: comparative response of three root-stocks to cytokinines and auxin //International Journal of Horticultural Science. – 2000b. – Т. 6. – №. 1. – P. 36-39.

29 Ковальчук И.Ю. Клональное микроразмножение плодовых и ягодных культур-продуцентов биологически активных веществ //Ж. Биотехнология. Теория и практика.-2002. – №2. – С.- 80 – 82.

References

1 Jones, O. P. (1967). Effect of benzyl adenine on isolated apple shoots. Nature, 215(5109), 1514.

2 Elliott, R. F. (1972). Axenic culture of shoot apices of apple. New Zealand Journal of Botany, 10(2), 254-258.

3 Walkey, D. G. (1972). Production of apple plantlets from axillary-bud meri-stems. Canadian Journal of Plant Science, 52(6), 1085-1087.

4 Marin, J. A., Jones, O. P., & Hadlow, W. C. C. (1993). Micropropagation of columnar ap-ple trees. Journal of Horticultural Science, 68(2), 289-297.

5 Noiton D., Vine J. H., Mullins M. G. Effects of serial subculture in vitro on the endoge-nous levels of indole-3-acetic acid and abscisic acid and rootability in microcuttings of 'Jona-than'apple . Plant growth regulation. – 1992. – Т. 11. – №. 4. – P. 377-383.

6 Webster C. A., Jones O. P. Micropropagation of some cold-hardy dwarfing rootstocks for apple . Journal of horticultural science. – 1991. – Т. 66. – №. 1. – P. 1-6.

7 Welander M. In vitro rooting of the apple rootstock M 26 in adult and juvenile growth phases and acclimatization of the plantlets . Physiologia Plantarum. – 1983. – Т. 58. – №. 3. – P. 231-238.

8 Yepes L. M., Aldwinckle H. S. Micropropagation of thirteen Malus cultivars and root-stocks, and effect of antibiotics on proliferation . Plant Growth Regulation. – 1994. – Т. 15. – №. 1. – P. 55-67.

9 Zimmerman R. H. Propagation of fruit, nut, and vegetable cropsoverview . Tissue cul-ture as a plant production system for horticultural crops. – Springer, Dordrecht, 1986. – P. 183-200.

10 Viss P. R., Brooks E. M., Driver J. A. A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture . In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. – 1991. – Т. 27. – №. 1. – P. 42-42.

11 Volgina M.A., Karychev KG, Kovalchuk I.Yu. (1997) Microclonal propagation of apple and pear . Scientific advances in biotechnology, viticulture and berry. Collection of works of the Kazakh Research Institute of Horticulture and Viticulture, (13), p.11-15.

12 Romadanova N.V., Seraj N.A., Nurmanov M.M., Karasholakova L.N. (2017) Introduc-tion to in vitro culture of wild apple Malus Sieversii. Research, Results, 3(75), p. 103-110.

13 Boudabous, M., Mars, M., Marzougui, N., & Ferchichi, A. (2010). Micropropagation of apple (Malus domestica L. cultivar Douce de Djerba) through in vitro culture of axillary buds. Acta Botanica Gallica, 157(3), 513-524.

14 Turdiev TT, Kovalchuk I.Yu., Uspanova G.K., Chukanova N.I., Frolov S.N. (2015) Op-timization of clonal micropropagation to preserve the gene pool of pear plants . Vestnik KazNU, Biological Series, № 3, p. 356-362.

15 Halim, M. A., Alam, M. F., Rahman, M. H., Hossain, M. B., & Uddin, M. B. (2016). Sterilization process for In vitro regeneration of Stevia (Stevia rebundiana Bertoni). International Journal of business, social and scientific research, 4(4), 320-323.

16 Krasnostan TV. (2013) Exposition of sterilization and selection of sterilizer for introduc-tion of microorganisms of currant golden (Ribes aureum Pursh.) In vitro . Agrobiology, 10, p.134-136.

17 Besedina Ye.N., Buntsevich L.L. (2015) Improvements in the technology of clonal mi-cropropagation of apple rootstocks at the stage of introduction to in vitro culture. Polythematic net-work electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University, №.111, p. 1-19.

18 Ivanova N. N., Khokhlov S. Yu., Mitrofanova I. V. (2016). Features of the introduction of explants of persimmon eastern in vitro conditions. Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gar-den, (119), p. 44-51.

19 Matushkina O.V, Pronina I.N. (2010) Features of the impact of exogenous cytokinins and their derivatives on the regeneration of apple and pear in vitro . Achievements of science and tech-nology of the AIC, №8, p. 34-35

20 Matushkina O.V., Pronina I.N. (2009) Reproduction of apple and pear in vitro . Achievements of science and technology of the AIC, №2, p. 15-17.

21 Laimer M., A. da Camara Machado, V. Hanzer, H. Weiss,D. Mattanovich, G. Himmler, H. (1988). Katinger In vitro Kultur zur Virusfreimachung alter Apfelsorten . Mitt. Klosterneuburg,. – v. 38, №6. – p. 247-249

22 Kataeva N.V., Butenko R.G. (1983) Clonal micropropagation of plants. Science, 96 p.

23 Kataeva N.V., Butenko R.G. (1982) Principles of microclonal propagation of plants on the example of a gerbera . Izv. Academy of Sciences of the USSR. Biology, № 1, p.126-130.

24 Dunstan, D. I., Turner, K. E., & Lazaroff, W. R. (1985). Propagation in vitro of the apple rootstock M4: effect of phytohormones on shoot quality. Plant cell, tissue and organ culture, 4(1), 55-60.

25 Lane, W. D., & McDougald, J. M. (1982). Shoot tissue culture of apple: comparative re-sponse of five cultivars to cytokinin and auxin. Canadian Journal of Plant Science, 62(3), 689-694.

26 Kovalchuk, I., Lyudvikova, Y., Volgina, M., & Reed, B. M. (2009). Medium, container and genotype all influence in vitro cold storage of apple germplasm. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 96(2), 127-136.

27 Dobránszky, J., Abdul-Kader, A., Magyar-Tábori, K., Jámbor-Benczúr, E., Bubán, T., Szalai, J., & Lazányi, J. (2000b). Single and dual effects of different cytokinins on shoot multiplica-tion of different apple scions. International Journal of Horticultural Science, 6(4), 76-78.

28 Dobránszky, J., Abdul-Kader, A., Magyar-Tábori, K., Jámbor-Benczúr, E., Bubán, T., Szalai, J., & Lazányi, J. (2000). In vitro shoot multiplication of apple: comparative response of three rootstocks to cytokinines and auxin. International Journal of Horticultural Science, 6(1), 36-39.

29 Kovalchuk I.Yu. (2002) Clonal micropropagation of fruit and berry crops-producers of biologically active substances . Biotechnology. Theory and Practice, №2, p. 80-82.

МРНТИ 65.63.03 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b6

Толекова Ш.Н.*, Шарманов Т.Ш., Синявский Ю.А.

ТОО «Казахская Академия Питания», Казахстан, г. Алматы,
*e-mail: asel_tan@mail.ru

СОЗДАНИЕ НОВОГО СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПРОДУКТА НА ОСНОВЕ КОБЫЛЬЕГО МОЛОКА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ОБМЕННО-АЛИМЕНТАРНЫХ НАРУШЕНИЙ

Известно, что кобылье молоко – это уникальное молоко, которое очень полезно для нашего организма, по сравнению с другими видами молока. Использование кобыльего молока в качестве функциональной пищи, особенно для профилактики и лечения многих болезней, а также для улучшения качества жизни обсуждалось в течение последних десятилетий. Кобылье молоко обладает высокой пищевой и биологической ценностью, также максимальной усвояемостью. В кобыльем молоке содержится около 40 биологически активных ингредиентов, включая низкомолекулярные пептиды, свободные аминокислоты, лактоальбумины и глобулины, витамины – А, С, В1, В2, В6, В12, лизоцим, макро- и микроэлементы. Кобылье молоко характеризуется высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и оказывает определенное иммуностимулирующее действие за счет содержания в нем линоленовой кислоты семейства омега-3. Уникальный жирнокислотный состав кобыльего молока указывает на его высокие показатели индекса здоровья и низкие показатели индекса тромбогенности и атерогенности.

Целью настоящей работы явилась разработка кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока для профилактики больных сахарным диабетом и для обладающих избыточной массой тела. В ходе проведенных исследований в качестве основы при создании жидких и пастообразных кисломолочных продуктов было использовано кобылье молоко, бактериальные закваски с высокой биохимической активностью, а также композиция растительного происхождения в виде муки, полученной при помоле семян овса в сочетании с клубникой и шиповником. В статье показана возможность приготовления новых специализированных продуктов на основе кобыльего молока с использованием бактериальной закваски Streptococcus thermophilus Lactobacillus delbrueckii, подвид bulgaricus, а также растительных компонентов семян овса в сочетании с шиповником. Оценены органолептические и физико-химические показатели различных вариантов новых кисломолочных продуктов. С учетом рецептуры, химического состава и биологического действия ингредиентов, входящих в состав продукта, было обосновано использование кисломолочных смесей с профилактической целью для лиц с избыточной массой тела и больных сахарным диабетом 2-го типа. Сделаны выводы о возможности получения качественных специализированных продуктов на основе кобыльего молока с применением растительных компонентов функционального назначения.

Ключевые слова: кобылье молоко, растительное сырье, закваска, йогурт, рецептура, технология.

Tolekova Sh.N.*, Sharmanov T.Sh., Sinyavskiy Yu.A.

Kazakh Academy of Nutrition LLP, Kazakhstan, Almaty,
*e-mail: asel_tan@mail.ru

Development of new specialized products based on mare's milk for the prevention of metabolic and nutritional disorders

The article presents the results of a study on the creation of new specialized fermented milk products based on mare's milk and vegetable raw materials for the prevention of alimentary diseases.

The purpose of this work was the development of fermented milk products based on mare's milk, for the prevention of patients with diabetes and overweight. In the course of the research, mare's milk, bacterial ferments with high biochemical activity, as well as herbal composition in the form of flour obtained by grinding oat seeds in combination with strawberries, wild rose and rowan, were used as the basis for creating liquid and pasty fermented milk products. The article shows the possibility of preparing new specialized products, based on mare's milk using the bacterial starter Streptococcus thermophilus Lactobacillus delbrueckii, the subspecies bulgaricus, as well as the vegetable components of oat seeds

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

in combination with strawberries, rose hips Organoleptic and physico-chemical indicators of various variants of new fermented milk products are evaluated. Taking into account the formulation, chemical composition and biological effect of the ingredients that make up the product, it was justified to use fermented milk mixtures with a preventive purpose for persons with overweight and patients with type 2 diabetes. Conclusions about the possibility of obtaining high-quality specialized products based on mare's milk using vegetable components of functional purpose.

Key words: mare's milk, vegetable raw materials, sourdough, yogurt, recipe, technology.

Толекова Ш.Н.*, Шарманов Т.Ш., Синявский Ю.А.

ЖШС «Қазақ Тағамдану Академиясы», Қазақтан, Алматы қ.,
*e-mail: asel_tan@mail.ru

Бие сүтіне негізделген зат алмасу-алиментарлы ауруларды болдырмау үшін жаңа мамандандырылған өнімдерді әзірлеу

Осы мақалада зат алмасу-алиментарлы аурулардың алдын алу үшін бие сүті және өсімдік шикізаты негізінде дайындалған жаңа арнайы сүт қышқылды өнімдерді зерттеу жұмыстарының нәтижелері көрсетілген. Бұл зерттеу жұмыстың мақсаты ретінде, бие сүтіне негізделген артық салмағы бар және қант диабеті ауруларының алдын алуға арналған сүт қышқылды өнімдерін дайындауға бағытталған. Зерттеу барысында сұйық және паста ферменттелген сүт өнімдерін өндіру үшін басты ретінде бие сүті қолданылды, жоғары биохимиялық белсенділігі бар бактериялық ұйытқылар, сондай-ақ ұнтақталған сұлы, құлпынай, ал шөп композициясы түрінде жабайы раушан және рауан пайдаланылды. Адамзат өмір сүретін аймақтарда өндірілетін өсімдік шикізатынан жасалған компоненттердің азық-түлік құрамына енгізу адам ағзасына гео- және биохимиялық құрамы бойынша ең жақын биологиялық белсенді қосылыстардан тұратын перспективалық байыту алаңдарының бірі болып табылады. Мақалада бие сүтінен жаңа арнайы өнімдерді шығару барысында Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii, кіші түрі bulgaricus бактериялық ұйытқы көмегімен дайындалды, сондай-ақ өсімдік тектес компоненттерінің сығындысынан, яғни, сұлы және рауан қосындыларымен біріктіріліп жасалынды.

Жаңа ферменттелген сүт өнімдерінің әр түрлі нұсқаларының органолептикалық және физико-химиялық көрсеткіштері бағаланылды. Өнімді құрайтын ингредиенттердің құрамын, химиялық және биологиялық қасиеттерін ескере отырып, артық салмағы бар және қант диабеті ауруларының алдын алуға арналған сүт қышқылды қоспаларын профилактикалық мақсатта қолдануға негізделген өнімнің артықшылығы айқындалды. Фармацевтикалық өсімдік компоненттерін қолданып, бие сүтіне негізделген жоғары сапалы арнайы өнімдер алу мүмкіндігі зор екендігі анықталды.

Түйін сөздер: бие сүті, өсімдік шикізаты, ұйытқы, йогурт, рецепт, технология.

Введение

В настоящее время большое внимание уделяется проблеме здорового питания и поддержания естественного иммунитета человека. Кобылье молоко относится к функциональным продуктам, т.е. может присутствовать в ежедневном рационе питания и имеет доказанное положительное влияние на здоровье. Таким образом, кобылье молоко и продукты на основе кобыльего молока вследствие уникальности химического состава и свойств является более предпочтительным сырьем для производства широкого спектра, продуктов всех возрастных категории, а также продуктов массового потребления. Присутствие полиненасыщенных жирных кислот, семейства омега -3 и омега 6, повышают не только биологическую ценность продуктов на основе кобыльего молока, но и придают им направленные профилактические свойства, в первую очередь, это касается заболеваний сердечно-сосудистой системы, болезней обменно-алиментарного характера, включая сахарный диабет и избыточную массу тела [1, 2].

Кобылье молоко очень ценный, быстроусваемый продукт. Близость кобыльего и женского молока по химическому составу доказана рядом исследований, как отечественных, так и зарубежных ученых. Установлено, что из всех видов молока сельскохозяйственных животных, уникальным белковым составом обладает кобылье молоко, в нем присутствует самое высокое содержание сывороточных белков (альбуминов и глобулинов), низкое содержание казеина, благодаря чему оно хорошо усваивается и не вызывает болезненных явлений в желудочно-кишечном тракте. Кобылье молоко не содержит трансизмеров жирных кислот, негативно влияющих на здоровье и защитные функции организма. Кобылье молоко рекомендуют при заболеваниях

желудочно-кишечного тракта, печени, кишечника, кожи, при нарушениях работы иммунной системы, при лечении язвенной болезни желудка, онкопатологии. Положительные результаты получены при использовании цельного кобыльего молока в лечении больных хроническим гепатитом [3, 4].

Как свидетельствуют исследования ряда авторов и опыт народной медицины стран с давними традициями коневодства, кобылье молоко с успехом применяется в диетотерапии заболеваний пищевода, желудка и 12-перстной кишки инфекционно-воспалительного генеза – при эрозиях и язвенной болезни этих органов и хронических гастритах [5].

Ученые и медики университета Фридриха Шиллера в Йене детально изучили влияние кобыльего молока на организм человека. В результате многолетних исследований установлено, что, в среднем, у 74% пациентов с заболеваниями кишечника, дыхательных путей, печени, сердечно-сосудистыми и другими болезнями был отмечен положительный эффект приема кобыльего молока [6].

В современной производственной практике молочной отрасли промышленности, в основном выпускают продукцию на основе коровьего молока. Как альтернатива, во многих странах, в том числе и в Казахстане, в частности в Казахской Академии питания, разрабатываются рецептуры и технологии продуктов на основе кобыльего молока. Учитывая уникальность химического состава кобыльего молока, а также направленные его профилактические свойства предлагаются новые конкурентоспособные комбинированные продукты на кисломолочной основе с высокими органолептическими свойствами для профилактики сахарного диабета и ожирения [7].

Комбинированные продукты считаются не только источником питательных веществ, но и несут в себе определенную лечебно-профилактическую нагрузку и имеют полное право называться «функциональными». Сочетание различных ингредиентов животного и растительного происхождения, позволяет производить продукты нового поколения с направленными медико-биологическими свойствами, при этом актуальным направлением является разработка продуктов сложного сырьевого состава, включая использование молочного и растительного сырья, что придаёт продуктам определённые профилактические свойства, присущие каждому из входящих в его состав ингредиентов [8, 9].

Кисломолочная продукция по всему миру пользуется очень высоким спросом среди разных категорий населения, а ее ассортимент и состав ежегодно становится всё разнообразнее, растёт популярность йогуртов и различных видов кисломолочной продукции. В основном в Республике Казахстан в качестве сырья для получения молочных продуктов используется преимущественно коровье молоко, а из кобыльего молока изготовляют кумыс [10]. Усвояемость кисломолочных продуктов в организме человека выше, по сравнению с цельным молоком. При производстве кисломолочных продуктов используются закваски, содержащие полезные микроорганизмы, способствующие нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта, улучшающие пищеварение и оказывающие положительное воздействие на обменные процессы в целом [11, 12]. Поэтому, цель данной работы заключалась в разработке новых кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока, обогащенных композицией растительного происхождения с пробиотической направленностью и лечебно-профилактическими свойствами для лиц, страдающих сахарным диабетом и избыточной массой тела.

Для достижения этой цели изучали химический состав экспериментальных образцов кисломолочного продукта на основе кобыльего молока, проведен подбор заквасочного материала, оптимизированы дозы вносимой закваски, разработаны технологические режимы тепловой обработки, ферментации, стабилизациии хранения кобыльего молока для производства йогурта.

Материалы и методы исследования

Объект исследований – молоко кобылье, взятое из фермы ИП «SaumalDeluxe» с Алматинской области, закваска прямого внесения со стандартной микрофлорой для йогурта компании «Genesis laboratories» ООД GBio1 1218TY50 термофильные культуры *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii*, подвид *bulgaricus*, сухой сывороточный белок, в качестве растительной субстанции, добавка в виде муки, полученной при помоле семян овса в сочетании с клубникой, шиповником или рябиной., разработаны рецептуры и технологии двух видов йогуртов (ложкового и питьевого) [13].

Изучение свойств свежеполученного кобыльего молока, сухого обезжиренного молока и продуктов их переработки проводили на базе ла-

бораторий ТОО «Казахская Академия Питания» г. Алматы.

Органолептические показатели кисломолочных продуктов проводили по Межгосударственному стандарту [14]. В ходе исследования проверяли органолептические показатели кобыльего молока по вкусу, запаху и цвету согласно ГОСТ Р 52973-2008, молоко кобылье-сырье [15]. Титруемую кислотность определяли по ГОСТ 3624. Сущность метода заключается в нейтрализации кислот и их солей, содержащихся в продукте, раствором едкой щелочи в присутствии индикатора фенолфталеина. В готовых продуктах исследовали показатели качества и безопасности молока и молочной продукций (согласно действующей нормативной документации Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013), плоды и ягоды быстрозамороженные по СТ РК 1739-2007 Статистическую обработку результатов исследований производили по стандартной методике с использованием критерия Стьюдента, Уровень значимости $p< 0,05$ [15, 16].

Результаты и обсуждение

Известно, что кобылье молоко по составу основных компонентов и качественному содержанию молочного жира и белка отличается от молока других сельскохозяйственных животных. Содержание аскорбиновой кислоты в кобыльем молоке, больше в 5-6 раз, чем в коровьем. Продукты питания на основе кобыльего молока рекомендуются для профилактики и лечения анемии, сахарного диабета, остеопороза, сердечно-сосудистых заболеваний, атеросклероза, ожирения и рака. Отсутствие насыщенных жирных кислот и высокое содержание витаминов делают продукцию лечебно-профилактической [17, 18].

В настоящее время большинство людей стремятся вести здоровый образ жизни, неотъемлемой частью которого является правильное и здоровое питание и положительно относятся к обогащению кисломолочных продуктов функциональными пищевыми ингредиентами [19].

При создании нового специализированного продукта на основе кобыльего молока в первую очередь проводились такие исследования как, изучение состава свежеполученного кобыльего молока, полученного из фермы ИП «SaumalDeluxe» с Алматинской области. Были определены важнейшие физико -химические показатели кобыльего молока: кислотность, плотность. Так, было установлена титруемая кислотность кобыльего молока, что в среднем равнялась от 7 ± 0,05 до 8 ± 0,03 °Т, плотность кобыльего молока была в пределах от 1029,3 ± 0,13 до 1034,0 ± 1,5 кг/м^3. Количества белка 1,8 ±0,002– 2,0 ±0,005 %, жира 1,7± 0,001–1,9 ±0,003%, а сухого вещества – 12±0,89%. Известно, что биологическая ценность пищевого продукта характеризуется уровнем содержания аминокислот, особенно незаменимых [20]. Аминокислотный состав сырого цельного кобыльего молока проводили в университете Памуккале, Денизли, Турция.

По результатам полученных экспериментов было обнаружено 15 аминокислот, в том числе 3 незаменимых (лейцин, фенилаланин и лизин), что свидетельствует о биологической полноценности кобыльего молока. Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что изученное кобылье молоко показало высокую биологическую ценность и может быть рекомендовано для производства нового специализированного продукта для профилактики обменно-алиментарных нарушений.

При создании рецептуры нового кисломолочного продукта использовалась композиция растительного происхождения, в виде муки, полученной при помоле семян овса в сочетании с шиповником. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что при изучении состава композиции среднее содержание сухих веществ составило от 20,6 ± 0,13 до 28,7 ± 1,2%, органических кислот – 1,7±0,02 %, сахаров – 15,3±0,9 %, золы – 0,3±0,001%. Кроме того, данные растительные субстраты богаты источником витаминов А, Е, В, в особенности содержанием витамина С. По результатам полученных экспериментов содержание витамина С было в пределах от 1589±1,9 – 1591±2,3 мг/100 г. При анализе минеральных компонентов отмечены высокие концентрации физиологически нутриентов: таких как клетчатки, макро- и микроэлементов, пищевых волокон. Шиповник относится к продуктам, имеющим низкий гликемический индекс, кроме того в составе этих ягод присутствует фолиевая и аскорбиновые кислоты, фосфор, магний, небольшое количество кальция, поэтому благодаря специфичным сочетаниям биологически и фармакологически активных нутриентов. Такие вещества трудно создать искусственно, они хорошо переносятся человеческим организмом, обладают лечебным и/или профилактическим действием [21 – 25].

Экспериментальные исследования показали, что экстракты плодов шиповника ингибируют процесс накопления липидов в белой жировой ткани, повышает процессы жирного кислотного окисления в печени и скелетном мускуле, тем самым предупреждая развитии ожирения [26]. Шиповник является ценным поливитаминным, лекарственным и пищевым сырьем. В связи с этим нами была изучена возможность использования шиповника в производстве нового кисломолочного продукта. Еще одним из важнейших компонентов для разработки кисломолочного продукта, по нашему мнению, является овсяная мука. Овсяная мука содержит наряду с белком, жиром и углеводами аминокислоту метионин, полифенолы, холин, а также калий, фосфор, магний, железо, кальций, цинк, кобальт, марганец, витамины группы «В» (В1, В2), витамин А, витамин Е, РР [27, 28].

В дальнейших исследованиях было предложено создание нового кисломолочного продукта йогурта в двух вариантах: ложковой и питьевой. Рецептура ложковой и питьевой кисломолочного продукта представлена в таблице 1. Анализируя таблицу 1, можно сказать, что рецептура ложкового и питьевого кисломолочного продукта отличалась количеством вносимой закваски, растительной композиции, сухого молока и сухого сывороточного белка, что приводило к получению в случае питьевого йогурта менее плотной консистенции.

Таблица 1 – Рецептура кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока из расчета на 100 л готового продукта

Ингредиенты	Образец кисломолочного продукта	
	Ложковой	Питьевой
Молоко кобылье %	80,0	86,0
Закваска бактериальная%	5,0	3,0
Растительная субстанция%	5,0	4,0
Молоко кобылье сухое%	5,0	4,0
Сухой сывороточный белок %	5,0	3,0

Дополнительное внесение сывороточных белков и сухого кобыльего молока в количестве 10% было связано, в первую очередь, с низким содержанием белка и, в частности, казеина в кобыльем молоке и невозможностью получения плотного сгустка характерного для йогурта.

Для сквашивания образцов использовали закваску, состоящую из *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii*, подвид *bulgaricus.* Оптимальная доза внесения заквасочного материала составила 4 – 6% от объема заквашиваемой смеси. Растительную композицию вносили в количестве 5% в молоко до его пастеризации и нормализации.

Технология приготовления кисломолочных продуктов включала следующие технологические операции: приготовление кобыльего молока и растительной композиции, пастеризация смеси при температуре не выше 70 ^{0}С, охлаждение смеси до температуры заквашивания 38 – 42 ^{0}С, внесение 10% сухого кобыльего молока и сывороточного белка, предварительно восстановленных в прокипяченной охлажденной воде, внесение комбинированной закваски, содержащей лакто и бифидобактерии, сквашивание при выше указанной выше температуре. Время сквашивания йогурта составило 8 – 10 часов, после чего йогурт охлаждали до температуры 4 – 6 ^{0}С и использовали для оценки органолептических и физико-химических показателей.

Ряд исследователей отметили, что при пастеризации кобыльего молока при высоких температурах появляется салистый привкус, и поэтому считают тепловую обработку при кумысоделии нежелательной. Поэтому, в дальнейших исследованиях были проведены эксперименты по изучению органолептических показателей кисломолочных продуктов. Оценивали такие показатели как внешний вид, консистенция, вкус и запах. Органолептические показатели кисломолочных продуктов в зависимости от процента вносимой растительной композиции представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Органолептические показатели кисломолочного продукта

Образцы с добавлением овса и шиповника	Органолептические показатели		
	Консистенция	Вкус и запах	Цвет
При добавлении % растительного компонента	Однородная, вязкая, осадок растительной композиции отсутствует	Кисломолочный, имеет незначительный вкус овса и шиповника	От молочно-белого до светло-коричневого.
При добавлении 3% растительного компонента	Однородная, вязкая, незначительный осадок растительной композиции	Кисломолочный, имеет вкус овса и шиповника	От молочно-белого до светло-коричневого.
При добавлении 5% растительного компонента	Однородная, более вязкая, имеется осадок растительной композиции	Кисломолочный, имеет вкус овса и шиповника.	Светло – коричневого цвета
При добавлении 10% растительного компонента	Однородная, очень вязкая, имеется нерастворенный осадок растительной композиции	Кисломолочный, имеет вкус овса и шиповника.	Светло – коричневого цвета

Микробиологические показатели всех образцов кисломолочных продуктов также соответствовали требованиям Технический регламента Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) [15]. Количество молочнокислых микроорганизмов *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* в конце срока хранения соответствовало значениям – 1,8 х 10^9±0,001 КОЕ в 1 мл. Эти данные позволяют отнести кисломолочные продукты к функциональным пробиотическим продуктам.

Таким образом, разработанные кисломолочные продукты на основе кобыльего молока, сброженного специальными штаммами молочнокислых и бифидобактерий с высокой биохимической активностью, с добавлением растительной композиции богатой белками и жирами растительного происхождения, полиненасыщенными жирными кислотами, пектином, пищевыми волокнами, витаминами А, Е, С, группы «В» микроэлементами (фосфор, калий, кальций, магний), витамины группы «В», Е и множество других полезных веществ.

В дальнейших исследованиях проведен химический анализ состава кисломолочного продукта (йогурта). Химический состав специализированного йогурта представлен в таблице 3. Так, химический анализ показал, что образцы ложкового и питьевого йогуртов соответствовали действующим нормативным требованиям.

Таблица 3 – Химический состав экспериментальных образцов кисломолочного продукта на основе кобыльего молока из расчета на 100 г продукта

Наименование показателя	Норма
Белок, г	6,0-5,0
Жир, г	3,0-3,5
Углеводы, г	8,0-9,0
Витамины, мг:	
С	90-95
РР	2,0-2,5
Е	10-12
А	2,0-2,2
Вс	0,040-0,045
B_2	1,0-1,2
B_6	0,2-0,25
Микроэлементы:	
Са, мг	90-110
Na мг	40-47
Fe, мг	1,3-1,6
Zn,мг	1,5-1,7
Mg	50-55
Калорийность, ккал	83-87

Следствием выполненной работы явилась разработка технологии производства йогурта на основе кобыльего молока. На рисунке 1 приведена схема технологического процесса получения

кисломолочного продукта. Технологический процесс производства кисломолочного продукта состоит из следующих этапов:

– приемка и подготовка сырья кобыльего молока с добавлением растительной композиции, восстановленного сухого молока и сухого сывороточного белка;
– заквашивание, при температуре 43 ^{0}С;
– пастеризация;
– розлив, упаковка;
– охлаждение до 4-8^{0}С
– хранение при температуре 0 – +5 ^{0}С в течение 7 суток

Технология приготовления позволяла получать продукт, обладающий высокой степенью дисперсности, физико-химической и микробиологической стабильностью. Его производство не требует специального технологического оборудования. Все компоненты рецептуры являются доступными и разрешенными к использованию в пищевых целях, хорошо усваиваются организмом.

Рисунок 1 – Принципиальная схема приготовления кисломолочного продукта на основе кобыльего молока

Технология изготовления йогурта на основе кобыльего молока успешно прошла производственное испытание на ТОО «Казахская Академия Питания». Проведенные исследования показывают возможность использования кобыльего молока для производства йогурта – продукта с высокими потребительскими свойствами. Разработанный продукт предназначен для систематического употребления и направлен для профилактики обменно-алиментарных нарушений, на повышение защитных сил организма, снижение процессов перекисного окисления липидов, улучшение функциональной активности желудочно-кишечного тракта, уменьшение токсемии [29 – 32].

Заключение

Разработка кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока комбинированного состава является перспективным направлением и имеет практическую значимость для молочной промышленности. Этот продукт может быть использован в питании людей, болеющих сахарным диабетом и ожирением, и для их профилактики, а также для профилактики заболеваний желудочно-кишечного тракта и атеросклероза. А также кисломолочный продукт, полученный в соответствии с представленной выше технологий и рецептурами имеет хорошие органолептические показатели, сроки хранения этого кисломолочного продукта составляют в пределах 7 дней.

Организация производства нового кисломолочного продукта возможна на любом действующем молочном заводе, оснащённом необходимым оборудованием для производства цельномолочных продуктов.

Благодарности. Выражаю признательность доктору медицинских наук, академику НАН РК Шарманову Т.Ш. и доктору биологических наук Синявскому Ю.А. в проведении данного исследования и за помощь в работе.

Работа выполнена в рамках грантового финансирования МЗ РК на тему: «Разработать технологию для улучшения здоровья и качества жизни работников производства и предприятия связанной переработкой солей и тяжелых металлов» на 2018 -2021. Республики Казахстан.

Конфликт интересов. Авторы не имеют конфликтов интересов.

Сокращения и обозначения

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

Литература

1 Шарманов Т.Ш. Тағам гигиенасы // Оқу құралы. – Алматы, Эверо, 2010. – 212 б.

2 Синявский Ю.А., Смаилова Г.А., Выскубова В.Г., Торгаутов А.С., Пучкова М.С., Беспалова Ю.Н., Перспективы применения нового кисломолочного продукта на основе кобыльего молока «Тулпар-2» в комплексной медикаментозной терапии больных туберкулезом легких//Научно-практический жур-нал вопросы питания. Том 83. - № 3, 2014. - С. 264-266.

3 Potočnik K. et al.: Mare's milk, Mljekarstvo - 2011. 61 (2), P. 107-113.

4 Ахатова И.А., Маершина Н.А., Ахметшина Г.В. Поведенческие признаки как объект отбора в молочном коневодстве. - Уфа: Гилем, 2008. - 132 с.

5 Кадырова Р.Х., Жангабылов А.К. Национальные молочные продукты в лечебном питании // Алма-Ата, Казахстан, 1981. – 106 с.

6 Solaroli G., Pagliarini E., Peri C. (1993a). Compositional and nutritional quality of mare's milk // Italian Journal of Food Science, vol.1, pp. 3–10.

7 Шарманов Т. Казахстан в контексте глобальных проблем питания. - Алматы: Баспа, 2000. - 224 С.

8 Канарейкина С.Г. Применение функциональных ингредиентов при производстве йогурта // материалы III Всероссийской науч.-практ. Конф, Уфа: Башкирский ГАУ, 2012, С. 138–140.

9 Канарейкина С.Г., Арсланова А.М., Канарейкин В.И. Йогурт – продукт для улучшения рациона питания // Материалы Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов. Воронеж, 2015, С. 277–281.

10 Синявский Ю.А., Цой И.Г. Лечебно-профилактические продукты питания.- Алматы: БАСПА, 2000.- 187 С.

11 Джумабаева Г.К. Верблюжье молоко и продукты его переработки // Пищевая и перерабатывающая промышленность Казахстана. – 2008. – No1. – С. 36-37.

12 Tverdokhleb G.V. Technology of milk and dairy products - M .: DeLi print, 2006. - 616 p.

13 Канарейкина С.Г. Разработка и обоснование основных технологических операция при производстве йогурта из кобыльего молока // Вестник Башкирского государственного аграрного университета, 2010, № 2. – С. 72–75.

14 Межгосударственные стандарты ГОСТ 28283-89, ГОСТ 31981-2013, ГОСТ 2929-75, ГОСТ 1750-86, СТБ 1011-95, ГОСТ 7047-55, ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 12 ноября 2015 г. С. 82.

15 Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013 "О безопасности молока и молочной продукции", Принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 октября 2013 года N 67. С. 89.

16 Гланц С. Медико-биологическая статистика // - М.: Практика, 1998, С. 459. Уровень значимости $p < 0,05$.

17 Ахатова, И.А., Канарейкина С.Г. Динамика химического состава молока кобыл различных сроков выработки // Зоотехния, 2010, № 6. – С. 22–23.

18 A Markiewicz-Kęszycka M. et al. Chemical composition and whey protein fraction of late lactation mares' milk //International Dairy Journal. – 2013. – Т. – №. 2. – С. 62-64.

19 Albenzio M., Corbo, M. R., Rehman, S.U., Fox, P.F., De Angelis, M., Corsetti, A., Sevi A., &Gobbetti, M. (2001). Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating the curd in hot whey // International Journal of Food Microbiology, vol. 67, P. 35–48.

20 Мусина О.Н. Творожные продукты с зерновыми или зернобобовыми компонентами // Молочная промышленность, 2007, № 10. - С. 33.

21 Daels-Rakotoarison D.A., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Luyckx M., Dine T., Bailleul F., Cazin M., Cazin J.C. Effects of Rosa canina fruit extract on neutrophil respiratory burst - Phytother. Res. 2002 Mar., 16(2), pp. 157-161.

22 Deliorman Orhan D., Hartevioğlu A., Küpeli E., Yesilada E. In vivo anti-inflammatory and anti-nociceptive activity of the crude extract and fractions from Rosa canina L. fruits - J. Ethnopharmacol. 2007, Jun 13, 112(2), pp. 394-400.

23 Fattahi A., Niyazi F., Shahbazi B., Farzaei M.H., Bahrami G. Antidiabetic Mechanisms of Rosa canina Fruits: An In Vitro Evaluation - J. Evid. Based Complementary Altern. Med. 2017, Jan., 22(1), pp.127-133.

24 Taghizadeh M., Rashidi A.A., Taherian A.A., Vakili Z., Mehran M.The Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of Rosa canina (Dog Rose) Fruit on Liver Function and Structure in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats - J. Diet. Suppl. 2017, No. 2, pp. 1-12.

25 Taghizadeh M., Rashidi A.A., Taherian A.A., Vakili Z., Sajad Sajadian M., Ghardashi M. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effects of Ethanol Extract of Rosa canina L. fruit on Diabetic Rats: An Experimental Study With Histopathological Evaluations - J. Evid. Based Complementary Altern. Med. 2016, Oct., 21(4), pp. 25-30.

26 .Nagatomo A., Nishida N., Matsuura Y., Shibata N. Rosehip Extract Inhibits Lipid Accumulation in White Adipose Tissue by Suppressing the Expression of Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma - Prev. Nutr. Food Sci. 2013, Jun., 18(2), pp. 85-91.

27 Киселева Т.Л., Смирнова Ю.А. Основные группы биологически активных соединений пищевых растений // Лечебные свойства пищевых растений / под общ. ред. Т.Л. Киселевой. – М. : Изд-во ФНКЭЦТМДЛ Росздрава, 2007. – С. 69-77.

28 Киселева Т.Л. Лечебно-профилактические свойства зерновых культур и круп с позиций традиционных медицинских систем мира // Вопросы питания. – 2014. – Т. 83. – № 3. – С. 19-20.

29 Баймаханов А.А. Разработка специализированных продуктов питания для алиментарной поддержки стандартной терапии больных хроническим гастритом с пониженной секреторной функцией: Автореф. дисс… канд. мед.наук.- Алматы, 2010.- 27 с.

30 Dorota Najgebauer-Lejko, Marek Sady. Estimation of the antioxidant activity of the commercially available fermented milks// Acta Sci. Pol. Technol. Aliment. 14(4) 2015, pp. 387–396

31 Potočnik K. Et al. Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species // Mljekarstvo. – 2011. – T. 61. – № 2. – 107 p.

32 Слинкин А.А., Канарейкина С.Г Повышение качества сухого кобыльего молока // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2011, Т. 3. № 31 .- С. 194–195.

References

1 Akhatova I.A., Maershina N.A., Akhmetshina G.V. (2008) Behavioral signs as an object of selection in dairy horse breeding. - Ufa: Gilem. - 132 p.

2 Akhatova, I. A., Kanareikin, S.G. (2010) Dynamics of the chemical composition of milk of mares of various production terms . Zootekhniya, No. 6. - pp. 22–23.

3 Albenzio, M., Corbo, M.R., Rehman, S.U., Fox, P.F., De Angelis, M., Corsetti, A., Sevi, A., & Gobbetti, M. (2001). Pugliese cheese made from raw milk, paste to by International, International Journal of Food, Microbiology, vol. 67, pp. 35 – 48.

4 A Markiewicz-Kęszycka M. (2013) Chemical composition and whey protein fraction of late lactation mares' milk . International Dairy Journal. – T. – №. 2. – pp. 62-64.

5 Baymahanov A.A. (2010) Development of specialized foods for the nutritional support of standard therapy for patients with chronic gastritis with reduced secretory function: Author's abstract. diss ... cand. Medical Sciences. - Almaty.- 27 p.

6 Daels-Rakotoarison D.A., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Luyckx M., Dine T., Bailleul F., Cazin M., Cazin J.C. (2002) Effects of Rosa Canina Fruit Extracts Neutrophil Purifying Burst - Phytother. Res. Mar., 16 (2), pp. 157-161.

7 Deliorman Orhan, D., Hartevioğlu A., Küpeli E., Yesilada E. (2007) In vivo, anti-inflammatory and anti-inflammatory drugs. J. Ethnopharmacol. Jun 13, 112 (2), pp. 394-400.

8 Dorota Najgebauer-Lejko, Marek Sady. (2015) Estimation of the antioxidant activity of the commercially available fermented milks . Acta Sci. Pol. Technol. Aliment. 14 (4), pp. 387–396.

9 Dzhumabaeva G.K. (2008) Camel milk and products of its processing . Food and processing industry of Kazakhstan. – №1. – pp. 36-37.

10 Fattahi A., Niyazi F., Shahbazi B., Farzaei M.H., Bahrami G. (2017) Anti-Diabetic Mechanisms of Rosa Canina Fruits: An In Vitro Evaluation - J. Evid. Based Complementary Altern. Med. Jan., 22 (1), pp.127-133.

11 Glantz S. (1998) Biomedical statistics . - M.: Praktika, p. 459. The significance level is $p < 0.05$.

12 Interstate standards (2015) GOST 28283-89, GOST 31981-2013, GOST 2929-75, GOST 1750-86, STB 1011-95, GOST 7047-55, ADOPTED by the Interstate Council for Standardization, Metrology and Certification (protocol of November 12, p. 82.

13 Kadyrova R.Kh., Zhangabylov A.K. (1981) National dairy products in clinical nutrition . Alma-Ata, Kazakhstan, p. – 106.

14 Kanareykina S.G. (2012) Use of functional ingredients in the production of yogurt Innovations, environmental safety, equipment and technologies in the production and processing of agricultural products . Materials of the III All-Russian Scientific and Practical. Conf, Ufa: Bashkir State Agrarian University, pp. 138–140.

15 Kanareikin S.G., Arslanova A.M., Kanareikin V.I. (2015) Yoghurt - a product for improving the diet . Proceedings of the Intern. scientific-practical conf. young scientists and specialists; Voronezh, pp. 277–281.

16 Kanareikin S.G. (2010) Development and justification of the main technological operation in the production of yogurt from mare's milk . Bulletin of the Bashkir State Agrarian University, №. 2. - pp. 72–75.

17 Kiseleva T.L. (2014) Therapeutic and prophylactic properties of cereals and cereals from the standpoint of the traditional medical systems of the world . Nutrition issues. - Vol. 83. - № 3. pp.19-20.

18 Kiseleva T.L., Smirnova, Yu.A. (2007) The main groups of biologically active compounds of food plants . Healing properties of food plants. - M.: Publishing house FNKSTMDL Roszdrava. - pp. 69-77.

19 Musina O.N. (2007) Curd products with cereal or leguminous components . Dairy industry, № 10.- p. 33.

20 Nagatomo A., Nishida N., Matsuura Y., Shibata N. (2013) Rosehide Acupuncture Repositor Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma - Prev. Nutr. Food Sci. Jun. 18 (2), pp. 85-91.

21 Potočnik K. (2011) Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species . Mljekarstvo. – vol. 61. – № 2. – p.107.

22 Potočnik K. (2011) Mare's milk, Mljekarstvo 61 (2). pp. 107-113.

23 Sinyavsky Yu.A., Smailova GA, Vyskubova VG, Torgautov AS, Puchkova MS, Bespalova Yu.N. (2014) Prospects for the use of a new fermented milk product based on mare's milk «Tulpar- 2 "in the complex drug therapy of patients with pulmonary tuberculosis . Scientific and practical journal of nutrition issues. vol. 83.- № 3. - pp. 264-266.

24 Sinyavsky Yu.A., Tsoy I.G. (2000) Therapeutic and prophylactic food. - Almaty: BASPA – 187 p.

25 Solaroli G., Pagliarini E., Peri C. (1993a). Compositional and nutritional quality of milk milk . Italian Journal of Food Science, vol.1, pp. 3–10.

26 Sharmanov T.Sh. (2010) Food hygiene . General manual. - Almaty, Everovo. – p. 212.

27 Sharmanov T. (2000) Kazakhstan in the context of global nutrition problems. - Almay: Baspa. – p. 224.

28 Slinkin, A. A., Kanareikin S. G. Improving the quality of dry mare's milk . News of the Orenburg State Agrarian University. 2011, vol. 3. No. 31.- pp. 194–195.

29 Taghizadeh M., Rashidi AA, Taherian AA, Vakili Z., Sajad M. Sajad, M. Ghardashi M. (2016) Anti-Diabetic and Antihyperlipidemic Extracts from Diabetic Rats: A. Evid. Based Complementary Altern. Med. Oct. 21 (4), pp. 25-30.

30 Taghizadeh M., Rashidi A.A., Taherian A.A., Vakili Z., Mehran M.D., Jaietin J. (2017) The Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of Rosa canina (Dog Rose) Fruit on Liver Function and Structure in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats - J. Diet. Suppl. No 2, pp. 1-12.

31 Technical Regulations of the Customs Union TR CU 033 (2013) ["On the safety of milk and dairy products", Adopted by the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of October 9] N 67. p.89.

32 Tverdokhleb G.V. (2006) Technology of milk and dairy products . - M.: DeLi print. - 616 p.

3-бөлім

ВИРУСОЛОГИЯ

Section 3

VIROLOGY

Раздел 3

ВИРУСОЛОГИЯ

МРНТИ 34.25.39 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b7

Онгарбаева Н.С.[1,2*], Кливлеева Н.Г.[1], Сактаганов Н.Т.[1], Қалқожаева М.Қ.[1], Глебова Т.И.[1], Лукманова Г.В.[1], Баймухаметова А.М.[1], Мустафин М.К.[3], Ерденов Ш.Г.[4], Мустафин Б.М.[4], Оспанов Г.Х.[5], Вебби Р.Дж.[6]

[1]ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», Казахстан, г. Алматы, e-mail: nuray.syrlybay@gmail.com
[2]Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы
[3]Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова, Казахстан, г. Костанай
[4]Костанайская научно-исследовательская ветеринарная станция, Казахстан, г. Костанай
[5]Государственное учреждение «Территориальная Инспекция Абайского Района Комитета Ветеринарного Контроля и Надзора Министерства Сельского Хозяйства Республики Казахстан», Казахстан, Карагандинская область
[6]Центр ВОЗ по изучению экологии гриппа животных и птиц, St. Jude Children's Research Hospital, USA, Tennessee, Memphis

ЦИРКУЛЯЦИЯ ВИРУСА ГРИППА В ПОПУЛЯЦИЯХ СВИНЕЙ В РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН (2018 – 2019 гг.)

В 2018 – 2019 гг. в крестьянских животноводческих хозяйствах семи областей Республики Казахстан от свиней 2-6-месячного возраста собрано 1104 носоглоточных смывов и 39 сывороток крови.

Первичный скрининг 1104 проб в полимеразной цепной реакции показал, что генетический материал вируса гриппа А обнаружен в 26 биопробах (2,36% от общего числа обследованных свиней). При субтипировании РНК вирус гриппа A/H1N1 идентифицирован в 1,45% проб, A/H3N2 – в 0,54% случаев, A/H1sw2009 – 0,36% образцах.

В результате вирусологических исследований из биологичеких проб на куриных эмбрионах выделено три изолята из Северо-Казахстанской области, идентифицированых в РТ-ПЦР, РТГА и РИНА как вирусы гриппа A/H1N1.

В результате серологических исследований 39 сывороток крови в реакции торможения гемагглютинации установлено, что одна проба (2,56% от общего количества исследованных сывороток) оказалась положительной к вирусу гриппа A/swine/Iova/15/30 (H_{SW}1N1), титр антител составил 1:40. В трех сыворотках крови животных (7,69%) антитела в титрах 1:20-1:40 выявлены к вирусу гриппа A/California/04/09 (A/H1N1pdm). К вирусу A/Panama/2007/99 (H3N2) позитивными оказались девять сывороток крови (23,08%), с титрами антигемагглютининов 1:20-1:40. При иммуноферментном анализе 39 сывороток крови в шести образцах (15,38% – случаев от общего числа исследованных образцов) антитела выявлены к вирусу гриппа A/H3N2.

Результаты, полученные при скрининге биопроб в полимеразной цепной реакции, в реакции торможения гемагглютинации и иммуноферментном анализе свидетельствуют о социркуляции вирусов гриппа A/H1N1, A/H3N2 и A/H1sw2009 в популяциях свиней в Казахстане и необходимости дальнейших мониторинговых исследований возбудителей с целью своевременного выявления этиологического агента эпизоотии в животноводческих хозяйствах.

Ключевые слова: вирус, грипп, антиген, сыворотка, антитело, мониторинг, циркуляция.

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Ongarbayeva N.S.[1,2*], Klivleyeva N.G.[1], Saktaganov N.T.[1],
Kalkozhayeva M.K.[1], Glebova T.I.[1], Lukmanova G.V.[1], Baimukhametova A.M.[1],
Mustafin M.K.[3], Yerdenov Sh.G.[4], Mustafin B.M.[4], Ospanov G.Kh.[5], Webby R.J.[6]

[1]LLP Scientific Production Center for Microbiology and Virology,
Kazakhstan, Almaty, e-mail: nuray.syrlybay@gmail.com
[2]al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty
[3]A. Baytursynov Kostanay State University, Kostanay
[4]Kostanay Research Veterinary Station, Kostanay
[5]Government agency «Abay District Territorial Inspection of the Committee of Veterinary Control and Supervision of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan», Kazakhstan, Karaganda region
[6]St Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA

Influenza virus circulation in swine populations in various regions of the Republic of Kazakhstan (2018 – 2019)

In 2018 – 2019, 1104 nasopharyngeal swabs and 39 blood serums were collected from 2-6- month-old swine in peasant livestock farms located in seven regions of the Republic of Kazakhstan.

Virological examination of 1104 samples in the polymerase chain reaction has resulted in the discovery of the genetic material of influenza A viruses in 26 biological samples (2.36% of the total number of examined swine). When subtyping RNA, influenza A/H1N1 virus was identified in 1.45% of samples, A/H3N2 in 0.54% of cases, A/H1sw2009 in 0,36% of samples.

As a result of virological studies, three isolates from the North Kazakhstan oblast have been obtained from biological samples in chicken embryos that were identified as influenza A/H1N1 viruses in RT-PCR, HAI and NAI assays.

Serological studies of 39 blood serums in the hemagglutination inhibition assay have established that one sample (2.56% of the total number of examined serums) was positive for influenza A swine/Iova/15/30 (HSW1N1) virus, the antibody titer was 1:40. In three animal serums (7.69%), antibodies in the titers of 1:20-1:40 were detected against influenza A/California/ 04/09 virus (A/H1N1pdm). Nine serums (23.08%) were positive for A/Panama/2007/99(H3N2) virus with anti-hemagglutinin titers of 1:20-1:40.

An enzyme immunoassay of 39 serums in six samples (15.38% of cases from the total number of examined samples) has revealed antibodies against A/H3N2 influenza virus.

The results obtained during screening of biosamples in the polymerase chain reaction, hemagglutination inhibition assay, and enzyme immunoassay indicate the co-circulation of influenza viruses A/H1N, A/H3N2 and A/H1sw2009 in swine populations in Kazakhstan and the need for further monitoring studies of pathogens in order to timely detect the etiological agent of animal epizootic in livestock farms.

Key words: virus, influenza, antigen, serum, antibodies, monitoring, circulation.

Онгарбаева Н.С.[1,2*], Кливлеева Н.Г.[1], Сактаганов Н.Т.[1],
Қалқожаева М.Қ.[1], Глебова Т.И.[1], Лукманова Г.В.[1], Баймухаметова А.М.[1],
Мустафин М.К.[3], Ерденов Ш.Г.[4], Мустафин Б.М.[4], Оспанов Г.Х.[5], Вебби Р.Дж.[6]

[1]«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: nuray.syrlybay@gmail.com
[2]әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.
[3]А. Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті, Қазақстан, Қостанай қ.
[4]Қостанай ғылыми-зерттеу ветеринария станциясы, Қазақстан, Қостанай қ.
[5]»Қазақстан Республикасы ауыл шаруашылығы министрлігінің ветеринариялық бақылау және қадағалау комитетінің Абай аудандық аумақтық инспекциясы» мемлекеттік мекемесі,
Қазақстан, Қарағанды облысы
[6]Әулие Яhуда атындағы балалар зерттеу емханасы, АҚШ, Мемфис

Қазақстан Республикасының әртүрлі аумақтарындағы шошқа популяциясы арасындағы тұмау вирус айналымы (2018-2019 ж.)

2018-2019 жылдар аралығында Қазақстан Республикасының жеті облысындағы шошқа шаруашылықтарындағы 2-6 айлық жануарлардан 1104 танау-мұрын сынамасы және 39 қан сарысуы жиналды.

1104 сынаманы полимеразды тізбекті реакциясында вирусологиялық зерттеу кезінде 26 сынамада (2,36%) А тұмау вирусының генетикалық материалы анықталды. Субтиптеу кезінде А/H1N1 тұмау вирусы 1,45% сынамада, A/H3N2 тұмау вирусы 0,54% сынамада, ал A/H1sw2009 тұмау вирусы 0,36% анықталды.

Вирусологиялық зерттеулер нәтижесінде Солтүстік-Қазақстаннан жиналған биосынамалардан, РТ-ПТР-ында, ГАТР және НБИР-ында A/H1N1 тұмау вирусы болып анықталған үш изолят тауық эмбриондарында бөлініп алынды.

39 қан сарысуын гемагглютинин тежеу реакциясында серологиялық зерттеу нәтижесінде бір (2,56%) сынама титрі 1:40 арақатынасында A/swine/Iova/15/30 (H_{SW}1N1) тұмау вирусына оң нәтиже берсе, үш сынама (7,69%) қан сарысуында титрі 1:20-1:40 арақатынасындағы A/California/04/09 (A/H1N1pdm) тұмау вирусына оң нәтиже көрсетті. A/Panama/2007/99 (H3N2) тұмау вирусына титрі 1:20-1:40 арақатынасында 9 қан сарысуына оң нәтиже берді.

Қан сарысуларын иммуноферментті талдауда алты сынамада (15,38%) A/H3N2 тұмау вирусының антиденелері анықталды.

Биосынамалардан полимеразды тізбекті реакциясында, гемаглютинин тежеу реакциясында, сонымен қоса иммуноферментті талдауда алынған нәтижелер Қазақстандағы шошқа популяциясы айналымы A/H1N1, A/H3N2 және A/H1sw2009 тұмау вирустары болғандығын айқындайды және жануарлар арасындағы эпизотияның этиологиялық агентін уақытылы анықтау үшін мониторинг зерттеулер жұмысын жүргізу керектігін көрсетеді.

Түйін сөздер: вирус, тұмау, антиген, қан сарысуы, антидене, мониторинг, айналым.

Введение

Вирусы гриппа типа А являются уникальными среди возбудителей инфекционных заболеваний как людей, так и целого ряда млекопитающих (лошадей, свиней, китов, тюленей и т.д.) и птиц [1, 2], характеризуются высокой антигенной гетерогенностью поверхностных белков и представлены, согласно номенклатуре, 18 подтипами гемагглютинина (HA1-HA18) и 11 нейраминидазы (NA1- NA11). Подтипы вирусов с 16 известными сочетаниями поверхностных белков выделены только от диких птиц водного и околоводного комплексов (уток, чаек и т.д.), являющихся их природным резервуаром. Среди других животных циркулируют лишь вирусы с определенным набором поверхностных белков.

Вирусы гриппа являются широко распространенным и эпидемиологически значимыми возбудителями респираторного заболевания у свиней. Грипп свиней (инфлюэнца свиней, энзоотическая бронхопневмония) – высококонтагиозная, остро протекающая болезнь, характеризующаяся резко выраженной лихорадкой, общей слабостью и поражением органов дыхания, сопровождающимся кашлем, чиханием, и выделением назальной слизи. Вирус гриппа свиней может вызывать заболевание у людей и, наоборот, установлена возможность заражения свиней вирусом гриппа человека [3-5].

В настоящий момент у свиней выделяют семь основных подтипов вируса гриппа А: H1N1, H1N2, H3N2, H3N1, H4N6, H5N1 и H9N2. Однако наиболее распространенными среди них являются три подтипа вируса гриппа А: H1N1, H3N2 и H1N2. Подтип H1N1 считают классическим свиным гриппом, известным с 1918 г. [6]. Клинические проявления заболевания могут присутствовать в стаде несколько недель, по мере распространения вируса от свиньи к свинье внутри популяции. На течение и тяжесть заболевания свиней гриппом могут влиять ко-инфекционные агенты, возраст животных, общее состояние здоровья и иммунного статуса [5, 8, 9].

Эпизоотическая ситуация по гриппу свиней имеет большое социальное значение в связи со способностью вируса к реассортации и возникновению штаммов, высокопатогенных для людей.

Пандемии гриппа, возникшие в различные временные интервалы XX века, разнились по своей тяжести, от легких до катастрофических. К ним можно отнести пандемию Испанского гриппа H1N1 («испанки») 1918 г., унесшего по разным данным от 20 до 50 миллионов жизней людей по всему миру. Пандемия 1957 г. (Азиатский грипп) и 1968 г. (Гонконгский грипп) унесли 1 и 0,5 миллиона жизней людей по всему миру, соответственно [1, 7-9].

Эпизоотическая ситуация по гриппу обострилась после заболевания и гибели людей от «нового» вируса гриппа свиней типа А, начавшегося в апреле 2009 г. в Мексике [4, 11]. Генетический анализ этого вируса показал, что он произошел от комбинированных Североамериканского и Евроазиатского вирусов гриппа свиней [5-7].

Эпизоотии гриппа среди свиней представляют серьезную проблему в Республике Казахстан. Так, при вирусологическом обследовании поросят с клиническими признаками респираторных заболеваний в свиноводческих хозяйствах Восточного Казахстана в 1984г. изолировано три штамма вируса гриппа A/H1N1 [12], в 2008 – 2009 гг. в крестьянских хозяйствах республики от свиней разных возрастов выделено девять изолятов, из которых четыре имели антигенную формулу A(H1N1), один – A(HswN1) и четыре – A/H3N2. Серологический анализ, проведенный для ретроспективного подтверждения этиологической роли вирусов гриппа, показал наличие у

животных антител к вирусам гриппа A/H1N1; A/HswN1 и A/H3N2 [13, 14].

При вирусологическом исследовании 258 носоглоточных смывов, собранных в период 2014-2016 гг. от свиней в крестьянских животноводческих хозяйствах Северо-Казахстанской и Костанайской областей, на куриных эмбрионах (КЭ) выделено семь гемагглютинирующих агентов, пять из которых идентифицированы в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и реакции ингибиции нейраминидазной активности (РИНА) как вирусы гриппа A(H1N1) [15]. Данные первичного скрининга носоглоточных смывов в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РТ-ПЦР) и идентификации выделенных от свиней изолятов в РТГА и РИНА, свидетельствовали о циркуляции в 2017 г. среди свинопоголовья Северного Казахстана вирусов гриппа A/H1N1 и A/H3N2 [16, 17].

Эпизоотии среди животных имеют большое социально-экономическое значение, так как свиньи могут инфицироваться как «птичьими», так и «человеческими» штаммами вируса гриппа, создавая условия для возникновения реассортантов [3-5]. Одним из таких реассортантов является вирус гриппа A/Калифорния/04/09(H1N1) pdm, включающий гены вирусов европейской и американской линий свиней, вируса гриппа птиц и человеческого вируса. Вирус гриппа A(H1N1) pdm2009 вызвал пандемию во многих странах, в том числе и в Казахстане [18, 19]. Это обстоятельство определяет значимость вируса гриппа свиней не только для ветеринарных служб, но и для органов здравоохранения.

Целью настоящего исследования являлось изучение особенностей циркуляции вирусов гриппа в популяции свиней в различных регионах Казахстана в 2018-2019 гг.

Материалы и методы исследования

Сбор биопроб (носоглоточные смывы и сыворотки крови) проводили от свиней 2-6 месячного возраста в крестьянских животноводческих хозяйствах, расположенных в Актюбинской, Алматинской, Карагандинской, Восточно-Казахстанской, Северо-Казахстанской, Павлодарской и Костанайской областях РК в 2018-2019 гг. Носоглоточные смывы собирали стерильными ватными тампонами, которые погружали в 2 мл транспортной среды 199 с 0,5% бычьим сывороточным альбумином и комплексом антибиотиков (пенициллин 50 000 ед/мл, стрептомицин 50 мкг/мл, гентамицин 3 000 мкг/мл, нистатин 5 000 ед/мл). Пробы выдерживали в течение суток при 4°С и хранили в жидком азоте (-196ºС). На рисунке 1 представлены места сбора биологических проб от животных.

– точки отбора вирусологических проб

Рисунок 1 – Места сбора биологических проб у животных

Кровь брали из хвостовой или ушной вены в вакуумную пробирку с разделительным гелем и хранили в штативе в вертикальном положении при температуре 2-4°С [20].

Первичный скрининг носоглоточных смывов в РТ-ПЦР осуществляли на амплификаторе RotorGene (Германия) с применением наборов «РИБО – преп», «АмплиСенс® Influenzavirus A/B-FL» и «АмплиСенс® Influenzavirus А-тип -FL». Идентификацию подтипов вирусов гриппа проводили с использованием наборов «АмплиСенс® Influenza virus A/H1-swine-FL» и «АмплиСенс® Influenza virus А-тип-Н5, Н7, Н9-FL», производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва [21].

Изоляцию гемагглютинирующих агентов (ГАА) проводили на культуре клеток MDCK с добавлением ТРСК – трипсина (2 мкг/мл) и 9-11 дневных развивающихся КЭ. Для индикации вируса в реакции гемагглютинации использовали 0,75% взвесь эритроцитов петуха и человека 0 (I) группы крови.

Инфекционную активность изолятов определяли по общепринятому методу [22] и выражали в lg ЭИД50/0.2 мл и lg ТЦИД50/0.2 мл.

Идентификацию вирусов проводили в РТГА и РИНА с наборами поликлональных диагностических сывороток, согласно рекомендациям ВОЗ [24].

Уровень специфических антител к вирусам гриппа в сыворотках крови определяли в РТГА и иммуноферментном анализе (ИФА). РТГА проводили с использованием референсных штаммов: *A/California/04/09 (H1N1)v*, *A/Wisconsin/67/05 (H3N2)*, *A/USA/1976/31 (Hsw1N1)*, *A/New Jersey/8/76 (H1N1)* и *A/swine/Iowa/15/30 (Hsw1N1),* ИФА – тест-системам производства ООО «ППДП» (Россия, г. Санкт-Петербург) к вирусам гриппа А(H1N1) и А(H3N2).

Результаты и обсуждение

Для изучения циркуляции вирусов гриппа в популяциях свиней из животноводческих хозяйств различных регионов Казахстана получено 1143 биопробы. Сбор носоглоточных смывов провели в Актюбинской (98), Алматинской (312), Карагандинской (137), Восточно-Казахстанской (154), Северо-Казахстанской (183), Павлодарской (62) областях. В Костанайской области собрано 197 биопроб (158 носоглоточных смывов и 39 сывороток крови).

Характеристика, собранного материала и скрининг носоглоточных смывов в РТ-ПЦР представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, при первичном скрининге 1104 носоглоточных смывов, собранных от свиней, РНК вируса гриппа А обнаружена в 26 биопробах (2,36% от общего числа проб). При субтипировании РНК вирусов гриппа А/H1N1 выявлена в 16 пробах (1,45%), А/H3N2 – в шести образцах (0,54%), А/H1sw2009 – в четырех образцах (0,36%). Все ПЦР положительные пробы на вирус гриппа А/H1N1 и А/H3N2 получены из Актюбинской, Алматинской, Карагандинской, Костанайской и Северо-Казахстанской областей. В двух областях (Восточно-Казахстанская и Павлодарская) выявлена РНК вируса гриппа А/H1sw2009. РНК субтипов Н5, Н7 и Н9 вирусов гриппа А не выявлена.

Таблица 1 – Характеристика биоматериалов и скрининг носоглоточных смывов, собранных от свиней в различных регионах Республики Казахстан в 2018-2019 гг., в РТ-ПЦР

Место сбора носоглоточных смывов	Количество смывов	Количество ПЦР – положительных проб к вирусам гриппа				
		Тип А	H1N1	H3N2	H1N1 (sw2009)	H5, H7, H9
Актюбинская область	98	3	2	1	-	-
Алматинская область	312	4	3	1	-	-
Карагандинская область	137	2	2	-	-	-
Костанайская область	158	3	1	2	-	-
Северо-Казахстанская область	183	10	8	2	-	-
Восточно-Казахстанская область	154	2	-	-	2	-
Павлодарская область	62	2	-	-	2	-
Всего:	1104	26	16	6	4	-
Примечание: « – » получены отрицательные результаты						

Таким образом, результаты первичного скрининга носоглоточных смывов в РТ-ПЦР указывают на циркуляцию среди свинопоголовья различных регионов Казахстана вирусов гриппа A/H1N1 и A/H3N2. Скрининг носоглоточных смывов, собранных в популяциях свиней Восточночно-Казахстанской и Павлодарской областей, свидетельствуют о циркуляции в этих регионах вируса гриппа H1N12009pdm.

В результате первичного заражения и последовательных пассажей на КЭ и культуре клеток MDCK из ПЦР положительных проб, полученных из Северо-Казахстанской области в 2018 г., выделено три ГАА (1/18, 2/18 и 3/18).

В таблице 2 представлены гемагглютинирующая и инфекционная активности трех изолятов.

Как видно из таблицы 2 гемагглютинирующая и инфекционная активности выделенных изолятов на КЭ составили 1:512 – 1:1024 и 6,5 – 7,98 lg ЭИД50/0,2мл, на культуре клеток MDCK: 1:16 – 1:32 и 3,91 – 5,53 lgТЦИД50/0.2мл, соответственно.

Таблица 2 – Титры гемагглютинации казахстанских изолятов вирусов гриппа, выделенных от свиней в 2018г., в РГА и их инфекционная активность

Изолят	Титр РГА		Инфекционная активность	
	Куриные эмбрионы	Культура клеток MDCK	Куриные эмбрионы, lg $ЭИД_{50/0,2мл}$	Культура клеток MDCK, lg$ТЦИД_{50/0.2мл}$
А/Свинья/Петропавловск/01/18	1:1024	1:32	6,5	4,22
А/Свинья/Петропавловск/02/18	1:1024	1:32	7,82	3,91
А/Свинья/Петропавловск/03/18	1:512	1:16	7,98	5,53

Результаты определения подтипа гемагглютинина трех изолятов вируса гриппа в РТГА представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, гемагглютинирующая активность свинных изолятов от 1/4 до 1/8 гомологичных титров подавлялась иммунной сывороткой к эталонному вирусу с антигенной формулой A/Hsw1N1. С сыворотками к вирусам гриппа A/H1N1pdm и A/H3N2 получены отрицательные результаты, что указывает на принадлежность ГАА, выделенных от свиней, к вирусу гриппа А с подтипом гемагглютинина Н1.

Таблица 3 – Результаты идентификации подтипа гемагглютинина казахстанских изолятов вирусов гриппа, выделенных от свиней в 2018 г., в реакции торможения гемагглютинации

Иммунная сыворотка к референсным штаммам	Титры антигемагглютининов к изолятам			
	Гомологичные титры	А/свинья/ Петропавловск/01/18	А/свинья/ Петропавловск/02/18	А/свинья/ Петропавловск/03/18
A/California/07/09 (H1N1) pdm	40	<20	<20	<20
A/Wisconsin/67/05 (H3N2)	320	<20	<20	<20
A/USA/1976/31 (Hsw1N1)	640	160	160	40
A/New Jersey/8/76 (H1N1)	640	40	80	20
A/swine/Iowa/15/30 (Hsw1N1)	640	80	80	160
Примечания: даны обратные величины титров специфических антигемагглютининов				

Идентификация подтипа нейраминидазы североказахстанских изолятов вируса гриппа А в РИНА представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Идентификация подтипа нейраминидазы казахстанских изолятов вирусов гриппа, выделенных от свиней в 2018 г. в реакции ингибиции нейраминидазной активности

Изолят	Титр антинейраминидазных антител к иммунным сывороткам к вирусам	
	H1N1	H3N2
А/Свинья/Петропавловск/01/18	100	< 20
А/Свинья/Петропавловск/02/18	100	< 20
А/Свинья/Петропавловск/03/18	100	< 20

Из таблицы 4 видно, что нейраминидазная активность всех изолятов вирусов гриппа в титрах 1:100 подавлялась иммунной поликлональной сывороткой к вирусу гриппа А (H1N1).

Таким образом, по результатам РТГА и РИНА изоляты 2018 г., выделенные из проб, собранных в Северо-Казахстанской области, отнесены к вирусам гриппа А с антигенной формулой H1N1.

На рисунке 2 представлены результаты исследования в РТГА 39 сывороток крови, собранных от свиней в Костанайской области. Установлено, что одна проба (2,56% от общего количества исследованных сывороток) оказалась положительной к вирусу гриппа *A/swine/Iova/15/30 (H_{SW}1N1)*, титр составил 1:40. В трех сыворотках крови животных (7,69%) антигемагглютинины выявлены к вирусу гриппа *A/California/04/09 (A/H1N1pdm)*. К вирусу *A/Panama/2007/99 (H3N2)* позитивными оказались девять сывороток крови (23,08%). Титры антител составили 1:20-1:40.

На рисунке 3 представлены результаты серологического анализа в ИФА 39 сывороток крови, собранных от свиней в Костанайской области.

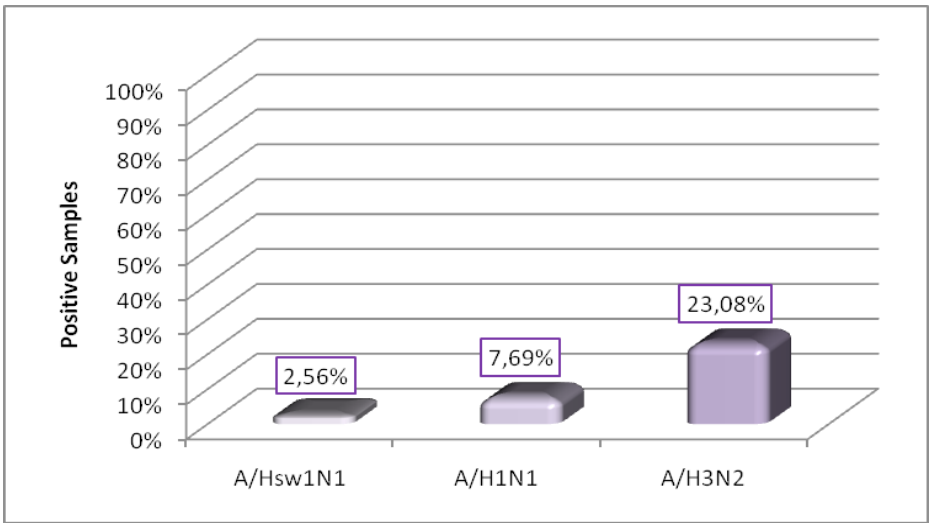


Рисунок 2 – Результаты серологического анализа сывороток крови свиней в РТГА

Установлено, что шесть образцов (15,38% случаев от общего числа обследованных проб) оказались серопозитивными к вирусу гриппа А/H3N2. К вирусам гриппа A/Hsw1N1 и A/H1N1 получены отрицательные результаты.

Таким образом, серологические исследования 39 сывороток крови в РТГА и ИФА подтвердили циркуляцию в популяции свиней в Костанайской области вирусов гриппа A/H1N1 и A/H3N2.

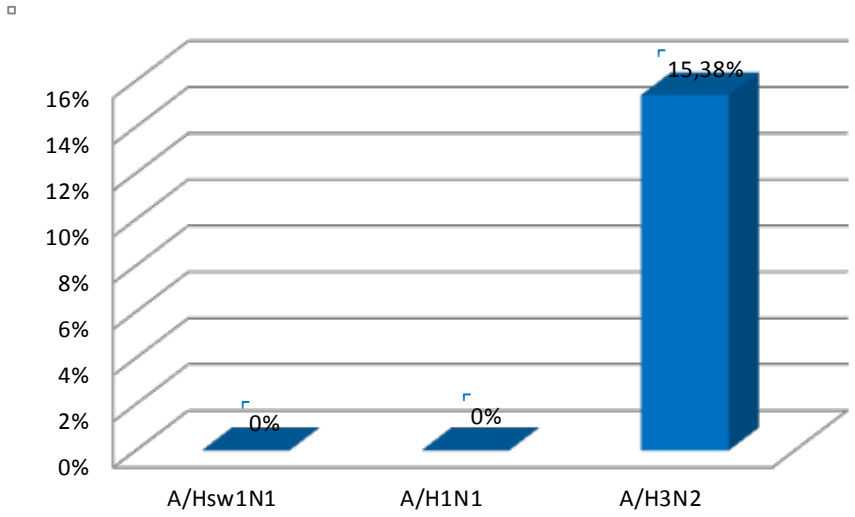


Рисунок 3 – Результаты серологического анализа сывороток крови свиней в ИФА

Заключение

Популяции свиней играют важную роль в эволюции вирусов гриппа А и их считают подходящим «сосудом для смешивания» вирусов от разных хозяев. Имеющиеся данные о существовании в организме свиней клеточных рецепторов для вирусов гриппа млекопитающих, человека и птиц, объясняют факты трансмиссии вирусов гриппа А от человека и птиц к свиньям и обратно [25]. Неоднократно показано, что вирус гриппа свиней может инфицировать людей, а также передаваться от свиньи к свинье как внутри единичного хозяйства, так и между различными животноводческими комплексами, расположенными в одном регионе [26]. Доказательством этого явилась эпизоотия гриппа свиней, возникшая в пригороде Мехико в марте 2009 г., во время которой был выделен A/California/04/09 (A/H1N1pdm). Этот вирус оказался способным инфицировать людей и передаваться от зараженных лиц контактным людям сначала в г. Мехико, а уже в апреле 2009 г. распространился в США и Канаде, а затем и в других странах всех континентов, в том числе и в Казахстане. Имеются сведения о спорадических случаях выделения классического вируса гриппа свиней от больных людей, не контактировавших со свиньями в Швейцарии и Нидерландах.

Большое значение для изучения циркуляции вируса гриппа свиней имеет также серологический анализ, позволяющий по факту накопления антител определить этиологию возбудителя. Из данных литературы известно, что антитела к вирусу гриппа обнаруживают в среднем у 25% свиней по всему миру [27], кроме северных и центральных районов США, где доля серопозитивных к гриппу особей достигает 51% [28]. Результаты, полученные в Казахстане как ранее [26, 29-32], так и в представленной работе, близки к общемировым показателям. Значительные отличия полученных данных от результатов, регистрируемых у свиней в Соединенных Штатах, по всей видимости, связаны с преобладанием стойлового разведения животных и отсутствием в практике казахстанского свиноводства перегонов стад животных на большие расстояния, что свойственно свиноводческой отрасли США [32].

В ходе проведенных вирусологических и серологических исследований установлено, что в ряде казахстанских свиноводческих хозяйств циркулируют вирусы гриппа А с антигенными формулами H1N1 и H3N2, что свидетельствует о необходимости постоянного надзора за их циркуляцией среди поголовья свиней в различных регионах Республики Казахстан для своевременного прогнозирования эпизоотических и эпидемических вспышек, и проведения профилактических мероприятий по предотвращению пандемий.

Выводы

1. В крестьянских животноводческих хозяйствах, расположенных в Актюбинской, Алматинской, Карагандинской, Восточно-Казахстанской, Северо-Казахстанской, Павлодарской и Костанайской областях РК от свиней 2-6

мес. возраста собрано 1143 биопробы: 1104 носоглоточных смыва и 39 сывороток крови.

2. Первичный скрининг 1104 носоглоточных смыва в РТ-ПЦР указывает на социркуляцию в популяциях свиней различных регионов Казахстана вирусов гриппа A/H1N1, A/H3N2 и A/H1sw2009.

3. При серологическом исследования сывороток крови, собранных в эпидемический сезон 2018-2019 гг. от свиней в Костанайской области, в РТГА и ИФА установлена социркуляция вирусов гриппа A/H3N2 и A/H1N1.

4. В результате вирусологических исследований из биологичеких проб на КЭ выделены три изолята из Северо-Казахстанской области, идентифицированые в РТ-ПЦР, РТГА и РИНА как вирусы гриппа A/H1N1.

Конфликт интересов. Авторы не имеют конфликта интересов.

Благодарности. Авторы статьи выражают особую признательность руководителю Государственного Учреждения «Северо-Казахстанская областная территориальная инспекция комитета ветеринарного контроля и надзора министерства сельского хозяйства Республики Казахстан» Сырымбету Сериковичу Рахметову, руководителю Государственного Учреждения «Павлодарская областная территориальная инспекция комитета ветеринарного контроля и надзора министерства сельского хозяйства Республики Казахстан» Рашиду Маденовичу Нурбекову, руководителю Государственного Учреждения «Восточно-Казахстанская областная территориальная инспекция комитета ветеринарного контроля и надзора министерства сельского хозяйства Республики Казахстан» Кадесу Ашоковичу Челекенову.

Работа выполнена в рамках государственного гранта Комитета Науки Министерства Образования и Науки Республики Казахстан № AP05130989: «Молекулярно-генетическая изменчивость вирусов гриппа свиней в Казахстане».

Литература

1 Lvov D.K. Influenza A viruses a sum of populations with a common protected gene pool // Sov. Med. Rev. Virol. – 1987. – V. 2. – P. 15-37.

2 Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T. et al. Evolution of ecology of influenza A viruses // Microbiol. Rev. – 1992. – V. 56. – P. 152-179.

3 Tran G.M.K., Gerbaud L., Caprani A.C. 66. Scorpion model of Influenza A(H1N1). ISHEID Conf 2010, Toulon France.Poster P168, Internet.

4 Грипп A/H1N1: особенности перехода от животного к человеку: Информационный бюллетень ИНФОСАН No. 2/2009. http://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_02_influenza_Apr09_ru_rev1.pdf.

5 Кукушкин С.А., Байбиков Т.З., Каньшина А.В., Челышева М.В. Грипп свиней (эпизоотология, диагностика, меры борьбы и профилактики) // Ветеринария.- 2009. – № 9. – С. 3-7.

6 Деева Э.Г. Грипп. На пороге пандемии. – М.: ГЕОТАР-Медиа. – 2008. – С. 16-44.

7 Каверин Н.В., Смирнов Ю.А. Межвидовая трансмиссия вирусов гриппа А и проблема пандемий // Вопросы вирусологии. – 2003. – №3. – С. 4-10.

8 Соловьев Б.В. Грипп: современные представления – Вет. жизнь.- 2006.- № 7-8 (апрель).- С. 14-15.

9 Hause B. M., Oleson T. A., Bey R. F., et al. Antigenic categorization of contemporary H3N2 swine influenza virus isolates using a high-throughput serum neutralization assay // J. Vet. Invest.- 2010.- Vol. 22.- P. 352-359.

10 Brown I.H. The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs // Vet. Microbiol.- 2000.- Vol.- 74.- P.- 29-46.

11 Neumann N., Noda T., Kawaoka Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus // Nature. – Vol. 459. – 2009. – P. 931–939.

12 Лаптев С.В., Ямникова С.С., Саятов М.Х. и др. Изучение биологических и антигенных свойств вирусов гриппа А(H1N1), выделенных от свиней в Восточном Казахстане // Известия АН КазССР.- 1987.- № 2.- С. 55-58.

13 Кузнецова Т.В., Шаменова М.Г., Баймаханова Б.Б. и др. Мониторинг циркуляции вируса гриппа А среди свиней в восточном Казахстане // Ветеринария.- 2009.- № 5(9).- С. 52-54.

14 Ишмухаметова Н.Г. «Свиной грипп» А(H1N1) и его распространение среди людей // Доклады НАН РК. – 2013. – № 4.- С. 96-101.

15 Кливлеева Н.Г., Сактаганов Н.Т., Глебова Т.И. и др. Обнаружение вирусов гриппа А(H1N1) у людей и свиней в регионе северного Казахстана в 2014-2016 гг. // Известия НАН РК.- 2017.- № 5 (323).- С. 106-114.

16 Онгарбаева Н.С., Сактаганов Н.Т., Калкожаева М.К и др. Циркуляция вируса гриппа A/H1N1 среди людей и свиней в северном и западном Казахстане в 2017-2018 гг. // The Central Asian Scientific-practical Journal on Public Health. – 2018. – № 2 (59). – С. 112-115.

17 Кливлеева Н.Г., Глебова Т.И., Байсейіт С.Б. и др. Выявление вирусов гриппа, циркулирующих среди свиней в различных регионах Казахстана в весенний период 2018 г. // Микробиология және вирусология. – 2018. – №3(22). – С. 89-96.

18 Гендон Ю.З. Свиной грипп H1N1/Калифорния – страсти и факты // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2010. – № 4. – С. 105-114.

19 Икранбегийн Р., Кузнецова Т.В., Грудинин М.П. и др. Молекулярно-генетические свойства пандемического вируса H1N1v, циркулировавшего на территории Казахстана (2009-2010) // Вестник НГУ. – 2012. – Т. 10 (3). – С. 80-86.

20 Мейер, Д. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика /Д. Мейер, Дж. Харви // Перевод с англ. – М.: Софион, 2007. – 456 с.

21 Hoffmann E, Stech J, Guan Y et. al.Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. // Arch Virol. – 2001. – 146 (12). – P. 2275-89.

22 Reed L.J., Muench H.A. A simple method of estimation fifty percent andpoints // American Journal of tropical medicine and Hygiene. – 1938. – V. 27. – P. 493-497.

23 Douwdal W.A., Kendal A., Noble G.R. Influenza virus: Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infection. – Washington, 1979. – P. 585-609.

24 Jong J.C., Paccaud M.H., Ronde-Veploop J.M et.al. «Isolation of swine – like influenza A(H1N1) viruses from man in Switzerland and Netherlands. // Ann. Inst. Pasteur Virol. – 1988. – V. 139. – № 4. – P. 429-437.

25 Leuwerke B., Kitikoon P., Evans R., Thacker E. Comparison of three serological assays to determine the cross-reactivity of antibodies from eight genetically diverse U.S. Swine influenza viruses. // J. Vet. Diagn. Invest. – 2008. – V. 20. – P. 426-432.

26 Лукманова Г.В., Кливлеева Н.Г., Шаменова М.Г. и др. Серологический анализ циркуляции вирусов гриппа А среди свиней в Казахстане в 2013-2014 гг. // Ветеринария. – 2016. – №1 (45). – С. 61-63.

27 Методические указания по обнаружению вируса гриппа свиней типа А методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.- Владимир: ООО «Транзит-ИКС», 2009.

28 Свиной грипп у свиней: Факты http://www.eurolab.ua/flu/2126/15843/. 03.06.2019

29 Kuznetsova T.V., Shamenova M.G., Glebova T.I. et al. Serodiagnostic testing of influenza virus in pigs in Northern Kazakhstan // Journal of Central Asian Health Service Research. – 2014. – № 1. – P. 22-26.

30 Klivleeva N.G., Glebova T.I., Kuznetsova T.V. et al. Virological Monitoring of Influenza Virus Circulation in Swine Population in The Republic of Kazakhstan // World Congress on Controversies, Debates & Consensus in Veterinary Medicine. – Prague. – 2014. – P. 79-80.

31 Лукманова Г.В., Кливлеева Н.Г., Шаменова М.Г. и др.. Серологический мониторинг циркуляции вирусов гриппа А в популяции свиней в Казахстане (2013-2014 гг.) // Межд. науч. журнал. – Киев, 2015. – № 6. – С. 9.

32 Лагер К. Актуальные вирусные болезни свиней // Материалы семинара «Проблемы инфекционной патологии свиней»: XVIII Московский Междунар. Ветеринарный Конгресс. – Москва, 2010. – С. 12-18.

References

1 Brown I.H. (2000) The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. Vet. Microbiol, vol. 74, pp. 29-46.

2 Deeva Je.G. (2008) Gripp. Na poroge pandemii [Influenza. On the verge of a pandemic]. – M.: GEOTAR-Media. pp. 16-44.

3 Douwdal W.A., Kendal A., Noble G.R. (1979) Influenza virus: Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infection. Washington, pp. 585-609.

4 Gendon Ju.Z. (2010) Svinoj gripp N1N1/Californija – strasti i fakty [H1N1 Swine Influenza / California – Passions and Facts]. Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology, no 4, pp. 105-114.

5 Hause B. M., Oleson T. A., Bey R. F. et al. (2010) Antigenic categorization of contemporary H3N2 swine influenza virus isolates using a high-throughput serum neutralization assay. J. Vet. Invest, vol. 22, pp. 352-359.

6 Hoffmann E, Stech J, Guan Y et. al. (2001) Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. Arch Virol.- 146 (12), pp. 2275-89.

7 Ishmuhametova N.G. (2013) «Svinoi gripp» A(N1N1) i ego rasprostranenie sredi ljudej [«Swine influenza» A (H1N1) and its distribution among men]. Reports of National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, no 4, pp. 96-101.

8 Informacionnyj bjulleten' INFOSAN No. 2/2009 – «A/H1N1 Influenza: characteristics of the transmission from animal to human» http:. www.who.int/foodsafety/fs_management/No_02_influenza_Apr09_ru_rev1.pdf.

9 Ikranbegijn R., Kuznetsova T.V., Grudinin M.P. et.al. (2012) Molekuljarno-geneticheskie svojstva pandemicheskogo virusa N1N1v, cirkulirovavshego na territorii Kazahstana (2009-2010) [Molecular genetic properties of pandemic H1N1v virus circulating in the territory of Kazakhstan (2009-2010)]. Vestnik NGU, vol. 10 (3), pp. 80-86.

10 Jong J.C., Paccaud M.H., Ronde-Veploop J.M et.al. (1988) «Isolation of swine – like influenza A(N1N1) viruses from man in Switzerland and Netherlands. Ann. Inst. Pasteur Virol, vol. 139, no 4, pp. 429-437.

11 Kaverin N.V., Smirnov Yu. A. (2003) Mezhvidovaya transmissiya virusov grippa A i problema pandemiy [An interspecies transmission of influenza A viruses and pandemics]. Problems of virology, no 3, pp. 4-10.

12 Kuznetsova T.V., Shamenova M.G., Baymakhanova B.B. et.al. (2009) Monitoring cirkuljacii virusa grippa A sredi svinej v Vostochnom Kazahstane [Monitoring of circulation of influenza A virus among pigs in East and Northern Kazakhstan]. Veterinarija, no5(9), pp. 52-54.

13 Kuznetsova T.V., Shamenova M.G., Glebova T.I. et al. (2014) Serodiagnostic testing of influenza virus in pigs in Northern Kazakhstan. Journal of Central Asian Health Service Research, no 1, pp. 22-26.

14 Klivleyeva N.G., Saktaganov N.T., Glebova T.I. et.al. (2017) Obnaruzhenie virusov grippa A(N1N1) u ljudej i svinej v regione severnogo Kazahstana v 2014-2016 gg. [Detection of influenza A(H1N1) viruses in humans and pigs in the northern Kazakhstan during 2014–2016]. News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, no 5 (323), pp. 106-114.

15 Klivleyeva N.G., Glebova T.I., Baiseiit S.B. et.al. (2018) Vyjavlenie virusov grippa, cirkulirujushhih sredi svinej v razlichnyh regionah Kazahstana v vesennij period 2018 g. [Detection of influenza viruses circulating among swine in different regions of Kazakhstan during 2018 spring season]. Mikrobiologija zhəne virusologija, no 3(22), pp. 89-96.

16 Klivleyeva N.G., Glebova T.I., Kuznetsova T.V. et al. (2014) Virological monitoring of influenza virus circulation in swine population in the Republic of Kazakhstan. World Congress on Controversies, Debates & Consensus in Veterinary Medicine, Prague, pp. 79-80.

17 Kukushkin S.A., Baibikov T.Z., Kan'shina A.V., Chelysheva M.V. (2009) Gripp svinej (epizootologiya, diagnostika, mery bor'by i profilaktiki) [Swine influenza (epizootology, diagnosis, control and prevention measures)]. Veterinariya, no 9, pp. 3-7.

18 Laptev S.V., Jamnikova S.S., Sayatov M.Kh. et.al. (1987) Izuchenie biologicheskih i antigennyh svojstv virusov grippa A (N1N1), vydelennyh ot svinej v Vostochnom Kazahstane [Study on biological and antigenic properties of influenza A (H1N1) viruses isolated from swine in the East Kazakhstan]. Izvestija AN KazSSR, no 2, pp. 55-58.

19 Lvov D.K. (1987) Influenza A viruses a sum of populations with a common protected gene pool. Sov. Med. Rev. Virol., vol. 2, pp. 15-37.

20 Leuwerke B., Kitikoon P., Evans R., Thacker E. (2008) Comparison of three serological assays to determine the cross-reactivity of antibodies from eight genetically diverse U.S. Swine influenza viruses. J. Vet. Diagn. Invest., vol. 20. pp. 426-432.

21 Lukmanova G.V., Klivleyeva N.G., Shamenova M.G. et al. (2016) Serological analysis of circulation of influenza viruses among swines in Kazakhstan in 2013-2014. Veterinariya, no 1 (45) pp. 61-63.

22 Lukmanova G.V., Klivleyeva N.G., Shamenova M.G. et al. (2015) Serological analysis of circulation of influenza viruses A among swines in Kazakhstan in 2013-2014. International scientific journal, no 6, pp. 9.

23 Lager K. (2010) Aktual'nye virusnye bolezni svinej. Materialy seminara «Problemy infekcionnoj patologii svinej»: XVIII Moskovskij Mezhdunar. Veterinarnyj Kongress.- Moskva, pp. 12-18.

24 Mejer, D. (2007) Veterinarnaja laboratornaja medicina. Interpretacija i diagnostika [Veterinary laboratory medicine. Interpretation and diagnosis] / D. Mejer, Dzh. Harvi . Perevod s angl. – M.: Sofion, p. 456.

25 (2009) Metodicheskie ukazanija po obnaruzheniju virusa grippa svinej tipa A metodom polimeraznoj cepnoj reakcii v rezhime real'nogo vremeni. Vladimir: LLC «Tranzit-IKS»

26 Neumann N., Noda T., Kawaoka Y. (2009) Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. Nature, vol. 459, pp. 931–939.

27 Ongarbayeva N.S., Saktaganov N.T., Kalkozhayeva M.K et.al. (2018) Cirkuljacija virusa grippa A/H1N1 sredi ljudej i svinej v severnom i zapadnom Kazahstane v 2017-2018 gg. [Circulation of A/H1N1 influenza virus among humans and swine in northern and western Kazakhstan during 2017-2018]. The Central Asian Scientific-practical Journal on Public Health, no 2 (59), pp. 112-115.

28 Reed L.J., Muench H.A. (1938) A simple method of estimation fifty percent andpoints. American Journal of tropical medicine and Hygiene, vol. 27, pp. 493-497.

29 Solov'ev B.V. (2006) Gripp: sovremennye predstavlenija. Vet. zhizn'. No 7-8 (April), pp. 14-15.

30 Swine influenza in pigs: Facts http:. www.eurolab.ua/flu/2126/15843/. 03.06.2019

31 Tran G.M.K., Gerbaud L., Caprani A.C. 66. Scorpion model of Influenza A(H1N1). ISHEID Conf 2010, Toulon France. Poster P168, Internet.

32 Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T. et al. (1992) Evolution of ecology of influenza A viruses. Microbiol. Rev., vol. 56, pp. 152-179.

4-бөлім

ЕСЕПТЕГІШ БИОЛОГИЯ

Section 4

COMPUTATIONAL BIOLOGY

Раздел 4

ВЫЧИСЛИТЕЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

МРНТИ 34.35.51 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b8

Мусаева А.С.[1*], Костюк Т.П.[2], Всеволодов Э.Б.[2]

[1]Институт общей генетики и цитологии, Казахстан, г. Алматы, e-mail: aimus_@mail.ru
[2]Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ШЕРСТИ ОВЕЦ В ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ПО СТЕПЕНИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ ТОЧКАХ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Данное исследование является частью более широкой программы изучения воздействия экологических факторов Алматинской области на животных и человека. В качестве загрязненных были выбраны 2 участка местности, где присутствуют устаревшие и разрушенные склады пестицидов (с.Кызыл Кайрат и с.Бескайнар Талгарского района), а в качестве контроля был использован более чистый участок (с.Тауқаратұрық Енбекшиказахского района).

Вредное токсическое действие на людей и животных могут, помимо пестицидов, оказывать и тяжелые металлы, поступающие в организмы людей и животных, о чем можно судить по их накоплению в волосах. Объектом исследования в настоящей работе были наборы накопленных тяжелых металлов, их абсолютная (мг/кг) и относительная (по сравнению с другими металлами) концентрации в шерсти овец в контрольном и загрязненных пестицидами участках. Эти исследования дополняют данные по экотоксикологии изучаемых участков.

Микроэлементный состав волос овец (Pb, Cd, Zn, Cu, Fe, Ni, Co, Mn, Cr) установлен путем минерализации 36 проб шерсти и их анализа с использованием микроволновой системы Минотавр-2, в соответствии с методикой ПУ 12=2009. и атомно-абсорбционного спектрофотометра. МГА-915.

В волосах овец из контрольной зоны концентрация Zn в 13 раз, Cr в 6 раз, а Cd, Co, Pb и Ni в 2-3 раза больше, чем в почве и только содержание Cu в волосах в 3 раза ниже, чем в почве. В почвах загрязненных участков концентрация Zn была больше (в 3-4 раза), чем в контроле. В шерсти овец загрязненных участков концентрация Zn и Cu выше (в 3-4 раза), чем в шерсти контроля, хотя в их почвах концентрация Cu не больше, чем в контроле, т.е. концентрация Cu в почве напрямую не определяет концентрацию в волосах.

Существенные нарушения рангового порядка концентрации металлов в шерсти овец в загрязненной зоне, по сравнению с порядком в контроле, приходятся на Cu и Cd (концентрация выше), а в почве на Cu и Pb (концентрация относительно ниже).

Большие нарушения рангового порядка концентрации металлов в шерсти овец по сравнению с аналогичным порядком в почве тех же участков приходятся на Cu (много в почве и мало в волосах) и Cr (мало в почве, много в волосах) в контроле. В загрязненных участках расхождения рангового порядка для почвы и волос менее значительны и наибольшее приходится на Cu. Таким образом, факторы, определяющие концентрацию Cu в почвах и шерсти, отличаются от факторов, определяющих концентрацию других металлов.

Ключевые слова: содержание тяжелых металлов в шерсти и почвах, относительно чистые местности, местности загрязненные пестицидами, сравнение концентрации разных тяжелых металлов.

Mussayeva A.S.[1*], Kostiuk T.P.[2], Vsevolodov E.B.[2]

[1]Institute of General Genetics and Cytology, Kazakhstan, Almaty, e-mail: aimus_@mail.ru
[2]Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

Heavy metals content in the sheep wool from Almaty region sites of different ecological security

This investigation is the part of more wide research program of Almaty region ecological factors effects on animal and human populations. Two territories were chosen as more polluted, where abandoned and destroyed storages of pesticides are present (Kyzyl Kayrat and Bes Kaynar villages in Talgar district) and more clean territory was used as control (Taukaraturyk village of Enbekshikazakh district).

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Besides pesticides toxical effect on human populations and animals can be produced by heavy metals penetrating into the human and animal organisms. This penetration is confirmed by their accumulation in the sheep wool. The collection of accumulated heavy metals, their absolute (mg/kg) and relative (comparing with other metals) concentrations in the sheep wool from polluted and control territories were the object of this investigation. These data supplement the knowledge about the ecotoxicology of the investigated territories.

Microelements spectrum of sheep wool (Pb, Cd, Zn, Cu, Fe, Ni, Co, Mn, Cr) was studied using mineralization of 36 wool specimens and investigating them by Minotaur-2 microwave system according to PU 12 = 2009 method and atomic absorbtion spectrophotometer MGA-915.

In the sheep wool from the control territory Cd, Co, Pb и Ni concentration is 13 times higher, Cr concentration is 6 times, and Cd, Co, Pb , Ni 2-3 times higher than in the soil, and only Cu concentration in the wool was 3 times lower, than in the soil.

In the soils of polluted territories Zn concentration is 2-4 times higher than in control territory.

In the wool from polluted territories Zn and Cu concentration is higher (3-4 times) than in the wool from control territory, in spite of the fact that in the both polluted soils Cu concentrations was not higher than in control territory soil. So Cu concentra-tion in the soil does not directly determine Cu concentration in the wool.

Serious disturbances of metals concentrations range order in wool from polluted territories comparing with the order in wool from control territory is evident for Cu and Cd (higher concentration in polluted territories) while in the soils range order disturbance is evident for Cu and Pb (lower concentration in polluted territories).

Large disturbances of range order of metals concentrations in the wool comparing with analogous order in soils of the same territories are evident for Cu (high concentration in soil and low in the wool) and for Cr (low concentration in the soil and high in the wool) both in the control territory. In the polluted territories the differences between range orders for the soil and wool were much less and the maximal is evident for Cu. So the factors determining Cu concentration in the soils and wool are unlike the factors of other metals concentrations.

Key words: the content of heavy metals in wool and soils, relatively clean areas, areas contaminated with pesticides, a comparison of the concentrations of different heavy metals.

Мусаева А.С.[1*], Костюк Т.П.[2], Всеволодов Э.Б.[2]

[1]Жалпы генетика және цитология институты, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: aimus_@mail.ru
[2]әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

Алматы облысындағы экологиялық дәрежесі бойынша ерекшеленетін аймақтардағы қой жүніндегі ауыр металдардың құрамын талдау

Ұсынылып отырған жұмыс Алматы облысының қолайсыз экологиялық факторларының адам мен жануарлар ағзасына әсерін зерттеуге бағытталған кең ауқымды ғылыми бағдарламаның бір бөлігі болып табылады. Ластанған нүктелер ретінде бүгінгі күні қолдануға тыйым салынған пестицидтердің қалдықтары сақталған қоймалар шоғырланған елдімекендер алынып отыр: Қызылқайрат, Бесқайнар Талғар ауданы, ал бақылау ретінде салыстырмалы таза жер деп табылған Еңбекшіқазақ ауданындағы Тауқаратұрық ауылы алынды.

Адам мен жануар ағзасына пестицидтермен қатар қоршаған ортадағы және кейбір пестицидтердің құрамындағы ауыр металдар да зиянды уытты әсерін тигізеді, яғни шашта жинақталған ауыр металдардың мөлшері ағзаның улану деңгейін көрсетеді. Зерттеу нысанасы ретінде пестицидтермен ластанған және бақылау орнынан алынған қойлардың жүн үлгілері, жүн талшықтарында жинақталған бірқатар ауыр металдардың абсолютті (мг/кг) және салыстырмалы концентрациясы. Бұл зерттеулер осы аталған аймақтардың экотоксикологиялық жағдайы туралы мәліметтерге қосымша толықтырулар болады.

Қойлардың 36 жүн үлгілерінің микроэлементті құрамы (Pb, Cd, Zn, Cu, Fe, Ni, Co, Mn, Cr) оларды химиялық өңдеу (минерализациялау) жолымен анықталды, талдау ПУ 12 = 2009 әдісіне негізделген Минотавр-2 микротолқынды жүйесі және МГА-915 атомдық-абсорбциялау спектрофотометр көмегімен жүзеге асты.

Бақылау аймағынан алынған қойлардың жүн талшықтарында кейбір ауыр металдар концентрациясы топырақтағымен салыстырғанда жоғары болды: Zn мөлшері 13 есе, Cr 6 есе, ал Cd, Co, Pb және Ni 2-3 есе көп. Тек Cu қой жүнінде топырақтағыға қарағанда 3 есе төмен болды. Ластанған аймақтардағы топырақ құрамындағы Zn мөлшері (3-4 есе) бақылаумен салыстырғанда жоғары болды. Ластанған аймақтардағы қой жүніндегі Zn және Cu мөлшері (3-4 есе) бақылау нүктесінен алынған қой жүнімен салыстырғанда жоғары болды, бірақ топырақтағы Cu мөлшері бақылаудан көп болмады, яғни топырақта құрамы көп болғанымен жүнде де жоғары болады деп күту дәлелденбеді.

Ауыр металдардың концентрациясы бойынша белгілі дәрежемен тізілген қатарын салыстыру жүргізілді. Ластанған аймақтардан алынған жүн құрамындағы концентрацияларды бақылау қатарымен салыстырғанда **Cu мен Cd** (концентрациясы жоғары), ал топырақта **Cu және Pb** (концентрациясы төмен) қатар аясынан тыс болып шықты. Әр нүкте бойынша жүн құрамындағы ауыр металдардың концентрациясы топырақтағы мөлшерімен салыстырылды: бақылау аймағында Cu (топырақта көп, жүнде аз мөлшерде) және Cr (топырақта аз, жүнде көп), ластанған аймақтарда Cu көбінесе әртүрлі концентрацияда болды, басқа ауыр металдар қатары біркелкілік танытты.

Сонымен топырақ пен жүн құрамындағы ауыр металдардың концентрациясын анықтайтын факторлар бір-біріне тәуелді емес, мысалы, Cu мөлшерін көбейтетін факторлар басқа ауыр металдардың мөлшерін жоғарылататын факторлардан ерекше екендігі анықталды.

Түйін сөздер: топырақтағы және жүндегі ауыр металдардың құрамы, салыстырмалы таза аймақтар, пестицидтермен ластанған аймақтар, әртүрлі ауыр металдар концентрациясын салыстыру.

Введение

В числе источников загрязнения среды, встречающихся в Алматинской области, известны заброшенные и разрушившиеся склады хранения разных пестицидов, применявшихся в растениеводстве [1, 2]. Некоторые из пестицидов содержат в своем составе тяжелые металлы [3]. Некоторые тяжелые металлы содержатся в добываемых рудах в Алматинской области рудах. Поэтому представляло интерес сопоставить содержание тяжелых металлов (ТМ) в почвах и в организмах овец (в волосах) с загрязненных участков и в относительно чистом (контрольном) участке. С гигиенических позиций особого внимания заслуживает возможность усиления вредных эффектов при комбинированном воздействии пестицидов и ТМ на организм человека и животных [4-6].

По данным многих исследований, содержание элементов в волосах достоверно отражает длительно существующий избыток одних и недостаток других элементов. *Волосы – это накопитель элементов, причем их концентрация может служить объективным показателем макро-микроэлементной ситуации в организме в целом* [7]. Достоинством метода элементного анализа по волосам является не только высокая информативность, но и полная его неинвазивность (исключается возможность заражения), нетравматичность [8-10].

Какие факторы, в принципе, могут определять содержание тех или иных тяжелых металлов в волосах? Это может быть:

– разная степень загрязнения разными металлами среды обитания организмов, обладающих волосами;

– избирательная способность химических компонентов волоса захватывать и удерживать одни металлы сильнее других в силу самих химических свойств волос; при этом необходимо принимать в расчет, что кератинизированные структуры волосяного фолликула формируются на основе трансляции порядка сотни разных генов в пределах одного вида [11, 12]; соответственно белки, кодируемые этими генами, крайне резко отличаются по аминокислотному составу, подразделяющиеся на чрезвычайно богатые серой, богатые серой и бедные серой; которые могут быть представлены в разных пропорциях в зависимости от условий питания, а возможно и видовых особенностей [13-17];

– разная для разных видов структура пищевых и иных цепочек, доставляющих тяжелые металлы к растущим волосам.

Не исключено, что в действительности все эти факторы в их взаимодействии в той или иной степени определяют содержание тяжелых металлов в волосах [18, 19].

Материалы и методы исследования

Изучен микроэлементный состав волос овец из хозяйств вблизи 2-х мест расположения устаревших запасов пестицидов (с.Бескайнар, с.Кызылкайрат) и контрольного населенного пункта (с.Таукаратурык Енбекшиказахского района Алматинской области). Произведена минерализация 36 проб шерсти овец и проведен анализ на содержание тяжелых металлов (ТМ – Pb, Cd, Zn, Cu, Fe, Ni, Co, Mn, Cr) на атомно-абсорбционном спектрофотометре и расчет концентрации ТМ в пробах шерсти. Данные расчетов занесены в таблицы. Составлена таблица средних показателей с коэффициентом вариации (таблица 1).

Для проведения анализа микроэлементного состава волос овец из хозяйств из 2-х мест рас-

положения устаревших запасов пестицидов и контрольного населенного пункта собраны образцы шерсти от овец, содержащиеся в личных подсобных *хозяйствах* Алматинской области. Шерсть состригалась с дорзальной поверхности кожи овцы в области крестца, непосредственно от корня. Шерсть укладывали в белый бумажный конверт, на котором стрелкой указывается направление роста волос и код образца.

Метод измерения массовой доли элементов основан на извлечении элементов из проб шерсти (волос) с помощью минерализации с последующим измерением их массовой концентрации на атомно-абсорбционном спектрометре МГА-915. Сам же метод атомной абсорбции основан на измерении поглощения резонансной спектральной линии свободными атомами определяемого элемента при прохождении света через атомный пар исследуемого образца.

Минерализация проб волос проводилась с использованием микроволновой системы Минотавр-2, в соответствии с методикой ПУ 12=2009. Метод разрушения органических веществ, т.е. минерализации основан на окислительном воздействии азотной кислоты, находящейся под высоким давлением пр и СВЧ-нагреве, на органические соединения, что вызывает их деструкцию и перевод тяжелых металлов в форму гидратированных ионов. Навеску пробы (0,2-0,6г) помещают во фторопластовый контейнер для пробоподготовки, приливают 5 мл концентрированной азотной кислоты. Не менее чем через 10 минут контейнер переносят в экстрактор, завинчивают крышку камеры и проводят разложение под давлением (давление 8 атмосфер, время 20 мин.) По истечении 20 минут с помощью специальной команды давление постепенно сбрасывается до 0 атмосфер. После того как давление упадет до 0 атмосфер, содержимое контейнера переводят в мерную пробирку и доводят объем раствора до 10 мл бидистиллированной водой для последующего определения массовой концентрации элементов на атомно-абсорбционном спектрофото-метре МГА-915 [20, 21].

Ранговые коэффициенты корреляции между содержанием металлов в волосах овец и почвах загрязненных и чистых участков, вычислялись по формуле Спирмена, приведенной в учебнике Рокицкого [22, с. 135]

$$r_S = 1 - [\, 6 \cdot \sum (X_i - Y_i)^2 / n(n^2 - 1) \,],$$

где r_S – ранговый коэффициент корреляции по Спирмену, $\sum (X_i - Y_i)^2$ – сумма квадратов разницы рангов для сопоставляемых переменных величин, n – число пар сопоставляемых переменных.

Результаты исследования и их обсуждение

Сопоставление концентрации металлов в волосах овец из чистой зоны и из двух загрязненных зон. Содержание тяжелых металлов в шерсти колеблется в зависимости от элемента в очень широких пределах. Так в «чистой» точке с.Таукаратурык содержание меди в шерсти всего 1.42+0.08 мг/кг, тогда как содержание железа в 628 раз больше – 892+175 (таблица 1). Содержание свинца, кадмия, никеля и кобальта – менее 10 мг/кг, тогда как содержание цинка, марганца и хрома превышает 10 мг/кг, но менее 100 мг/кг.

В шерсти овец, выпасаемых на участках, где расположены устаревшие запасы пестицидов, содержание железа, цинка, меди, марганца, никеля, кадмия (особенно в селе Бескайнар) явно выше, чем в шерсти овец в контрольном участке.

Наивысшее содержание ТМ в шерсти овец из «загрязненной» точки с.Бескайнар характерно для железа 1511±188 мг/кг, на втором месте цинк 162±7,4 мг/кг, на третьем месте марганец – 150±22 мг/кг. Остальные ТМ (Pb, Cd, Cu, Ni, Co, Cr) содержатся в концентрациях не превышающих 10 мг/кг.

В шерсти овец из «грязной» точки с.Кызылкайрат содержание Zn, Cu, Mn, Ni превосходит вполне достоверно шерсть овец из контрольного региона в 1,9-6,8 раза при уровне достоверности выше $P<0.003$. Содержание Fe (714+52) по сравнению с контролем меньше при уровне достоверности менее $P<0.05$.

Коэффициент вариации показывает (таблица 1), насколько неоднородны отдельные животные по включению в шерсть тяжелых металлов. Для обычной индивидуальной изменчивости биологических процессов характерны коэффициенты изменчивости около 20 %. Многократно большие значения коэффициента вариации означают действие крупномасштабных случайных факторов, которым в разной степени подвергаются разные особи. Включение меди в волосы носит закономерный характер (низкие коэффициенты вариации), хотя абсолютное содержание меди относительно не велико, но в загрязненных регионах ее включается больше, чем в контрольном чистом регионе. Зато включение кадмия, абсолютная концентрация которого в шерсти, примерно такая же как меди, носит очень слу-

чайный характер, особенно в Бескайнаре («абсурдно» высокая вариабельность). В относительно чистой зоне диапазон коэффициентов корреляции 23-87% для разных металлов, а в 2 более грязных точках 24-110 и 14-222, т.е. случайности играют большую роль. В чистой зоне коэффициент вариации больше 50 % только для 2 металлов: цинка и железа. В грязных зонах, где в волосах этих металлов в несколько раз больше, индивидуальная изменчивость ниже, т.е. при загрязнении среды цинком и железом их содержание у разных животных относительно выравнивается. Для других металлов с их, коэффициентами вариации менее 50% в чистой зоне такого выравнивания изменчивости в грязных зонах не отмечено.

Таблица 1 – Среднее содержание (в мг/кг) тяжелых металлов в образцах шерсти овец из трех исследованных точек и индивидуальная изменчивость (коэффициент вариации) этой величины

TM	Pb	Cd	Zn	Cu	Fe	Ni	Co	Mn	Cr
Экологически загрязненный пункт с.Кызылкайрат									
M (N=11)	3,9±0,52	2,3±0,6	191±11	5,1±0,52	714±52	12,5±1,3	2,2±0,33	81±27	8,7±1,4
M в % от контроля	63%	100%	434%	359%	80%	189%	67%	675%	75%
P	(*)		(***)	(***)	(*)	(***)	(*)	(***)	
CV (%)	44,6	89	18,5	34	24	33	50	110	54
Экологически загрязненный пункт с.Бескайнар									
M (N=10).	7,73±1,1	9,9±6,9	162±7,4	6,8±0,6	1511±188	10±2,3	3±0,4	150±22	9,6±1,6
M в % от контроля	124%	430%	368%	479%	169%	152%	91%	1180%	83%
P			(***)	(***)	(***)			(***)	
CV (%)	46,2	222	14,4	28	39	73	42,5	47	52
Относительно чистый пункт с.Таукаратурык (контроль)									
M (N=15)	6,23±0,65	2,3±0,17	44±9,9	1,42±0,08	892±175	6,6±0,67	3,3±0,37	12,7±1,6	11,6±1,0
M в % от контроля	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
CV (%)	40,3	29	87	22	76	39	43	49	33

Примечания: M – средние арифметические содержания тяжелых металлов в шерсти в мг/кг; N – число исследованных животных; CV – коэффициент вариации (CV = 100% • y / M); P (*) и (***) – уровни достоверности отклонения от соответствующих концентраций металлов в волосах из контрольной зоны (Таукаратурык), соответственно, P<0.05 и P<0.003

Сопоставление содержания металлов в почве контрольной чистой зоны и в двух загрязненных зонах. В таблице 2 представлены данные по содержанию ТМ в почвах тех же точек.

Из таблицы 2 видно, что в загрязненных пунктах наиболее очевидно возрастание содержания в почве цинка (в 3 – 4 раза) и в гораздо меньшей степени кадмия в Бескайнаре и никеля в Кызылкайрате (менее, чем в 2 раза). Что же касается свинца, кобальта и хрома, то их содержание в загрязненных зонах признаков возрастания не обнаруживает.

Таблица 2 – Содержание тяжелых металлов в образцах почвы из трех исследованных точек (в мг/кг в контрольной более чистой точке и в % от контроля для более загрязненных точек)

ТМ	Pb	Cd	Zn	Cu	Ni	Co	Cr
Экологически загрязненный пункт с.Кызылкайрат							
Сп в % от контроля	91%	122%	447%	87%	189%	78%	66%
Экологически загрязненный пункт с.Бескайнар							
Сп в % от контроля	84%	168%	320%	88%	81 %	113%	75%
Относительно чистый пункт с.Таукаратурык (контроль)							
Сп в мг.кг	2.7	0.7	2.5	4.9	2.3	2.0	1.5
Сп в % от контроля	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Примечания: Сп – содержания тяжелых металлов в почве: в мг/кг (только контрольный пункт с.Таукаратурык) и в %% от содержания их в контроле (контрольный пункт и 2 загрязненных пункта с.Кызылкайрат и с.Бескайнар).							

В связи с этим представляло интерес выяснить, насколько коррелируют между собой ранговые порядки содержания металлов как в почвах, так и волосах овец из географических точек с разной степенью загрязнения.

Сопоставление ранговых порядков содержания разных металлов в контрольной и загрязненных зонах в почвах, а также в волосах овец из этих зон. Сопоставлены ранговые коэффициенты корреляции между содержаниями металлов в разных географических точках (относительно чистая контрольная зона – с.Таукаратурык и две загрязненные зоны – с.Кызылкайрат и с.Бескайнар) по данным измерений содержания тяжелых металлов в почвах или шерсти овец, соответствующие корреляции представлены в таблице 3.

Из таблицы 3 видно, что ранговые порядки содержания разных элементов как в почвах, так и в волосах в двух загрязненных точках достоверно коррелируют друг с другом. Что касается ранговых порядков содержания металлов в чистой и грязной зонах, то они отличаются сильнее, и коэффициенты корреляции оказываются ниже достоверного уровня. В частности в контрольной точке содержание кадмия в почве на 7-м месте, т.е. ниже всех других изученных металлов, а в обеих загрязненных зонах его содержание гораздо выше и он там на 2-м месте. В волосах овец контрольной зоны медь на последнем седьмом месте, тогда как в волосах овец загрязненных зон содержание меди стоит на 1-2 месте. Эти расхождения резко понижают ранговые коэффициенты корреляции.

Таблица 3 – Ранговые коэффициенты корреляции между содержаниями металлов в разных географических точках

ТОЧКИ	ВОЛОСЫ ОВЕЦ		ПОЧВЫ	
	R (ранг)	Уровень достоверности	R (ранг)	Уровень достоверности
с.Кызылкайрат х Контроль	0.14	P>0.05	0.25	P>0.05
с.Бескайнар х Контроль	- 0.5	P>0.05	0.18	P>0.05
с.Кызылкайрат х с.Бескайнар	0.68	P>0.05	**0.964**	**P<0.01**
Примечания: R (ранг) – ранговый коэффициент корреляции. Жирным шрифтом выделены достоверные уровни коэффициентов корреляции				

Таким образом, в обеих загрязненных зонах нарушился (примерно, одинаково) ранговый порядок содержания металлов, по сравнению с тем, что было в контрольной чистой зоне. Это касается содержания металлов как в почве, так и в волосах овец. В этой связи представлялось интересным выяснить, насколько сдвиги рангового порядка содержания металлов в почвах в загрязненных зонах коррелируют с соответствующими сдвигами в волосах овец.

Сопоставление концентраций разных металлов, а также их ранговых порядков в почве и волосах овец в контрольной (относительно чистой) зоне. В таблице 4 представлены соответствующие отношения содержания 7 тяжелых металлов в волосах овец к их содержанию в почве контрольной зоны, а также их ранговые порядки.

Из таблицы 4 видно, что в почве 7 изученных тяжелых металлов содержатся в количестве от 1.4 до 3.8 мг на килограмм веса почвы. В волосах овец металлов в 1.6 – 13.3 раза больше за исключением меди, которой, напротив, в почве в 3 раза больше, чем в волосах.

Таблица 4 – Сравнение концентрации разных металлов в почве и в волосах овец из контрольного (менее загрязненного) участка с.Таукаратурык

Элемент	Почва		Св / Сп	Волосы	(Рсв – Рсп) ^{2}
	Сп (мг/кг)	Рсп		Рсв	
Zn	3.3	2	13.3	1	1
Cd	1.4	7	1.6	6	1
Co	2.0	5	1.6	5	0
Pb	2.8	3	2.2	4	1
Ni	2.1	4	3.2	3	1
Cu	3.8	1	0.38	7	36
Cr	1.8	6	6.4	2	16

Примечания: Сп – содержание в почве относительно чистого пункта (данного элемента с.Таукаратурык) данного элемента в мг/кг; Св – аналогично содержание данного элемента в волосах овец; Рсп – ранговый порядок содержания данного элемента в почве: 1 – наивысшее содержание элемента, 7 – самое низкое содержание; Рсв – аналогичный ранговый порядок содержания элементов в волосах овец.

Был вычислен коэффициент ранговой корреляции по Спирмену [22], по формуле:

$$r_S = 1 - [(6 \cdot \sum d^2) / n\,(n^2 - 1)],$$

где r_S – ранговый коэффициент корреляции по Спирмену, $\sum d^2$ – сумма квадратов разницы рангов для содержания разных металлов в почве и волосах овец, т.е. d – ранг содержания каждого данного металла в шерсти – ранг содержания этого же металла в почве, n – число сравниваемых пар, т.е. число пар: содержание данного металла в почве и содержание этого же металла в волосах

Минимальное значения коэффициента корреляции $r_{сп.св}$ (сп – концентрация металла в почве, св – концентрация металла в волосах, шерсти), при котором достигается уровень его достоверности P = 0.05 составляет по соответствующей таблице для 7 элементов 0.75, а следующая ступень достоверности P=0.01 достигается только при его значении 0.87.

Из формулы коэффициента корреляции видно, что при каждом данном числе элементов его величина определяется только $\sum d^2$, а эта сумма, в свою очередь, определяется наличием существенных расхождений ранговых порядков в данном случае в двух столбцах 3-м и 5-м таблицы 4. С ростом $\sum d^2$ падает коэффициент корреляции. Полученное для 7 металлов значение $\sum d^2$ составило 56, и, следовательно, коэффициент ранговой корреляции их в почве и волосах овец равен:

$r_{сп.св} = 1 - (6 \cdot 56) / (7 \cdot 48) = 1 - 1 = 0$, т.е. корреляция отсутствует.

При этом вклад 5 металлов (Zn, Cd, Co, Pb, Ni) из 7 в $\sum d^2$ составляет 4 единицы из 56, а вклад 2 металлов (Cu и Cr) составляет 52 из 56. Если бы вклад этих двух металлов был того же порядка, что и остальных пяти, то $\sum d^2$ равнялась бы 6, а коэффициент корреляции составил бы:

$r_{сп.св} = 1 - (6 \cdot 6) / (7 \cdot 48) = 1 - 0.107 = 0.89$, т.е. корреляция была бы высокой и достоверной.

Таким образом, отсутствие общей корреляции ранговых порядков концентрации изученных металлов в почве и шерсти овец еще не доказывает, что для большинства металлов их содержание в почве не определяет в значительной степени их содержание в волосах или хотя бы, что уровень содержания металлов и в почве, и в волосах не определяются какой-то неизвестной общей причиной. Ясно только, что содержание хрома и особенно меди решающим образом определяется иными факторами, чем содержание других металлов. Такими факторами могут быть содержание металлов в воде, разная способность волос и почвы прочно удерживать однажды включенные металлы.

Что касается меди, то, хотя ее содержание в почве изученного региона достаточно велико, способность волос его удерживать в своем составе ограничена.

Хром демонстрирует, скорее, обратную ситуацию. В почве хрома относительно мало, но, способность волос его удерживать довольно высока. Как видно из таблицы 2, по содержанию в почве Cr занимает шестое место из семи, а по содержанию в волосах 2-е место.

Поскольку содержание металлов в почве и волосах в загрязненных участках отличается от таковых в контрольном чистом участке, представляло интерес посмотреть, сохранится ли достоверность ранговой корреляции между измененными концентрациями металлов в почве и волосах в загрязненных участках.

Сопоставление ранговых порядков содержания металлов в почве и волосах в загрязненных зонах и контрольной зоне. Ранговые последовательности концентраций металлов для почв и волос овец приведены в таблице 5. Приведены не абсолютные концентрации металлов (в мг/кг), а в %% от соответствующих концентраций в контроле.

Из таблицы 5 видно, что для первой загрязненной точки (с.Кызылкайрат) ранговые порядки для содержания металлов в почве и волосах расходятся на 0-2 единицы. Сумма квадратов расхождений ранговых порядков составляет 16, что по расчетной формуле рангового коэффициента корреляции составляет 0.714. Корреляция лишь немного ниже уровня достоверности при $P<0.05$. Для 2-й загрязненной точки (с.Бескайнар) соответствующие величины также составляют 16; 0.714 и 0,05. Из этого следует, что содержание металлов в волосах овец в значительной мере определяется их содержанием в почве или, как минимум, существует источник загрязнения металлами достаточно сходным образом воздействующий на почву и шерсть овец.

Таблица 5 – Сопоставление ранговых порядков содержания элементов в почвах и волосах овец из экологически неблагоприятных географических точек

Элемент	Кызылкайрат			Бескайнар			Таукаратурык (контроль)		
	Рсп	D^2	Рсв	Рсп	D^2	Рсв	Рсп	D^2	Рсв
Zn	1>	0	1	1>	4	3<<	2	1	1
Cd	2>>	4	4>>	2>>	0	2>>	7	1	6
Co	6<	0	6<	5	1	6<	5	0	5
Pb	5<<	4	7<<	6<<	1	5<	3	1	4
Ni	3>	0	3	3>	1	4<	4	1	3
Cu	4<<	4	2>>	4<<	9	1>>	1	36	7
Cr	7<	4	5<<	7<	0	7<<	6	16	2

Примечания: Рсп – ранговый порядок данного металла по концентрации в почве; Рсв – аналогично в волосах овец; >> – разница рангового порядка в загрязненном участке от такового в контрольном участке в сторону большей концентрации металла более, чем на 1 порядкового номера; << – аналогично в сторону меньшей концентрации; < и > – аналогично отклонение всего на единицу порядкового номера; D^2 – квадрат разности ранговых порядков данного металла в столбиках левее и правее столбика D^2

Сопоставление содержания металлов в волосах и природной воде контрольной точки (с.Таукаратурык). Содержание тяжелых металлов в природной воде гораздо ниже, чем в почве: для цинка в 57 раз, для свинца в 400 раз, для меди в 211 раз. Данные о содержании тяжелых

металлов в воде и волосах овец в контрольной точке приведены в таблице 6. Для других элементов представленные данные количественного анализа не содержали конкретных величин содержания металла, а только указывали, что эта концентрация была ниже определенной величины. Ранговый корреляционный анализ всего для трех металлов не имеет смысла.

Таблица 6 – Сравнение концентрации разных металлов в природной воде и в волосах овец из контрольного (менее загрязненного) участка с.Таукаратурык

Элемент	Вода		Свл / Свд	Волосы	(Рсвл – Рсвд) ^{2}
	Свд (мг/кг)	Рсвд		Рсв	
Zn	0.058	1	759	1	0
Pb	0.007	3	890	2	1
Cu	0.018	2	79	3	1

Примечания: Свд – содержание в природной воде относительно чистого пункта (с.Таукаратурык) данного элемента в мг/кг; Свл – аналогично содержание данного элемента в волосах овец; Рсвд – ранговый порядок содержания данного элемента в природной воде: 1 – наивысшее содержание элемента, 3 – самое низкое содержание; Рсвл – аналогичный ранговый порядок содержания элементов в волосах овец

Сопоставление ранговых порядков содержания металлов в волосах овец (контрольная зона) и волосах людей, проживающих в совсем иных местностях (литературные данные) [23-28]**.** Можно предположить, что состав кератинов волос должен быть достаточно близок у разных видов млекопитающих. Разница в содержании тяжелых металлов в волосах людей и овец, по-видимому, должна определяться не разной способностью кератинов разных видов связывать металлы, а различными источниками загрязнения волос разных видов, живущих в разных условиях и питающимися через разные пищевые цепочки. В таблице 7 сопоставлены абсолютные и ранговые содержания металлов у овец и людей.

Таблица 7 – Разница в содержании (мг/кг) тяжелых металлов в волосах у людей (мужчины и женщины) и овец

Металл	ЧЕЛОВЕК				ОВЦЫ		Со/См
	Мужчины		Женщины				
	С (мг/кг)	Р	С (мг/кг)	Р	С (мг/кг)	Р	
Cu	14.0± 0.76	3	13.4 ± 0.78	3	1.42 ± 0.08	6	0.10
Zn	226± 7.8	1	214 ± 5.7	1	44 ± 9.9	2	0.19
Fe	24.2 ± 1.2	2	20.9± 1.4	2	892 ± 175	1	37
Mn	0.9 ± 0.12	5	0.3 ± 0.02	5	12.7 ± 1.6	3	14
Cd	0.1 ± 0.01	6	0.1 ± 0.02	6	2.3 ± 0.17	5	23
Pb	1.2 ± 0.11	4	0.7 ± 0.09	4	6.2 ± 0.65	4	5.2

Примечания: С-содержание металла; Р – ранг содержания металла от наибольшего (1), по сравнению с другими металлами, до наименьшего (6); Со/См – отношение концентрации ТМ в волосах овец к концентрации ТМ у мужчин

Абсолютное содержание меди и цинка (в мг/кг волос) у овец гораздо меньше, чем у человека (соответственно, в 10 и 5 раз), тогда как железа, марганца, кадмия и свинца у овец гораздо больше, чем у человека.(в 37, 14, 23 и 5 раз, соответственно).

При сравнении ранговых порядков содержания разных металлов у мужчин и женщин различий не найдено. Это значит, что ранговый коэффициент корреляции по содержанию разных металлов в волосах мужчин и женщин достигает максимального абсолютного значения = 1. Что

касается абсолютного содержания металлов, то присутствует тенденция большего их содержания у мужчин.

Коэффициент корреляции между ранговыми порядками содержания металлов мужчин и овец составляет:

$$r_{муж.овц} = 1- (6•7) / (6•25) = 0.72.$$

При всего 6 сопоставляемых металлах коэффициент корреляции остается ниже уровня достоверности. Наивысшие ранги (1-2) содержания изученных 6 металлов в волосах у людей и овец приходятся на цинк и железо, а низшие ранги (5-6) приходятся на кадмий. В абсолютном выражении (мг/кг) эта разница в содержании разных металлов составляет сотни и даже тысячи раз. Наибольшие межвидовые различия отмечены для меди: у овец на медь приходится последний 6-й ранг, а у человека 3-й ранг. В абсолютном выражении это соответствует в 10 раз большему содержанию меди в волосах человека, возможно, из-за особенностей состава средств для мытья волос.

Выводы

1) В волосах овец из контрольной зоны концентрация Zn в 13 раз, Cr в 6 раз, а Cd, Co, Pb и Ni в 2-3 раза больше, чем в почве. и только содержание Cu в волосах в 3 раза ниже, чем в почве.

2) В почвах загрязненных зон (с.Кызылкайрат и с.Бескайнар) цинка в 3-4 раза больше, а кадмия или никеля в 1.1-1.9 раз больше, чем в контрольной более чистой зоне (с.Таукаратурык).

3) В волосах овец из загрязненных зон содержание Zn и Cu в 3-4 раза выше, чем в волосах овец контрольной зоны. При этом, концентрация Zn выше и в почвах загрязненных участков, а Cu в почвах загрязненных и чистом участках содержится в одинаковой концентрации, и рост содержания меди в волосах загрязненных участков не может быть объяснен повышенным содержанием меди в почвах.

4) При изучаемых типах загрязнения среды происходит перераспределение относительного содержания разных металлов как в почвах, так и в образцах волос овец, сходное в двух разных загрязненных точках: Cu и Cd стало относительно больше в волосах и Cu и Pb относительно меньше в почве, Cr относительно меньше в волосах.

5) В контрольной точке ранговые порядки концентрации разных металлов в почве и олосах овец близки для Cd, Zn, Co, Pb, Ni но резко различаются для Cu и Cr. Cu относительно мало в волосах и много в почве, а Cr мало в почве и много в волосах.

6) Ранговые порядки содержания 6 тяжелых металлов в волосах овец из контрольной (более чистой) зоны и в волосах произвольно выбранной из литературных данных популяции людей различаются, прежде всего, по рангу содержания Cu, высокому у людей и низкому у овец.

7) Из 8 металлов, изученных в почве с.Бескайнара: Zn, Cd, Co, Pb, As, Ni, Cu, Cr ПДК (предельно допустимая концентрация) превышено только по Cu на 70 %.

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

Финансирование предоставлено Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках бюджетной программы 217 «Развитие науки» и подпрограммы 101 «Программно – целевое финансирование субъектов научной и/или научно-технической деятельности»», договор № 206 от 19 марта 2018 года.

Литература

1 Нуржанова А., Инелова З.А., Джансугурова Л.Б., Нестерова С.Г. и др. Проблема устаревших пестицидов в Казахстане (обзор) // Известия НАН РК. – 2018. – № 4 (328). – С. 86-96.

2 Nurzhanova A., Pidlisnyuk V., Stefanovska T., Kenessov B., Sailaukhanuly Y., Ralugin S., Abit R., Nurzhanov Ch. Problems of organochloride pesticides in Kazakhstan (of the former storehouse pesticides, military and mining sites) // Abstract 70th International Symposium on Crop protection. – 22 May 2018.-.Gent, Belgium. – P.88.

3 Белый О.А., Писарик М.А. Состояние и мониторинг захоронений непригодных пестицидов, относящихся к стойким органическим загрязнителям // В сб. «Природопользование и окружающая среда». – Минск, Бел НИЦ «Экология».– 2008. – С. 115–122.

4 Minh T.B., Iwata H., Takahashi S., Viet P.H., Tuyen B.C., Tanabe S. Persistent organic pollutants in Vietnam: Environmental contamination and human exposure // Rev. Environ. Contam. Toxicol. – 2008. – Vol. 193. – P.213-285.

5 Covaci A., Tutudaki M., Tsatsakis A.M., Schepens P. Hair analysis: another approach for the assessment of human exposure to selected persistent organochlorine pollutants // Chemosphere. – 2002 – Jan – Vol. 46, No 3. – P. 413-418.

6 Абдурахманов Г.М., Зайцев И.В. Экологические особенности содержания микроэлементов в организме животных и человека // М.: Наука. – 2004. – С. 280.

7 Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология // М.: Медицина. – 1991. – С. 496.

8 Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека // М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир. – 2004. – С. 216.

9 Скальная М.Г., Дубовой Р.М., Скальный А.В. Химические элементы – микронутриенты как резерв восстановления здоровья жителей России: монография // Оренбург: РИК ГОУ ОГУ. – 2004. – С. 239.

10 Скальная М.Г., Демидов В.А., Скальный А.В. О пределах физиологического (нормального) содержания Ca, Mg, P, Fe, Zn и Cu в волосах человека // Микроэлементы в медицине. – 2003. – Т. 4. – Вып. 2. – С. 5-10.

11 Rogers M.A., Langbein L., Winter H., Beckmann I., Praetzel S., Schweizer J. Hair keratin associated proteins: characterization of a second high sulfur KAP gene domain on human chromosome 21 // Invest Dermatol. – 2004. – P. 122, 147-158.

12 Langbein L., Rogers M.A., Praetzel S., Winter H., Schweizer J. K6irs1, K6irs2, K6irs3 and K6irs4 represent the inner-root-sheath-specific type II epithelial keratins of the human hair follicle // Invest Dermatol. – 2003. – Vol. 120. P. 512-522.

13 Rogers M.A., Langbein L., Winter H., Ehmann C., Praetzel S., Korn B., Schweizer J. Characterization of a cluster of human high / ultrahigh sulfur keratin – associated protein genes embedded in the Type I keratin gene domain on chromosome 17q12-21 // Biol. Chem. – 2001. – P. 276:19440-19451.

14 Rogers M.A., Langbein L., Winter H., Ehmann C. Characterization of a first domain of human high glycine-tyrosine and high sulfur keratin-associated protein (KAP) genes on chromosome 21q22.1 // Biol Chem. – 2002. – P. 277: 48993-49002.

15 Vsevolodov E.B. The Histological Mechanisms of Hair Loss. In: Hair and scalp disorders // INTECH open science I open mind. – 2017. – Chapter 5. – P. 67-79.

16 Vsevolodov E.B., Golichenkov V.A., Latypov I.F., Doronin Yu.K., Musaeva A.S.. Estimation of Events of Hair Follicle Layers Differentiation // Moscow University Biological Sciences Bulletin. – 2015. – Vol. 70. – N. 2. – P. 62–66.

17 Всеволодов Э.Б., Голиченков В.А., Латыпов И.Ф., Доронин Ю.К., Мусаева А.С. Оценка событий послойной дифференцировки волосяного фолликула // Вестник Московского Университета. Серия 16 Биология. – 2015. – № 2. – С. 13-18.

18 Грабеклис А.Р., Нечипоренко С.П., Лакарова Е.В., Скальный А.В. Изменения в элементном составе волос при производственном контакте с токсичными металлами // Акт. пробл. трансп. медицины. – 2010. – № 4. С. 124–131.

19 Журба О.М., Рукавишников В.С., Меринов А.В., Алексеенко А.Н. Содержание металлов в волосах детей Ямало-ненецкого автономного округа // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 4-1. – С. 175-177.

20 Le Phuoc Cuong, Евгеньев М.И., Гумеров Ф.М., Мусин Р.З., Евгеньева И.И., Габитов Ф.Р., Яруллин Л.Ю. Сверхкритическая флюидная экстракция пестицидов из волос вьетнамцев с последующим хромато-масс-спектрометрическим определением состава //Сверхкритические Флюиды: Теория и практика. – 2011. – Т.6. – № 3. – С. 35-44.

21 Le Phuoc Cuong. Определение химических элементов в волосах вьетнамцев методом атомноэмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой // Вестник Казан. технол. ун-та. – 2010. – № 10. – С. 71-75.

22 Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика // Вышейш. Школа. – 1967. – С. 328.

23 Скальный А.В., Быков А. Т. Эколого-физиологические аспекты применения макро- и микроэлементов в восстановительной медицине // Оренбург: РИК ГОУ ОГУ. – 2003. – С. 198.

24 Скальный А.В., Демидов В.А. Элементный состав волос как отражение сезонных колебаний обеспеченности организма детей макро- и микроэлементами // Микроэлементы в медицине. – 2001. – Т. 2. – Вып. 1. – С. 36–41.

25 Семенова И.Н., Рафикова Ю.С. Зависимость содержания металлов в волосах от стажа работы на горнорудном предприятии. Фундаментальные исследования // Раздел биологические науки. – № 8. – 2010., С. 7-9. URL:http://fundamental-research./ru/ru/ article/view?id=11513

26 Брукс Р.Р. Загрязнение микроэлементами // Химия окружающей среды. – 1989. – С. 371-414.

27 Minh T.B., Iwata H., Takahashi S., Viet P.H., Tuyen B.C., Tanabe S. Persistent organic pollutants in Vietnam: Environmental contamination and human exposure // Rev. Environ. Contam. Toxicol. – 2008. – V. 193.- P. 213-285.

28 Covaci, Tutudaki M., Tsatsakis A.M., Schepens P. Hair analysis: another approach for the assessment of human exposure to selected persistent organochlorine pollutants // Chemosphere. – 2002. – V. 46. – P. 413-418.

References

1 Abdurakhmanov G.M., Zaycev I.V. (2004) Ecologicheskie osobennosti soderzhaniya microelementov v organizme zhivotnyh i cheloveka [Ecological features of the content of trace elements in animals and humans]. Nauka, pp. 280.

2 Avcyn A.P., Zhavoronkov A. A., Rish M.A., Strochkova L.S. (1991) Microelementozy cheloveka; etiologiya, klassifikaciya, organopatologiya [Human trace elements: etiology, classification, organopathology]. Medicina, pp. 496.

3 Belyi O.A., Pisarik M.A. (2008) Sostoyanie i monitoring zahoronenyi neprigodnyh pesticidov, otnosyashihsya k

4 stoykim organicheskim zagryazniteliyam [Status and monitoring of burials of unsuitable pesticides related to persistent organic pollutants] V sb. «Prirodopolzovanie i okruzhayushaya sreda», Minsk, Belarus, NIC «Ecologiya», pp. 115–122.

5 Bruks R.R. (1989) Zagryaznenie mikroelementami [Micronutrient contamination]. Khimiya okruzhayushei sredy, pp. 371-414.

6 Covaci A., Tutudaki M., Tsatsakis A.M., Schepens P. (2002) Hair analysis: another approach for the assessment of human exposure to selected persistent organochlorine pollutants. Chemosphere, vol. 46, no 3, pp.. 413-418.

7 Grabeklis A.R., Nechiporenko S.P., Lakarova E.V., Skalniy A. B. (2010) Izmeneniya v elementnom sostave volos pri proizvodstvennom kontakte s toksichnymi metallami [Changes in the elemental composition of hair during industrial contact with toxic metals]. Akt. probl. transp. mediciny, no. 4, pp. 124–131.

8 Langbein L., Rogers M.A., Praetzel S., Winter H., Schweizer J. (2003) K6irs1, K6irs2, K6irs3 and K6irs4 represent the inner-root-sheath-specific type II epithelial keratins of the human hair follicle. Invest Dermatol, vol. 120, pp. 512-522.

9 Le Phuoc Cuong, Evgenyev M.I., Gumerov F.M., Musin R.Z., Evgenieva I.I., Gabitov F.R., Yarullin L.Yu. (2011) Sverhkriticheskaya fluidnaya ekstrakciya pesticidov iz volos vietnamcev s posleduyushim khromato-mass-spektrometricheskim opredeleniem sostava [Supercritical fluid extraction of pesticides from Vietnamese hair, followed by chromatography-mass spectrometry determination of the composition]. Sverhkriticeskie fluidy: Teoriya i praktika vol. 6, no. 3, pp. 35-44.

10 Le Phuoc Cuong. (2010) Opredelenie khimicheskih elementov v volosah vietnamcev metodom atomnoemmisionnoy spektroskopii s induktivno-svyazannoy plazmoy [Determination of chemical elements in the hair of Vietnamese by the method of atomic emission spectroscopy with inductively coupled plasma]. Vestnik Kazan. technol. univ., no. 10, pp. 71-75.

11 Minh T.B., Iwata H., Takahashi S., Viet P.H., Tuyen B.C., Tanabe S. (2008) Persistent organic pollutants in Vietnam: Environmental contamination and human exposure. Rev. Environ. Contam. Toxicol, vol. 193, pp. 213-285.

12 Minh T.B., Iwata H., Takahashi S., Viet P.H., Tuyen B.C., Tanabe S. (2008) Persistent organic pollutants in Vietnam: Environmental contamination and human exposure. Rev. Environ. Contam. Toxicol, vol. 193, pp. 213-285.

13 Nurzhanova, Inelova Z.A., Dzhansugurova L.B., Nesterova S.G. et. al. (2018) Problema ustarevshyh pesticidov v Kazakhstane (obzor) [The problem of obsolete pesticides in Kazakhstan (review)]. Izvestiya NAN RK, no. 4, vol. 328, pp. 86-96.

14 Nurzhanova A., Pidlisnyuk V., Stefanovska T., Kenessov B., Sailaukhanuly Y., Ralugin S., Abit R., Nurzhanov Ch. (2018) Problems of organochloride pesticides in Kazakhstan (of the former storehouse pesticides, military and mining sites). Abstract 70th International Symposium on Crop protection, Gent, Belgium, pp. 88.

15 Rogers M.A., Langbein L., Winter H., Beckmann I., Praetzel S., Schweizer J. (2004) Hair keratin associated proteins: characterization of a second high sulfur KAP gene domain on human chromosome 21. Invest Dermatol, pp. 122, 147-158.

16 Rogers M.A., Langbein L., Winter H., Ehmann C., Praetzel S., Korn B., Schweizer J. (2001) Characterization of a cluster of human high / ultrahigh sulfur keratin – associated protein genes embedded in the Type I keratin gene domain on chromosome 17q12-21. Biol. Chem., pp. 276:19440-19451.

17 Rogers M.A., Langbein L., Winter H., Ehmann C. (2002) Characterization of a first domain of human high glycine-tyrosine and high sulfur keratin-associated protein (KAP) genes on chromosome 21q22.1. Biol Chem., pp. 277: 48993-49002.

18 Rokickii P.F. (1967) Biologicheskaya statistika [Biological statistics]. Vysheish. Shkola, pp. 328.

19 Semenova I.N., Rafikova Yu.S. (2010) Zavisimost sodezhaniya metallov v volosak ot stazha raboty na gornorudnom predpriyatii. Fundamentalnie issledovaniya [The dependence of the metal content in the hair from experience of work at the mining enterprise. Basic research]. Razdel biologicheskie nauki, no. 8, pp. 7-9. URL:http:. fundamental-research./ru/ru/ article/view?id=11513

20 Skalniy A.V., Bykov A.T. (2003) Ecologo-fiziologicheskie aspekty primeneniya makro- i microelementov v vosstanovitelnoy medicine [Ecological and physiological aspects of the use of macro- and micronutrients in regenerative medicine]. Orenburg RIK GOU OGU , pp. 198.

21 Skalniy A.V., Demidov V.A. (2001) Elemenni sostav volos kak otrazhenie sezonnyh kolebanii obespechennosti organizma detey makro- i mikroelementami [The elemental composition of the hair as a reflection of the seasonal fluctuations in the supply of children with macro- and microelements]. Mikroelementy v medicine, vol. 2, no. 1, pp. 36–41.

22 Skalniy A.V. (2004) Khimicheskie elementy v fiziologii i ecologii cheloveka [Chemical elements in human physiology and ecology]. Izdatelskiy dom «ONIKS 21 vek»: Mir, pp. 216.

23 Skalnaya M.G., Dubovoy R.M., Skalniy A.V. (2004) Khimicheskie elementy – micronutrienty kak rezerv vosstanovleniya zdoroviya zhitelei Rossii: monografiya [Chemical elements – micronutrients as a reserve for restoring the health of the people of Russia: monograph]. Orenburg: RIK GOU OGU, pp. 239.

24 Skalnaya M.G., Demidov V.A., Skalniy A.V. (2003) O predelah fiziologicheskogo (normalnogo) soderzhaniya Ca, Mg, P, Fe, Zn i Cu v volosah cheloveka [On the limits of the physiological (normal) content of Ca, Mg, P, Fe, Zn and Cu in human hair]. Mikroelementy v medicine, vol. 4, – no: 2, pp. 5-10.

25 Vsevolodov E.B. (2017) The Histological Mechanisms of Hair Loss. In: Hair and scalp disorders. INTECH open science I open mind, Chapter 5, pp. 67-79.

26 Vsevolodov E.B., Golichenkov V.A., Latypov I.F., Doronin Yu.K., Musaeva A.S. (2015) Estimation of Events of Hair Follicle Layers Differentiation. Moscow University Biological Sciences Bulletin, vol. 70, no. 2, pp. 62–66.

27 Vsevolodov E.B., Golichenkov V.A., Latypov I.F., Doronin Yu.K., Musaeva A.S. (2015) Ocenka sobitii posloynoi differencirovki volosiyanogo follikula [Evaluation of the events of startified differentiation of the hair follicle]. Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16, Biologiya, no. 2, pp. 13-18.

28 Zhurba O.M., RukavishnikovV.S., Merinov A.V., Alekseenko A.N. (2015) Soderzhanie metallov v volosah detei Yamalonemeckogo avtonomnogo okruga [The metal content in the hair of children of the Yamalo-German Autonomous District]. Mezdunarodniy zhurnal prikladnyh i fundamentalnyh issledovanii, no. 4-1, pp. 175-177.

5-бөлім

ГИСТОЛОГИЯ

Section 5

HYSTOLOGY

Раздел 5

ГИСТОЛОГИЯ

МРНТИ 34.19.17; 76.03.33 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b9

Досымбекова Р.С.[1*], Бгатова Н.П.[2], Таскаева Ю.С.[2], Тунгушбаева З.Б.[1], Шарипов К.О.[3]

[1]Казахский национальный педагогический университет имени Абая, Казахстан, г. Алматы, e-mail: raushan@mail.ru
[2] Научно-исследовательского институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, г. Новосибирск
[3]АО «Национальный медицинский университет», Казахстан, г. Алматы

ВЛИЯНИЕ КАРБОНАТА ЛИТИЯ НА УЛЬТРАСТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ КЛЕТОК ГЕПАТОКАРЦИНОМЫ-29 В ДИНАМИКЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Тема исследования представляет собой актуальное направление современной экспериментальной онкологии – исследование влияния индукторов клеточной гибели на ультраструктурные изменения опухолевых клеток, способствующих развитию апоптоза. Целью данной работы было изучение ультраструктурной организации клеток гепатокарциномы-29 при воздействии карбоната лития в динамике их культивирования. Научная значимость и новизна работы заключается в получении новых данных об ультраструктурной организации клеток гепатокарциномы при воздействии карбоната лития. Новизной данного исследования является выявление последовательных изменений в содержании и структуре цитоплазматических органелл в клетках гепатокарциномы-29 в динамике культивирования при введении карбоната лития. Практическая значимость работы заключается в возможности использования полученных данных для разработки таргетной терапии гепатокарциномы путем комбинированного применения карбоната лития и цитостатиков, что позволит одновременно задействовать различные клеточные сигнальные пути для стимуляции апоптоза и аутофагической клеточной гибели. Работа выполнена на культуре клеток гепатокарциномы-29 с использованием методов световой и электронной микроскопии. Выявлены изменения объемной плотности цитоплазматических органелл в клетках Г-29 при их культивировании с карбонатом лития. Показано, что карбонат лития оказывает на клетки ГК-29 повреждающее действие, которое нарастает в динамике культивирования. Происходит уменьшение объемной плотности митохондрий, цистерн гранулярной эндоплазматической сети, свободных полисомальных комплексов, при этом возрастают объемные плотности аутофагосом, аутолизосом и лизосом. Полученные данные свидетельствуют, что карбонат лития способствует снижению энергетической и синтетической функций клеток ГК-29, развитию в них катаболических процессов и запуску процессов клеточной гибели. Полученные данные вносят значительный вклад в клеточную биологию, цитологию и гистологию, а также онкологию. Практическое значение итогов работы заключается в том, что на основании выявленных ультраструктурных изменений клеток гепатокарциномы при воздействии карбоната лития, возможна разработка подходов к таргетной терапии данного вида рака.

Ключевые слова: гепатокарцинома-29, ультраструктура, карбонат лития.

Dossymbekova R.S.[1*], Bgatova N.P.[2], Taskaeva Y.S.[2], Tungushbaeva Z.B.[1], Sharipov K.O.[3]

[1]Kazakh national pedagogical University named after Abai, Kazakhstan, Almaty, e-mail: raushan@mail.ru
[2]Research Institute of clinical and experimental lymphology-branch of the Federal research center Institute of Cytology and genetics of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences, Russia, Novosibirsk
[3]JSC «National medical University», Kazakhstan, Almaty

The effect of lithium carbonate on the ultrastructural organization of cells of hepatocarcinoma-29 in the dynamics of cultivation

The theme of the study is an actual direction of modern experimental Oncology – the problem of studying the influence of inducers of cell death on ultrastructural changes in tumor cells that contribute to the development of apoptosis. The aim of this work was to study the ultrastructural organization of he-

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

patocarcinoma-29 cells under the influence of lithium carbonate in the dynamics of their cultivation. The scientific significance and novelty of the work is to obtain new data on the ultrastructural organization of hepatocarcinoma cells under the influence of lithium carbonate. The novelty of this study is to identify consistent changes in the content and structure of cytoplasmic organelles of hepatocarcinoma-29 cells in the dynamics of cultivation with the introduction of lithium carbonate. The practical significance of the work lies in the possibility of using the obtained data for the development of targeted therapy of hepatocarcinoma by the combined use of lithium carbonate and cytostatics, which will simultaneously involve various cellular signaling pathways for the stimulation of apoptosis and autophagic cell death. The work was performed on the culture of hepatocarcinoma cells -29 using light and electron microscopy. Changes in the volume and numerical density of cytoplasmic organelles of G-29 cells in the dynamics of cultivation under the influence of lithium carbonate were revealed. It is shown that carbonate has a damaging effect on the cells of GA-29, which increases in the dynamics of cultivation. There is a decrease in the volume density of mitochondria, tanks of the granular endoplasmic network, free polysomal complexes, while increasing the volume density of autophagosomes, autolysosomes and lysosomes. The data obtained indicate that lithium carbonate contributes to the reduction of energy and synthetic functions of GA-29 cells, the development of catabolic processes in them and the launch of cell death processes. The data obtained make a significant contribution to cell biology, Cytology and histology, as well as Oncology. The practical significance of the results is that on the basis of the identified ultrastructural changes in hepatocarcinoma cells under the influence of lithium carbonate, it is possible to develop approaches to targeted therapy of this type of cancer.

Key words: hepatocarcinoma-29, ultrastructure, lithium carbonate.

Досымбекова Р.С.[1*], Бгатова Н.П.[2], Таскаева Ю.С.[2],
Тунгушбаева З.Б.[1], Шарипов К.О.[3]

[1]Абай атындағы Қазақ ұлттық педагогикалық университеті, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: raushan@mail.ru
[2]Клиникалық және эксперименттік лимфология ғылыми-зерттеу институты –
Ресей ғылым академиясының Сібір бөлімшесінің цитология және генетика институтының
Федералдық зерттеу орталығы, Ресей, Новосібір қ.
[3]«Ұлттық медицина университеті» акционерлік қоғамы, Қазақстан, Алматы қ.

Литий карбонатының гепатокарцинома-29 жасушаларының ультрақұрылымдық ұйымдасуына культивациялау динамикасы барысында әсері

Зерттеу тақырыбымыз қазіргі заманғы эксперименттік онкологияның өзекті бағыты – апоптоздың дамуына ықпал етіп, ісік жасушаларының ультрақұрылымдық өзгерістерін туындатып, жасушаны жоятын индукторлар әсерін зерттеу мәселесі болып табылады. Бұл жұмыстың мақсаты гепатокарцинома-29 жасушаларын культивациялау динамикасы барысындағы ультрақұрылымдық ұйымдасуына литий карбонатының әсерін зерттеу. Жұмыстың ғылыми маңыздылығы литий карбонаты әсерінен гепатокарцинома жасушаларының ультрақұрылымдық ұйымдасуында туындаған жаңа өзгерістер туралы мәліметтер алу. Осы зерттеудің жаңалығы литий карбонатын енгізу кезінде гепатокарцинома-29 жасушаларының цитоплазмалық органеллаларының құрамы мен құрылымындағы рет-ретімен жүретін өзгерістерді культивациялау динамикасы кезінде анықтау. Жұмыстың практикалық маңыздылығы литий карбонаты мен цитостатиктерді аралас қолдану жолымен гепатокарциномаға таргеттік терапияны жүргізу үшін, алынған деректерді пайдалану мүмкіндігіне негізделеді, бұл апоптозды және аутофагиялық жолмен жасушаның жойылуын ынталандыру үшін түрлі жасушалық сигнал беретін жолдарды бір мезгілде іске қосуға мүмкіндік береді. Жұмыс жарық және электрондық микроскопия әдістерін пайдалана отырып, культивация жүргізілген гепатокарцинома-29 жасушаларында зерттелген. Литий карбонатының әсерінен культивациялау динамикасы кезінде ГК-29 жасушаларының цитоплазмасындағы органеллаларда көлемдік және сандық тығыздықтарында өзгерістер туындағаны анықталды. Карбонат ГК-29 жасушаларын зақымдайды, оның зақымдаушы әсері культивациялау динамикасы кезінде арта түседі. Мысалы, митохондрияларда, түйіршікті эндоплазмалық тор цистерналарында, бос полисомалық кешендердің көлемдік тығыздықтары кеміген, бірақ аутофагосом, аутолизосом және лизосоманың көлемдік тығыздықтары артқан. Алынған мәліметтер литий карбонаты ГК-29 жасушаларының энергетикалық және синтетикалық функцияларының төмендеуіне, олардағы катаболизм процестерінің дамуына және жасушалық жойылу үрдістерінің іске қосылуына ықпал ететінін куәландырады. Алынған деректер жасушалық биологияға, цитология мен гистологияға, сондай-ақ онкологияға елеулі үлес қосады. Жұмыс қорытындыларының практикалық маңыздылығы гепатокарцинома жасушаларында анықталған ультрақұрылымдық өзгерістерді негізге ала отырып, литий карбонатының зақымдаушы әсер көрсетуіне байланысты, обырдың осы түріне таргеттік терапия әдісі дайындалып, қолданылуы мүмкін.

Түйін сөздер: гепатокарцинома-29, ультрақұрылым, карбонат литий.

Введение

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) входит в число пяти наиболее злокачественных новообразований человека и занимает одно из лидирующих мест в структуре смертности от онкологических заболеваний [1-3]. Частота гепатоцеллюлярной карциномы достигает 95% среди всех первичных злокачественных новообразований печени [4]. ГЦК является крайне гетерогенным злокачественным новообразованием и характеризуется наличием морфологической, иммунофенотипической и генетической гетерогенности [5].

Актуальным является поиск средств, запускающих процессы гибели клеток гепатокарциномы. В качестве таких агентов могут быть использованы соли лития. Известно, что соли лития могут воздействовать на различные сигнальные пути, используемые опухолевыми клетками для роста и развития, однако в основном эффекты лития связывают с его способностью ингибировать изоформы гликоген синтазы киназы 3 [6-7]. Показано, что литий может оказывать влияние на клеточный цикл, пролиферацию и стимулировать гибель опухолевых клеток [8] и, таким образом, может рассматриваться как потенциальный агент для химиотерапии ГЦК.

В связи с этим, целью данного исследования стала оценка ультраструктурных изменений, происходящих в клетках ГК-29 под влиянием карбоната лития в динамике культивирования.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на культуре клеток гепатокарциномы-29. Гепатокарцинома-29 (ГК-29) была получена и верифицирована сотрудниками Института цитологии и генетики СО РАН [9]. Клетки ГК-29 наращивали в течение 2-3 недель пассированием через мышей-самок CBA (10^6 клеток на мышь). В качестве индуктора клеточной гибели использовали карбонат лития.

Для выявления ранних структурных изменений, запускающих гибель клеток, была выбрана концентрация солей лития 5мМ, при которой в среднем жизнеспособными оставались 50% клеток [8] .

Для изучения морфологии, интактные клетки ГК-29 (контроль) и клетки после 1 часа, 24-х и 48 часов инкубации с раствором карбоната лития в дозе 5 мМ фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида (Sigma, США), приготовленном на фосфатном буфере (pH=7,4). Материал дофиксировали в течение 1 часа в 1 % растворе OsO_4 (осмий тетроксид) (Sigma, США) на фосфатном буфере (pH=7,4), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон (Serva, Германия). Полутонкие срезы толщиной 1 мкм получали на ультрамикротоме Leica EM UC7 (Германия/Швейцария), окрашивали толуидиновым синим и изучали под световым микроскопом «LEICADME» (Германия). Ультратонкие срезы толщиной 70-100 нм контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1400. Морфометрический анализ проводили с помощью компьютерной программы ImageJ (WayneRasband, США). Определяли объемные плотности митохондрий, цистерн эндоплазматического ретикулума, лизосом, аутофагосом и численную плотность свободных полисомальных рибосом.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0. Определяли средние значения (M) и стандартное отклонение (SD). Достоверность различий рассчитывали по U-критерию Манна-Уитни и принимали при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При культивировании клеток ГК-29 в течение 48 часов отмечали изменение объемной плотности митохондрий (рис. 1А). Через 24 часа исследования объемная плотность митохондрий снижалась на 25%, а через 48 часов культивирования она увеличивалась на 13% (рис. 1А). Через 1 час после введения в культуру клеток ГК-29 карбоната лития объемная плотность митохондрий уменьшалась на 12% ($p<0,05$), через 24 часа данный показатель оставался сниженным по сравнению с контролем на этот срок исследования на 12 ($p<0,05$), а через 48 часов инкубации уменьшался на 38 ($p<0,05$). При сравнении величин объемной плотности митохондрий в группах с введениям карбоната лития, было выявлено, что через 24 часа после введения лития объемная плотность митохондрий достоверно не изменялась, а через 48 часов инкубации она снизилась на 30% (рис. 1А).

При культивировании клеток ГК-29 в течение 48 часов отмечали изменение объемной плотности цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума (рис. 1Б). Через 24 часа исследования объемная плотность цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума снизилась на 30%, а через 48 часов культивирования она увеличивалась на 45%, по сравнению с предыдущим сроком исследования (рис. 1Б).

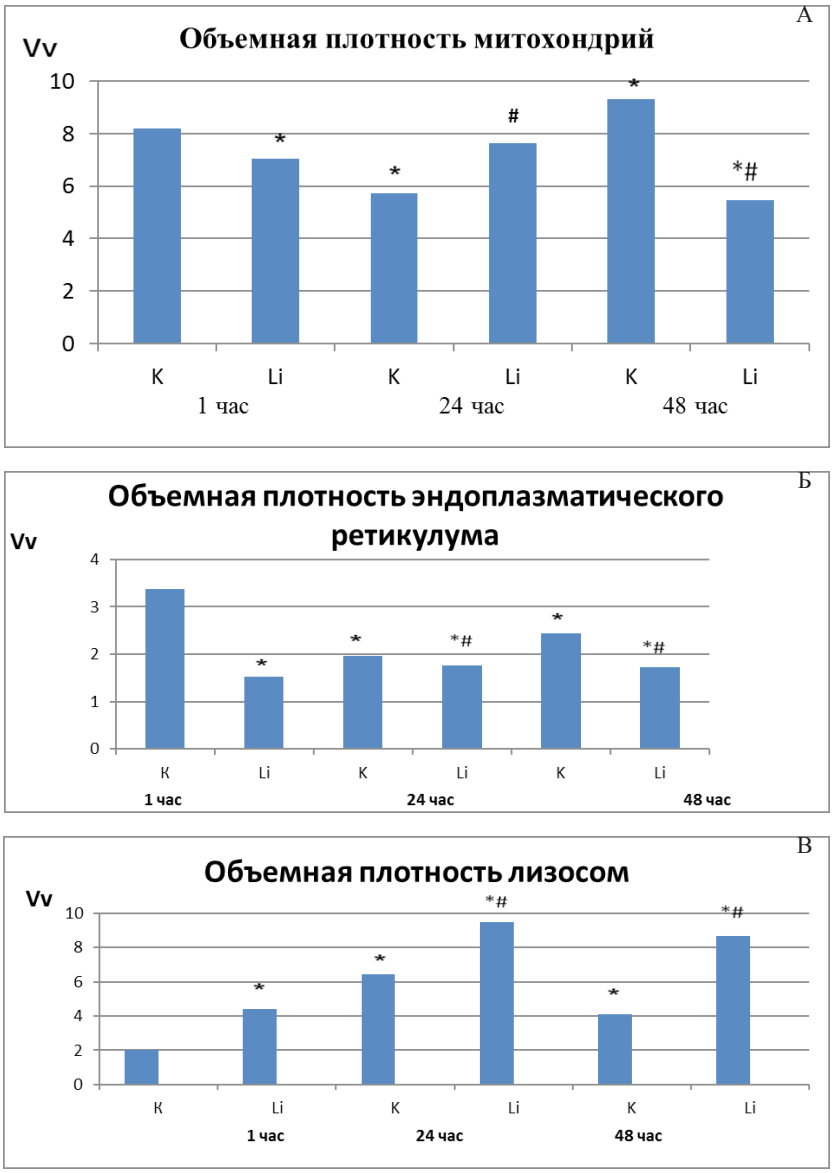


Рисунок 1 – Объемные плотности цитоплазматических органелл гепатокарциномы-29 после воздействия карбоната лития

А – Объемная плотность митохондрий;
Б – объемная плотность эндоплазматического ретикулума;
В – Объемная плотность лизосом. Vv – объемная плотность структур (%).
К – контроль, Li – карбонат лития . 1, 24, 48 час – время после воздействия карбоната лития.
* – достоверные отличия от Контроля (1 час инкубации) – $p<0,05$,
# – достоверные отличия от Контроля (24 и 48 час инкубации) – $p<0,05$

После введения в культуру клеток ГК-29 карбоната лития, наблюдали снижение объемной плотности цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума. Через 1 час после введения лития объемная плотность цистерн эндоплазматического ретикулума уменьшалась на 53,4% ($p<0,05$), через 24 часа данный показатель отличался от значения в контроле на этот срок исследования на 10,2 %, ($p<0,05$), а через 48 часов инкубации снижался на 29,8 % ($p<0,05$).

При сравнении величин объемной плотности цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума в группах с введениям карбоната лития, было выявлено, что через 24 и 48 часов после введения лития, она сохранялась увеличенной на 13% (рис. 1Б).

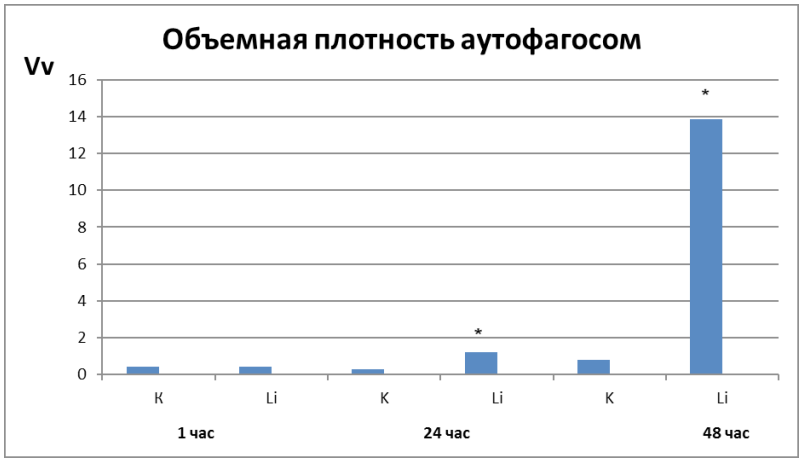
При культивировании клеток ГК-29 в течение 48 часов отмечали изменение объемной плотности лизосом. Через 24 часа культивирования объемная плотность лизосом возрастала в 3 раза, а через 48 часов культивирования она снизилась на 24% (рис. 1В).

Воздействие карбоната лития отличалось от значения в контроле приводило к возрастанию в клетках ГК-29 объемной плотности лизосом (рис. 1В). Через 1 час после введения лития объемная плотность лизосом увеличивалась в 2 раза, через 24 часа данный показатель отличался от значения в контроле на этот срок исследования и объемная плотность лизосом увеличивалась на 47,4% ($p<0,05$), а через 48 часов инкубации возрастала на в 2 раза.

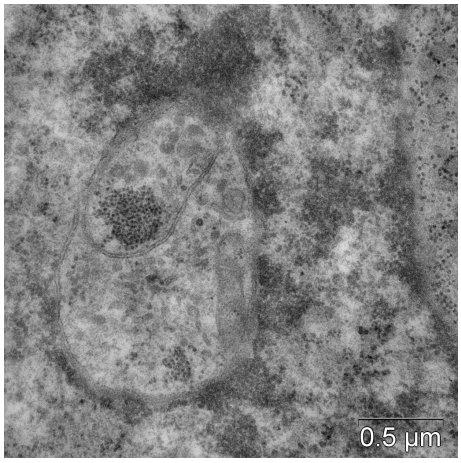
При сравнении величин объемной плотности лизосом в группах с введениям карбоната лития, было выявлено, что через 24 и 48 часов после введения лития объемная плотность лизосом была увеличенной в 2 раза (рис. 1В).

При культивировании клеток ГК-29 в течение 48 часов отмечали изменение объемной плотности аутофагосом. Через 24 часа исследования объемная плотность аутофагосом снижалась на 30%, а через 48 часов культивирования она увеличивалась на 80% (рис. 2А).

В условиях введения в культуру клеток ГК-29 карбоната лития отмечали возрастание объемной плотности аутофагосом через 24 часа данный показатель увеличился в 4 раза по сравнению с контролем на этот срок исследования. Наибольшее значение данного показателя наблюдали через 48 часов после введения карбоната лития. Величина объемной плотности аутофагосом в данном случае превосходило соответствующее значение и увеличивалась в 17 раз.



А



Б

Рисунок 2 – Содержание аутофагосом в цитоплазме клеток гепатокарциномы-29.

А – объемная плотность аутофагосом. Vv – объемная плотность структур (%).
К – контроль, Li – карбонат лития . 1, 24, 48 час – время после воздействия карбоната лития.
* – достоверные отличия от Контроля – $p<0,05$.
Б – Аутофагосома в цитоплазме клетки гепатокарциномы-29 через 24 часа после инкубации с карбонатом лития.

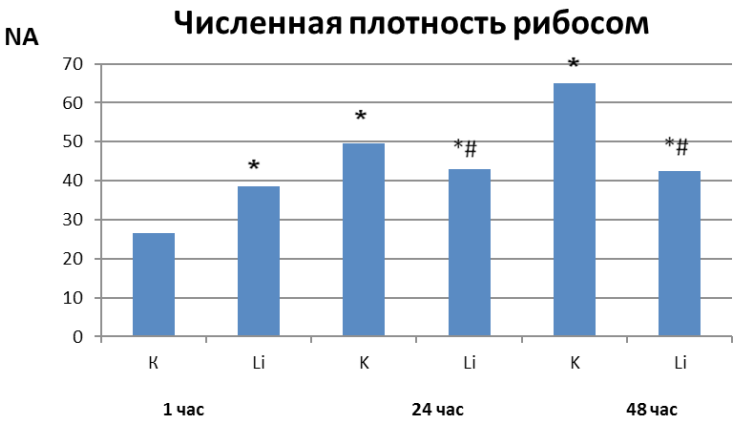
При сравнении величин объемной плотности аутофагосом в группах с введениям карбоната лития, было выявлено, что через 24 час после введения лития объемная плотность аутофагосом увеличивалась в 3 раза, а через 48 часов инкубации возрастала в 11 раз (рис. 2А, Б).

При культивировании клеток ГК-29 в течение 48 часов отмечали изменение объемной плотности свободных полисомальных комплексов рибосом. Через 24 часа исследования объемная плотность свободных полисомальных комплексов рибосом возрастала в 2,5 раза, а через 48 часов культивирования она увеличивалась на 31,8% (рис. 3А).

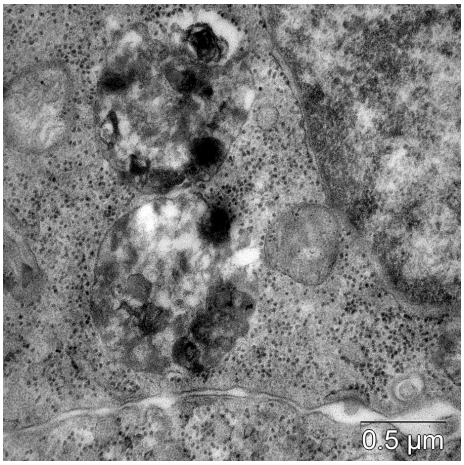
В результате воздействия карбоната лития, в клетках ГК-29 снижалась численная плотность свободных полисомальных комплексов рибосом и возрастало содержание аутолизосом (рис. 3А Б). Через 1 час после введения лития объемная плотность свободных полисомальных комплек-

сов рибосом увеличивалась на 45,1% (p<0,05), через 24 часа данный показатель отличался от значения в контроле на этот срок исследования и уменьшался на 13,3%, а через 48 часов инкубации снижался на 34,9% (p<0,05).

При сравнении величин объемной плотности свободных полисомальных комплексов рибосом в группах с введениям карбоната лития, не было выявлено достоверных изменений во все сроки инкубирования. (рис. 3А).



А



Б

Рисунок 3 – Влияние карбоната лития на ультраструктуру клеток гепатокарциномы-29.

А – Численная плотность свободных полисомальных рибосом. NA – численная плотность структур.
К – контроль, Li – карбонат лития . 1, 24, 48 час – время после воздействия карбоната лития.
* – достоверные отличия от Контроля (1 час инкубации) – p<0,05,
# – достоверные отличия от Контроля (24 и 48 час инкубации) – p<0,05.
Б – Аутолизосомы в цитоплазме клетки гепатокарциномы-29 через 48 часов после воздействия карбоната лития.

Ранее нами было показано наличие базальной аутофагии в клетках ГК-29 [11-12]. При введении карбоната лития в культуру ГК-29 отмечали дозозависимое снижение жизнеспособности [8] и развитие аутофагии [10]. Известно, что аутофагия является эволюционно консервативным процессом деградации и утилизации долгоживущих клеточных белков и поврежденных органелл [13].

В данном исследовании нами были выявлены ультраструктурные изменения в клетках ГК-29 в динамике культивирования с карбонатом лития предшествующие развитию аутофагии. Было отмечено снижение объемной плотности митохондрий. Митохондрии являются основными органеллами, в которых образуется АТФ, необходимая для обеспечения энергией все внутриклеточные процессы. Наблюдаемое уменьшение объемных плотностей цистерн гранулярной эндоплазматической сети и свободных полисомальных комплексов свидетельствуют о снижении белок-синтетической функции клеток ГК-29 при воздействии карбоната лития. Как следствие дефицита энергии и пластических материалов в цитоплазме клеток ГК-29 происходило развитие аутофагии: значительно возрастали объемные плотности аутофагосом и аутолизосом и лизосом. В процессе аутофагии участки цитоплазмы и дефектные органеллы окружаются мембранами, образуя органеллы, называемые аутофагосомами [14].

Таким образом, в клетках ГК-29 в динамике культивирования с карбонатом лития преобладали катаболические процессы, которые могли обусловить развитие отмеченных ранее процессов клеточной гибели [10]. Изменения в сигнальных путях, связанные с аутофагией, часто происходят при различных патологиях, в том числе и злокачественных новообразованиях [15]. Программируемая гибель клеток важнейший физиологический механизм функционирования отдельных клеток, их популяций и организма в целом [16].

Выделяют несколько вариантов программированной клеточной гибели, которые можно объединить по характеру развития в основные

типы: апоптоз, аутофагическую гибель и программированный некроз [17]. Апоптоз и аутофагия не провоцируют воспаление, поэтому их рассматривают как терапевтические мишени для лечения рака [18].

Аутофагическая клеточная гибель – отдельный механизм клеточной гибели, отличающийся от апоптоза и некроза молекулярными и морфологическими изменениями [19]. Предполагается, что в живых системах апоптоз и аутофагическая клеточная гибель могут запускаться одновременно, и наблюдаемые изменения, более характерные для того или иного типа клеточной гибели, будут зависеть от конкретного момента наблюдения. Подобно всем жизненно важным биологическим процессам, программируемая гибель клеток ключ к лечению многих заболеваний [20].

В регуляции апоптоза участвуют молекулы различных сигнальных путей. Одним из них является сигнальный путь Wnt. Неотъемлемым компонентом Wnt-пути является его негативный регулятор – GSK-3β. Ингибирование GSK-3β влияет на клеточную пролиферацию и развитие апоптоза при различных типах рака [21] GSK-3 существует в виде двух изоформ – GSK-3α и GSK-3β, и обе они могут быть ингибированы с помощью лития [6]. Соли лития традиционно используются для терапии биполярных расстройств, однако в последнее время появляется все больше исследований лития в разных областях экспериментальной онкологии [22]. В последнее время появляются работы, показывающие эффективность использования лития для подавления опухолевого роста [23]. Известно, что литий способен модулировать апоптоз и аутофагию в раковых клетках [24]. Литий индуцирует аутофагию за счет модуляции сигнального пути фосфоинозитола, путем ингибирования фермента IMPase [25]. Полученные нами данные свидетельствуют, что применение карбоната лития при культивировании клеток ГК-29 способствует запуску механизмов клеточной гибели.

Заключение

Таким образом, карбонат лития оказывает на клетки ГК-29 повреждающее действие, которое нарастает в динамике культивирования. Происходит уменьшение объемной плотности митохондрий, цистерн гранулярной эндоплазматической сети, свободных полисомальных комплексов, при этом возрастают объемные плотности аутофагосом, аутолизосом и лизосом. Полученные данные свидетельствуют, что карбонат лития способствует снижению энергетической и синтетической функций клеток ГК-29, развитию в них катаболических процессов и запуску процесса клеточной гибели.

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

Благодарности. Авторы выражают благодарность руководителю Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии проф. Летягину А.Ю. за поддержку и содействие в выполнении научной работы и А.О. Соловьевой за оказанную помощь в культивировании клеток гепатокарциномы-29.

Работа выполнена в рамках государственного задания НИИКЭЛ-филиал ИЦиГ СО РАН Соглашение № 075-03-2019-333 от 29.01.2019.

Сокращения и обозначения

Г-29- гепатокарцинома-29

Литература

1 Galle P.R. Treating hepatobiliary cancers: the oncology way // Dig. Dis. – 2017. – № 35. – Vol.4. – P. 384–386.

2 da Motta Girardi D., Correa T.S., Crosara Teixeira M., Dos Santos Fernandes G. Hepatocellular carcinoma: review of targeted and immune therapies // J. Gastrointest. Cancer. – 2018. – № 49. – Vol. 3.– P. 227–236.

3 Hartke J, Johnson M, Ghabril M. The diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. Semin Diagn Pathol //Gastroenterology and Hepatology – 2017. – № 2.– Vol.34.– P.153-159. doi: 10.1053/j.semdp.2016.12.011.

4 Хазанов А.И. Гепатоцеллюлярная карцинома.// Гастроэнтерология и гепатология. М. – 2011. – С. 759 – 766.

5 Jeng K.S., Chang C.F., Jeng W.J., Sheen I.S., Jeng C.J. Heterogeneity of hepatocellular carcinoma contributes to cancer progression // Crit. Rev. Oncol. Hematol. – 2015. – № 94. – Vol. 3.– P. 337–47.

6 Freland L., Beaulieu J.M. Inhibition of GSK3 by lithium, from single molecules to signaling networks // Front. Mol. Neurosci. – 2012. – Vol. 5. – P. 14.

7 Li L., Song H., Zhong L., Yang R., Yang X.Q., Jiang K.L., Liu B.Z. Lithium chloride promotes apoptosis in human leukemia NB4 cells by inhibiting glycogen synthase kinase-3 beta // Int. J. Med. Sci. – 2015. – Vol. 10. – № 12. – P. 805–10

8 Гаврилова Ю.С., Бгатова Н.П., Соловьева А.О., Трифонова К.Э., Лыков А.П., Бородин Ю.И., Коненков В.И. Клетки-мишени различных форм лития в гетерогенной популяции гепатокарциномы-29 // Цитология. – 2016. – Т. 58. № 3. – С. 186-191.

9 Каледин В.И., Жукова Н.А., Николин В.П., Попова Н.А., Беляев М.Д., Багинская Н.В., Литвинова Е.А., Толстикова Т.Г., Лушникова Е.Л., Семенов Д.Е. Гепатокарцинома-29, метастазирующая перевиваемая опухоль мышей, вызывающая кахексию // Бюл. Экспер. Биол. – 2009. – Т. 148. – № 12. – С. 664-669.

10 Бгатова Н.П., Гаврилова Ю.С., Лыков А.П., Соловьева А.О., Макарова В.В., Бородин Ю.И., Коненков В.И. Апоптоз и аутофагия в клетках гепатокарциномы индуцированные различными формами солей лития // Цитология. – 2017. – Т. 59. – № 3. – С. 178-184.

11 Бгатова Н.П., Досымбекова Р.С., Рахметова А.М., Бахбаева С.А., Шарипов К.О., Тунгушбаева З.Б.,Жумадина Ш.М., Таскаева Ю.С., Макарова В.В., Соловьева А.О., Бородин Ю.И. Клеточная гетерогенность и аутофагия в популяции гепатокарциномы-29.// Вестник Кыргызско-российского славянского университета./Серия медицинские науки. – 2018 – № 9(18). – С. 117-121.

12 Досымбекова Р.С., Шарипов К.О., Тунгушбаева З.Б., Таскаева Ю.С., Соловьева А.О., Бгатова Н.П. Гетерогенность и базальная аутофагия в клетках гепатокарциномы-29.// Вестник. Казахский национальный университет им. Аль-Фараби./ Серия биологическая. – 2019. – № 1 (78). – С. 140-149.

13 White, E. Autophagy, metabolism, and cancer. / E. White, J. M. Mehnert, C. S. Chan // Clin. Cancer Res. – 2015. – № 21. – Vol. 22. – P. 5037–46.

14 Пархитько А. А., Фаворова Э.П., Хенске О.О. Аутофагия: механизмы, регуляция и роль в развитии опухолей обзор // Биохимия.– 2013. – Т. 78. – № 4. –С. 466–480.

15 Рябая, О. О. Егорова А. В., Степанова Е. В. Роль аутофагии в механизмах гибели опулеховых клеток // Успехи современной биологии. – 2015.– Т. 135. – № 2. – С. 177-188.

16 Ковалева О.В., Шитова М.С., Зборовская И.Б. Аутофагия: клеточная гибель или способ выживания? //Клиническая онкогематология– 2014. – Т.7. – №2 – С. 103-113

17 Edinger A. L. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. / Edinger A.L., Thompson C.B. // Curr. Opin. Cell Biol. – 2004. – Vol. 6. – № 16. – P. 663– 669.

18 Zhang, C. Polyphyllin VII induces an autophagic cell death by activation of the JNK pathway and inhibition of PI3K/AKT/mTOR pathway in HepG2 cells. // PLoS One –2016. – №11. – Vol. 1.

19 Thorburn A. Apoptosis and autophagy: regulatory connections between two supposedly different processes. / A. Thorburn // Apoptosis. – 2008. – Vol. 1. – № 13. – P. 1–9.

20 Животовский Б.Д. Программируемая гибель клеток-медицине// «Химия и жизнь» Биология. Медицина. – 2014. –№5. – С.68

21 de Araujo W.M., Robbs B.K., Bastos L.G., de Souza W.F., Vidal F.C., Viola J.P., Morgado-Diaz J.A. PTEN overexpression cooperates with lithium to reduce the malignancy and to increase cell death by apoptosis via PI3K/Akt suppression in colorectal cancer cells // J. Cell Biochem. – 2016. – Vol. 2. – № 117. – P. 458–69.

22 Таскаева Ю.С., Бгатова Н.П. Ультраструктурные изменения в клетках гепатоцеллюлярной карциномы-29 при введении карбоната лития в эксперименте // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 167. – № 1. – С. 94– 98.

23 Гаврилова Ю.С., Бгатова Н.П., Лыков А.П., Соловьева А.О., Бородин Ю.И., Коненков В.И. Противоопухолевые эффекты различных форм лития //Российский Биотерапевтический Журнал. – 2016. – Т.15. – №1. – С.21

24 O'Donovan T.R., Rajendran S., O'Reilly S., O'Sullivan G.C., McKenna S.L. Lithium modulates autophagy in esophageal and colorectal cancer cells and enhances the efficacy of therapeutic agents in vitro and in vivo// PLoS One. – 2015. – Vol. 8. – № 10. – P.1371

25 Berridge M.J., Downes C.P., Hanley M.R. Litium amplifies agonist-dependent phosphatidylinositol responses in brain and salivary glands// Biochem. J. – 1982. – Vol. 3. – № 206. – P. 587–95.

References

1 Bgatova N. P. Gavrilova Yu. S., Lykov A. P., Solovieva A. O., Makarova V. V., Borodin Yu. I., Konenkov V. I. (2017) Apoptosis and autophagy in hepatocarcinoma cells induced by various forms of lithium salts. Cytology., vol. 59, no 3, pp.178-184.

2 Bgatova N. P. Dossymbekova R. S., Rakhmetova A. M., Babaeva S. A., Sharipov K. O., Tungushbaev Z. B.,Jumadin S. M., Taskaeva, Y. S., Makarov V. V., Soloviev A. A., Borodin Yu. I. (2018) Cellular heterogeneity and autophagy in a population of hepatocarcinoma-29. Bulletin of the Kyrgyz-Russian Slavic University.Medical Sciences series., no 9(18), pp. 117-121.

3 Berridge M.J., Downes C.P., Hanley M.R. (1982) Litium amplifies agonist-dependent phosphatidylinositol responses in brain and salivary glands. Biochem. J., vol. 3, no 206, pp. 587–95.

4 4.da Motta Girardi D., Correa T.S., Crosara Teixeira M., Dos Santos Fernandes G. (2018) Hepatocellular carcinoma: review of targeted and immune therapies. J. Gastrointest. Cancer., no 49, vol. 3, pp. 227–236.

5 Dossymbekova R. S., Sharipov K. O., Tungushbayeva Z. B., Taskaeva Yu. S., Solovieva A. O., Bgatova N. P. (2019) Heterogeneity and basal autophagy in hepatocarcinoma cells-29. Bulletin. Kazakh national University. Al-Farabi. Biological series. no 1 (78), pp. 140-149.

6 de Araujo W.M., Robbs B.K., Bastos L.G., de Souza W.F., Vidal F.C., Viola J.P., Morgado-Diaz J.A. (2016) PTEN overexpression cooperates with lithium to reduce the malignancy and to increase cell death by apoptosis via PI3K/Akt suppression in colorectal cancer cells J. Cell Biochem., vol. 2, no 117, pp. 458–69.

7 Edinger A. L. (2004) Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. Edinger A.L., Thompson C.B. Curr. Opin. Cell Biol., vol. 6, no 16, pp. 663–669.

8 Freland L., Beaulieu J.M. (2012) Inhibition of GSK3 by lithium, from single molecules to signaling networks. Front. Mol. Neurosci., vol. 5, pp. 14.

9 Galle P.R. (2017) Treating hepatobiliary cancers: the oncology way. Dig. Dis., no 35, vol.4. – pp. 384–386.

10 Gavrilova Yu. S., Bgatova N. P., Solovieva A. O., Trifonova K. E., Lykov A. P., Borodin Yu. I., Konenkov V. I. (2016) Target cells of various forms of lithium in heterogeneous population of hepatocarcinoma-29. Cytology., vol. 58, no 3, pp. 186-191.

11 Gavrilova Yu. S., Bgatova N. P ... Lykov A. P., Solovieva A. O., Borodin Yu. I., Konenkov V. I. (2016) Antitumor effects of various forms of lithium. Russian Biotherapeutic Journal., vol. 15., no 1, pp. 21.

12 Hartke J, Johnson M, Ghabril M. (2017) The diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. Semin Diagn Pathol . Gastroenterology and Hepatology ., no 2, vol. 34, pp. 153-159. doi: 10.1053/j.semdp.2016.12.011.

13 Hazanov A. I. (2011) Hepatocellular carcinoma. Gastroenterology and Hepatology., pp. 759 – 766.

14 Jeng K.S., Chang C.F., Jeng W.J., Sheen I.S., Jeng C.J. (2015) Heterogeneity of hepatocellular carcinoma contributes to cancer progression. Crit. Rev. Oncol. Hematol., no 94, vol. 3, pp. 337–47.

15 Kovaleva O. V., Shitova M. S., Zborovskaya I. B. (2014) Autophagy:the way of survival? Clinical Oncohematology., vol.7, no. 2, pp. 103-113.

16 Kaledin V. I., Zhukova N. A. Nikolin V. P., Popova N. A. Belyaev M. D., Baginskaya N. In. Litvinova E. A., Tolstikova T.G., Lushnikova, E. L., Semenov D. E. (2009) Hepatocarcinoma-29, metastatic transplantable tumor of mice that causes cachexia . bull. Exp. Biol., vol. 148, no 12, pp. 664-669.

17 Li L., Song H., Zhong L., Yang R., Yang X.Q., Jiang K.L., Liu B.Z. (2015) Lithium chloride promotes apoptosis in human leukemia NB4 cells by inhibiting glycogen synthase kinase-3 beta. Int. J. Med. Sci,. vol. 10, no 12. pp. 805–10.

18 O'Donovan T.R., Rajendran S., O'Reilly S., O'Sullivan G.C., McKenna S.L. (2015) Lithium modulates autophagy in esophageal and colorectal cancer cells and enhances the efficacy of therapeutic agents in vitro and in vivo. PLoS One., vol. 8, no 10, pp. 1371.

19 Parhitko A. A., Favorova E. P., Henske O. (2013) Autophagy: mechanisms, regulation and role in tumor development review. Biochemistry., vol. 78, no 4, pp. 466-480.

20 Ryaboy, O. O. Egorova, A. V., Stepanova E. V. (2015) the Role of autophagy in the mechanisms of cell death appleholic. Successes of modern biology., vol. 135, no 2, pp. 177-188.

21 Thorburn A. (2008) Apoptosis and autophagy: regulatory connections between two supposedly different processes. Apoptosis., vol. 1, no 13, pp. 1–9.

22 Taskaeva Yu. S., Bgatova N. P. (2019) Ultrastructural changes in hepatocellular carcinoma-29 cells after administration of lithium carbonate in experiment. Bulletin of experimental biology and medicine., vol. 167, no 1, pp. 94– 98.

23 White, E. (2015) Autophagy, metabolism, and cancer. Clin. Cancer Res., no 21, vol. 22, pp. 5037-46.

24 Zhang, C. (2016) Polyphyllin VII induces an autophagic cell death by activation of the JNK pathway and inhibition of PI3K/AKT/mTOR pathway in HepG2 cells. PLoS One ., no 11, vol. 1.

25 Zhivotovsky B. D. (2016) Programmable cell death-medicine. "Chemistry and life" Biology. Medicine., no 5, pp. 68.

6-бөлім

МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА

Section 6

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

Раздел 6

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

IRSTI 34.15.23; 34.15.25; 31.27.31; 76.03.31; 76.29.49 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b10

Akimniyazova A.N.[1*], Ivashchenko A.T.[2]

[1]PhD-student, trainee-researcher, e-mail: akimniyazova@gmail.com
[2]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

CHARACTERISTICS OF MIRNA INTERACTION WITH MRNA CANDIDATE GENES OF ESOPHAGEAL ADENOCARCINOMA

miRNAs is a class of nano-sized non-coding RNAs that regulate the expression of genes, and associated with many physiological and pathological processes, especially cancer. The expression of many genes is regulated by the binding of their mRNA with miRNA, so it is required to identify which candidate genes of oncogenesis and to what extent can interact with miRNA. The purpose of this work was to establish the characteristics of the interaction of known 3707 miRNA with mRNA of 38 candidate esophageal adenocarcinoma genes. It has been identified, that 84 miRNAs have binding sites in 31 mRNAs of genes at 5'UTR, CDS, and 3'UTR and the average free binding energy (ΔG) of miRNAs with mRNAs was -121 kJ/mole, -118 kJ/mole and -113 kJ/mole, respectively. 19 associations of miRNAs and mRNA of genes with a free energy of interaction more than -120 kJ/mole are recommended for the diagnosis of esophageal adenocarcinoma. The mRNAs of most genes containing two or more miRNA binding sites with overlapping of their nucleotide sequences form clusters. Based on the obtained results, associations of miRNA and mRNA of candidate genes are recommended to develop methods for early diagnosis of esophageal adenocarcinoma.

Key words: mRNA, miRNA, genes, oncological diseases, esophageal adenocarcinoma.

Акимниязова А.Н.[1*], Иващенко А.Т.[2]

[1]PhD-докторанты, тәжірибе-жинақтаушы, e-mail: 401052@mail.ru
[2]биология ғылымдарының докторы, профессор, бас ғылыми қызметкері,
e-mail: a_ivashchenko@mail.ru
Биология және биотехнология мәселелерінің ғылыми-зерттеу институты,
әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

Өңеш аденокарцинома кандидатты гендердің mRNA-ның miRNA-мен өзара әсерлесуінің сипаттамалары

miRNA – гендік экспрессияны реттейтін және өлшемі көптеген физиологиялық және патологиялық процестермен, атап айтқанда қатерлі ісік ауруымен байланысты нано-өлшемді, кодталмаған RNA класы. Көптеген гендердің экспрессиясы олардың mRNA-лары мен miRNA-ның байланыстыру арқылы реттеледі, сондықтан онкогенездің қай кандидаттық гендерін және miRNA-мен қандай дәрежеде әрекеттесетінін анықтау қажет. Бұл жұмыстың мақсаты белгілі 3707 miRNA-дың 38 кандидатты өңеш аденокарцинома гендерінің mRNA-мен өзара әсерлесуінің дәрежесін анықтау болды. 84 miRNA-ның 31 mRNA-да гендерінде 5'UTR, CDS және 3'UTR-де байланыстыратын сайттар бар екендігі анықталды, ал mRNA-мен бірге осы miRNA-ның орташа бос байланыс энергиясы (ΔG) -121 кДж/моль, -118 кДж/моль және -113 кДж/мольға сәйкесінше болды. Өңештің аденокарциномасын диагностикалау үшін 19 mRNA гендерімен еркін әрекеттесу энергиясы -120 кДж / мольден асатын 19 miRNA бірлестігі ұсынылады. Екі немесе одан да көп miRNA – байланыстыратын сайттар бар нуклеотидтер тізбегі қабаттасатын гендердің көпшілігінің mRNA-сы кластерлерді қалыптастырады. Алынған нәтижелер негізінде, miRNA-мен mRNA-ға кандидат гендерімен ассоциациясына өңеш аденокарциномасын ерте диагностикалау әдісін жасау ұсынылады.

Түйін сөздер: mRNA, miRNA, гендер, онкологиялық аурулар, өңеш аденокарцинома.

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Акимниязова А.Н.[1*], Иващенко А.Т.[2]
[1]PhD-докторант, стажер-исследователь, e-mail: akimniyazova@gmail.com
[2]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

Характеристики взаимодействия miRNA с mRNA кандидатных генов аденокарциномы пищевода

miRNA класс нано-размерных, не кодирующих РНК, которые регулируют экспрессию генов, и связаны со многими физиологическими и патологическими процессами, в частности с раком. Экспрессия многих генов регулируется связыванием их mRNA с miRNA, поэтому требуется выявить, какие кандидатные гены онкогенеза и в какой степени могут взаимодействовать с miRNA. Цель настоящей работы заключалась в установлении характеристик взаимодействия известных 3707 miRNA с mRNA 38 кандидатных генов аденокарциномы пищевода. Установлено что, 84 miRNA имеют сайты связывания в 31 mRNA генов в 5'UTR, CDS, и 3'UTR, а средняя свободная энергия связывания (ΔG) этих miRNAs с mRNA составила -121 кДж/моль, -118 кДж/моль и -113 кДж/моль, соответственно. 19 ассоциаций miRNA с mRNA генов со свободной энергией взаимодействия более -120 кДж/моль рекомендуются для диагностики аденокарциномы пищевода. mRNAs большинства генов, содержащих два или более сайтов связывания miRNA с наложением их нуклеотидных последовательностей, образуют кластеры. На основании полученных результатов, ассоциации miRNA с mRNA генов-кандидатов рекомендуются для разработки метода ранней диагностики аденокарциномы пищевода.

Ключевые слова: mRNA, miRNA, гены, онкологические заболевания, аденокарцинома пищевода.

Introduction

Esophageal cancer (EC) usually is found as either adenocarcinoma (EAC) or squamous cell carcinomas (ESCC) (Mathé, 2009: 6192; Zeng, 2016: 232; Rustgi, 2014: 2499). EAC form in the mucus-forming glandular cells and ordinarily develops in the lower one third of the esophagus near the stomach. Barrett's esophagus (Hvid-Jensen, 2011: 365) is the presumed metaplastic precursor of EAC (Desai, 2012: 970; Wani, 2009: 502). There is a persistent need for improving our understanding of the molecular basis of this disease. Finding new biomarkers that cover various aspects of the diseases could provide a choice of suitable therapies and better monitoring of patients with these cancers. Recently, alteration in miRNA expression has emerged as an important hallmark of cancer (Garofalo, 2011: 25; Zhou, 2017: 3893; Wang, 2018: 2018). However, the correlation between changes in expression of genes and miRNAs is not evidence that these genes are targets of these miRNAs (Atambaeva, 2017: 428; Ivaschenko, 2014: 1; Ivaschenko, 2014: e11). It is impossible to experimentally determine how a known miRNA can interact with more than 30,000 of genes and their isoforms. Therefore, it is required to predict the target genes of certain miRNAs and then test them experimentally. miRNAs can affect cancer pathogenesis, playing a crucial role as either oncogenes or tumor suppressors (Hata, 2015: 121). miRNA could potentially alter complex cellular processes such as cell growth, cell cycle, apoptosis and invasion (Wu, 2016: 12061; Poy, 2004: 226; Karp, 2005: 1288; Cheng, 2005: 1290). Identification of specific miRNAs and their target genes, participating in carcinogenesis allows to better understanding the mechanism of regulation of genes expression (Rath, 2016: 112). The recent emergence of observations on the role of miRNAs in cancer and their functions has induced many investigations to examine their relevance to EAC.

Analysis of information to study the involvement of candidate genes in the development of EAC shows that the number of publications on this problem increases in recent years. The present study is aimed to identify miRNA binding sites in mRNA of genes involved in the development of EAC and the clusters of miRNA binding sites in mRNA and their properties. Further, research of these miRNAs would provide a diagnostic strategy based on prevention or treatment of EAC.

Materials and methods

The information about the role and function of genes participating in the development of EAC were taken from GenBank databases and publications. The 38 mRNAs of genes associated with development

of EAC were used in the study. mRNA nucleotide sequences of the human genes were derived from GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) by use of Lextractor script. The nucleotide sequences of 3707 miRNAs were taken from Londin et al. (Londin, 2015: 1106).

Search for miRNA's target genes was performed by MirTarget program, created in our laboratory (Ivashchenko, 2014: 237). This program defines the start of miRNA binding sites in mRNA; localization of binding sites in 5'-untranslated region (5'UTR), protein coding region (CDS), and 3'-untranslated region (3'UTR); free energy of interaction (ΔG, kJ/mole) and scheme of miRNA-mRNA nucleotides (nt) interaction. The ΔG/ΔGm (%) ratio was calculated for each binding site, where ΔG_m is equal to the free energy of miRNA interaction with fully complementary nucleotide sequence. miRNA-mRNA binding sites with ΔG/ΔGm ratio higher than 88% were selected. However, this criterion does not include the length of miRNA, on which ΔG energy also varies, depending on the miRNA lengths. Thus, in miRNAs with the same ΔG/ΔGm value, but varying lengths of 17 nt and 25 nt, correspondingly, the energy of binding of mRNA for miRNA with the length of 25 nt was 1.47 times higher than for miRNA with the length of 17 nt. ΔG/ΔGm value leads to the reduction in the number of false-positive miRNAs with a length of less than 20 nt. The position of binding sites is indicated from the first nucleotide of the 5'UTR in mRNA. The unique property of MirTarget program include consideration of nucleotide interaction in miRNA with mRNA of target genes not only between adenine (A) and uracil (U), guanine (G) and cytosine (C), but also between A and C, G and U via single hydrogen bond (Kool, 2001: 1; Leontis, 2002: 3497). The distance between A-C and G-U is equal to distance value between G-C and A-U.

Results and discussion

The search of genes responsible for the development of EAC performed by the existed fragmented data because there is no available unified database of genes. To create the database of genes, we took as a basis the information available in the NCBI (National Center for Biotechnology Information) and through a search of PubMed. Table 1 presents the information about the candidate genes involved in the development of EAC. The list of candidate genes was formed from publications based on laboratory research.

Table 1 – Database of EAC candidate genes

Gene	PMID	Gene	PMID	Gene	PMID
ALDH1A2	25447851	*ERBB2*	24151090	*NOX5**	26901778
*APOBEC1**	25085003	*ERBB3*	24151090	*OXT**	26406593
AR	26467701	*ESR1*	26406593	*OXTR*	26406593
ARID1A	28440661	*FKBP5*	26467701	*PARP1*	23757351
AXIN2	26297437	*FOXF1*	26383589	*ROCK2*	26901778
BARX1	26383589	*FOXM1*	25889361	*RUNX3*	25229459
BTG3	25701359	*FOXP1*	26383589	*SEPP1**	22715394
*CD55**	26202380	*GDF7*	26783083	*SMAD4*	24952744
CDK9	28404924	*GPBAR1**	28293080	*SOX2*	28692180
*CDKN2A**	25280564	*IGFBP2*	26317790	*TBX5**	26783083
CEP72	27527254	*LEP*	24569475	*TP53*	26733670
CTSE	25348778	*LGALS9*	28586026	*VDR**	25910066
DKK3	26093488	*MUC1*	28212575		
Note: * – indicates mRNAs, that are not targets for miRNA with chosen criteria					

It was found that nine of 38 candidate genes are not targeted by miRNAs with ΔG/ΔGm value higher than 86%, show that their expression level is independent of miRNAs.

The distribution of miRNA binding sites in mRNA was uneven. Most of the miRNA had binding sites in different parts of the mRNA and could bind independently of each other. However, some miRNAs had overlapped nucleotide sequences in binding sites, forming clusters. Table 2 shows the characteristics of the interaction of miRNA in 5'UTR mRNA genes involved in the development of EAC. ID00792.3p-miR and ID00744.3p-miR targeted only mRNA of *ALDH1A2* gene. mRNA of *ARID1A* gene has cluster of binding sites in position from 295 nt to 331 nt with a whole length equal to 37 nt and an average ΔG = -111 kJ/mole. *ARID1A* could act as a tumor suppressor and has an important role in carcinogenesis in many organs (Wu, 2014: 655). ARID1A protein loss was also identified in Barrett's esophagus, a precancerous lesion of esophageal adenocarcinoma, and frequency of loss was higher in lesions with more severe dysplasia (Streppel, 2014: 347).

Table 2 – Characteristics of miRNAs binding sites in 5`UTR mRNA of genes involved in the development of EAC

Gene	miRNA	Start of site, nt	ΔG, kJ/mole	ΔG/ΔGm, %	Length, nt
ALDH1A2	ID00792.3p-miR	10	-132	95	22
	ID00744.3p-miR	122	-125	89	23
AR	ID01739.3p-miR	621	-115	95	21
ARID1A	ID02751.3p-miR	206	-125	92	23
	ID01257.3p-miR	295	-113	93	20
	ID00414.3p-miR	303	-108	93	20
	ID02428.3p-miR	310	-113	91	22
BARX1	ID01675.5p-miR	61	-121	92	21
BTG3	ID01123.3p-miR	155	-127	88	24
	ID02803.5p-miR	186	-108	91	21
	ID00278.3p-miR	230	-125	91	23
CDK9	ID02823.3p-miR	25÷48 (2)	-117 ÷ -119	90÷92	22
	ID02094.3p-miR	62	-113	90	22
	ID01158.3p-miR	86	-119	98	20
DKK3	ID03462.5p-miR	73	-123	91	22
	ID01632.5p-miR	93	-125	92	23
ERBB3	ID00099.3p-miR	114	-113	93	21
FKBP5	ID01708.5p-miR	11	-115	89	23
FOXM1	ID01615.3p-miR	68	-115	90	22
FOXP1	ID00387.3p-miR	108	-125	89	23
	ID03332.3p-miR	130	-134	90	24
GDF7	ID03054.3p-miR	125	-113	90	22
	ID02682.5p-miR	339	-113	93	20
	ID01112.3p-miR	446	-113	93	20
	ID00009.3p-miR	546	-115	92	20
	ID01910.3p-miR	546	-115	92	20
	ID02781.3p-miR	547	-121	97	20
ROCK2	ID01184.3p-miR	248	-117	93	20
SMAD4	ID00577.3p-miR	160	-106	94	20
	ID00961.3p-miR	248	-127	90	23
SOX2	ID01749.3p-miR	344	-117	89	23

The cell cycle is a highly conservative and highly regulated biological system that controls cell proliferation and differentiation. Changes in the regulatory proteins (cyclins, cyclin-dependent kinases (CDKs) and CDK inhibitors) lead to a loss of normal control of the cell cycle, are a hallmark of many types of cancer, including EAC (Mikhail, 2015: 1185). We have identified *CDK9* gene as a candidate gene for EAC. ID02823.3p-miR and ID02094.3p-miR form a cluster of binding sites in mRNA of *CDK9* gene in position from 25 nt to 83 nt with a whole length 59 nt and an average energy of interaction equal to -116 kJ/mole.

mRNAs of *AR, BARX1, ERBB3, FKBP5, FOXM1, ROCK2* and *SOX2* genes in 5'UTR were targeted by single miRNAs. Nuclear *AR* and high expression of *FKBP5* is associated with decreased survival in EAC (Smith, 2016: 433). mRNA of *GDF7* gene were targeted by six miRNAs, three of which formed the cluster of binding sites. All three miRNAs formed a cluster in position from 546 nt to 567 nt with the length of 22 nt. The total length of all three sites was 60 nt. The formation of a cluster of binding sites for *GDF7* gene in the 5'UTR indicates a greater ability of this gene for compaction, which causes the competition of miRNAs data for the binding site. The average binding energy for these three miRNAs was -117 kJ/mole.

Du with coauthors (Du, 2015: 31) identified that *BTG3* gene expression was significantly downregulated in EAC tissues compared with adjacent normal tissues. *BTG3* is a direct transcriptional target gene of p53 (Ou, 2007: 3968), which affects its role in tumor suppression and DNA damage response. mRNA of *BTG3* gene was targeted by three miRNAs and these binding sites did not overlap, and each of them could independently bind to the mRNA. mRNA of *DKK3* gene had cluster of binding sites from 73 nt to 115 nt with an average ΔG = -124 kJ/mole.

The average free energy of interaction of all miRNA binding sites in 5'UTR is equal to -121 kJ/mole. The number of binding sites with ΔG value higher than -120 kJ/mole is equal to 11. The associations of these miRNAs with their target genes are recommended to be used as markers for the diagnosis of EAC.

Table 3 shows the results of miRNAs binding with mRNAs of candidate genes of EAC in CDS. The *AR* gene was targeted by three miRNAs whose binding sites were located in CDS. mRNA of *ARID1A* gene was targeted six miRNAs. Those binding sites were not overlapped, and each miRNA could independently bind with mRNA of *ARID1A* gene.

Table 3 – Characteristics of miRNA binding sites in CDS mRNA of genes involved in the development of EAC

Gene	miRNA	Start of site, nt	ΔG (kJ/mole)	ΔG/ΔGm, %	Length, nt
*A*R	ID00372.5p-miR	1363	-127	94	24
	ID01398.3p-miR	1517	-115	90	22
	ID01261.5p-miR	1744	-113	95	20
ARID1A	ID01753.3p-miR	749	-104	91	21
	ID01473.3p-miR	1093	-125	89	23
	ID01508.5p-miR	1459	-129	90	23
	ID02945.5p-miR	4274	-108	91	21
	ID01565.5p-miR	4916	-115	93	21
	ID01819.5p-miR	7062	-119	89	23
AXIN2	ID01796.3p-miR	1526	-125	89	24
	ID00648.5p-miR	1765	-125	92	22
	ID02344.3p-miR	2086	-127	88	24
BARX1	ID01757.3p-miR	192	-117	93	21
	ID02052.5p-miR	311	-132	89	24
	ID02429.3p-miR	314	-121	89	23
	ID02079.5p-miR	500	-115	92	20
	ID00380.3p-miR	558	-117	89	23
BTG3	ID02017.3p-miR	664	-117	92	22

Continuation of table 3

Gene	miRNA	Start of site, nt	ΔG (kJ/mole)	ΔG/ΔGm, %	Length, nt
CEP72	ID01839.3p-miR	1363	-123	89	23
DKK3	ID03402.5p-miR	295	-117	92	22
ERBB2	ID00692.3p-miR	3815	-113	90	22
ESR1	ID02606.5p-miR	409	-106	91	22
	ID02556.3p-miR	1852	-115	90	23
FOXF1	ID00267.3p-miR	55	-113	91	21
	ID00407.3p-miR	718	-119	90	22
FOXM1	ID01279.5p-miR	1897	-115	93	22
GDF7	ID01508.5p-miR	699	-129	90	23
	ID00102.3p-miR	784	-117	95	20
	ID01419.3p-miR	876	-115	89	23
	ID01346.3p-miR	1576	-119	92	22
IGFBP2	ID01859.5p-miR	198	-117	90	22
MUC1	ID00645.5p-miR	507	-110	93	20
OXTR	ID01310.3p-miR	1328	-123	94	22
PARP1	ID00550.5p-miR	1265	-113	90	23
	ID01616.3p-miR	1275	-119	90	23
RUNX3	ID02259.5p-miR	593	-119	89	23
	ID00024.5p-miR	1406	-119	93	21
SOX2	ID03289.5p-miR	455	-106	93	20
	ID01259.3p-miR	1218	-121	90	23

mRNA of *BARX1* gene were targeted by five miRNAs, two of which form the cluster of binding sites from 311 nt to 336 nt with an average free energy of hybridization equal to -127 kJ/mole. mRNAs of *BTG3, CEP72, DKK3, ERBB2, FOXM1, IGFBP2, MUC1* and *OXTR* in CDS have had binding sites for single miRNAs. ID01508.5p-miR, ID00102.3p-miR, ID01419.3p-miR and ID01346.3p-miR targeted mRNA of *GDF7* gene. mRNA of *PAPR1* gene has cluster of binding sites in position from 1265 nt to 1297 nt with an average ΔG value equal to 116 kJ/mole.

The average free energy of binding of all miRNAs with mRNAs in CDS was equal to -118 kJ/mole. The 11 miRNAs were bound with mRNAs of five target genes with a free interaction energy more than -120 kJ/mole (Table 3), which allows us to recommend miRNAs as markers for the diagnosis of EAC.

Twelve mRNAs of genes were targeted by miRNAs in 3'UTR. mRNA of *FKBP5* gene of five miRNAs, two of them formed a cluster of binding sites in position from 6364 nt to 6388 nt with an average ΔG= -107 kJ/mole. mRNAs of *AR, ESR1, FOXM1, FOXP1* and *RUNX3* were targeted by single miRNAs.

Notably, ID00037.3p-miR and ID00125.3p-miR occupied the same binding site, starting from 1671 nt in mRNA of *SOX2* gene. With the same ΔG/ΔGm values, the free interaction energy of ID00037.3p-miR (ΔG = -121 kJ/mole) is higher than the ΔG value of ID00125.3p-miR in mRNA of *SOX2* gene.

mRNA of *SMAD4* gene was targeted by six miRNAs, two of them form a cluster of binding sites from 4342 nt to 4371 nt with an average free energy of hybridization equal to -115 kJ/mole. mRNA of *LEP* gene have only two binding sites in 3`UTR that form a cluster of binding sites from 3087 nt to 3113 nt with an average ΔG= -113 kJ/mole.

The average free energy of binding of all miRNAs with mRNAs in the 3'UTR was equal to -113 kJ/mole. The number of associations with a free binding energy more than -120 kJ/mole is equal to three. The associations of these miRNAs with their target genes are recommended to be used as markers for diagnosis of EAC.

Table 4 – Characteristics of miRNA binding sites in 3`UTR mRNA of genes involved in the development of EAC

Gene	miRNA	Start of site, nt	ΔG (kJ/mole)	ΔG/ΔGm, %	Length, nt
AR	ID02403.3p-miR	4096	-108	89	23
AXIN2	ID01257.3p-miR	2960	-113	93	20
	ID02524.5p-miR	3702	-93	90	22
ESR1	ID03196.3p-miR	3339	-121	88	24
FKBP5	ID02017.3p-miR	1434	-115	90	22
	ID00367.5p-miR	4870	-110	90	22
	ID00625.5p-miR	5727	-106	91	21
	ID01360.3p-miR	6364	-104	91	21
	ID00367.5p-miR	6367	-110	90	22
	ID02175.3p-miR	7306	-110	91	22
FOXM1	ID00962.3p-miR	3260	-119	90	23
FOXP1	ID03465.3p-miR	3843	-117	90	22
LEP	ID03149.5p-miR	3087	-113	90	22
	ID01263.5p-miR	3092	-113	90	22
ROCK2	ID01640.5p-miR	6308	-117	89	24
	ID01836.5p-miR	6497	-115	92	23
RUNX3	ID02589.5p-miR	2956	-113	93	21
SMAD4	ID01838.5p-miR	4291	-113	90	24
	ID01656.3p-miR	4342	-115	89	23
	ID01404.5p-miR	4349	-115	93	23
	ID02732.3p-miR	7721	-123	91	23
	ID00106.5p-miR	7825	-106	91	22
	ID01592.3p-miR	8227	-117	89	23
SOX2	ID00037.3p-miR	1671	-121	90	23
	ID00125.3p-miR	1671	-113	90	22
TP53	ID00548.3p-miR	1393	-115	89	23
	ID02379.3p-miR	1397	-119	89	24
	ID01838.5p-miR	2459	-115	92	24
	ID00785.5p-miR	2520	-113	90	23

Table 5 shows the schemes of binding of miRNAs with mRNAs of EAC candidate genes. The interaction of nucleotides occurs along the entire length, except for the absence of hydrogen bonding between purines (A, G) or pyrimidines (C, U). Interactions of non-canonical pairs of nucleotides A-C and G-U are accounted by MirTarget program.

One of the misconceptions in many studies that miRNAs binds only (of predominantly) in 3'UTR of mRNAs (Ivashchenko, 2018: 36). However, miRNAs do not have the ability to distinguish binding sites in 5'UTR, CDS and 3'UTR. miRNA interacts with mRNA based on the physico-chemical properties of these molecules. Consequently, the interaction site can be localized in any region of mRNA and prohibitions on the location of such sites in the nucleotide sequence of the mRNA are still unknown. The conditions for the successful interaction of miRNA with mRNA are the energy characteristics and conformational properties of this interaction.

Table 5 – The schemes of miRNA interaction with mRNA of some genes participating in the development of EAC

Gene; miRNA; The start of site; Region; The characteristics of binding	Gene; miRNA; The start of site; Region; The characteristics of binding
ARID1A; ID00414.3p-miR; 303 nt; 5'UTR; -108 kJ/mole; 93%; 20 nt 5' - GGG**G**CGGGGUGGGAGGGGG**G** - 3' | |||||||||||||||||| 3' - CAC**U**GCCCCACCCUCCCCC**U** - 5'	*CDK9*; ID02823.3p-miR; 25 nt; 5'UTR; -117 kJ/mole; 90%; 22 nt 5' - **C**GCG**G**CCGCGGAGGG**G**CCUGGA - 3' ||||||||||| ||||||||| 3' - **A**CGC**U**GGCGCCGCCC**U**GGACCU - 5'
AR; ID01261.5p-miR; 1744 nt; CDS; -113 kJ/mole; 95%; 20 nt 5' - GAGCGAGGGAGGCCUCGGGG - 3' ||| |||||||||||||| 3' - CUCCCUCCCUCCGGAGCCCC - 5'	*GDF7*; ID01419.3p-miR; 876 nt; CDS; -115 kJ/mole; 89%; 23 nt 5' - CGGGAG**G**GCUCCGGCCGGG**G**CAG - 3' |||||||||||| |||| ||||| 3' - GCCCUC**U**CGAGGAUGGCAC**U**GUC - 5'
TP53; ID01838.5p-miR; 2460 nt; 3'UTR; -110 kJ/mole; 88%; 24 nt 5' - **G**AUGG**G**GUCUCACAGUGUUGC**C**CA - 3' || |||||||||| |||||||||| 3' - **U**UUCC**U**CAGAGUGACACAACG**A**GU - 5'	*ROCK2*; ID01836.5p-miR; 6497 nt; 3'UTR; -115 kJ/mole; 92%; 23 nt 5' - G**C**CACUGCACUCCAGCCUGGGCA - 3' ||||||||||||| |||||||| 3' - A**A**GUGACGUGAGGUAGGACCCGU - 5'
Note: in bold type highlighted the non-canonical A-C and G-U pairs of nucleotides	

The given results 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 EAC. For example, in the interaction of ID01838.5p-miR with mRNA of *TP53* gene, one pair of A-C and two pairs of G-U are formed. ID01419.3p-miR has binding sites in mRNA of *GDF7* gene and forms two pairs of G-U.

Conclusion

We studied the characteristics of the interaction of miRNA with mRNA of genes involved in the development of EAC. It was identified 19 key associations of miRNAs and mRNAs that have had a free energy of interaction of -120 kJ/mole or more that recommended both for the diagnostic markers of violations of the expression of these genes, and for the development of methods for the treatment of this subtype of disease at the molecular level.

The average free energy of miRNA binding in mRNA of genes involved in EAC development is greater in 5'UTR and CDS compared to 3'UTR, which suggests preferential binding of miRNA to 5'UTR and CDS of the studied genes. *ALDH1A2, ARID1A*, *BARX1*, *BTG3*, *DKK3*, *FOXP1*, *GDF7* and *SMAD4* genes was selected as candidate target genes for miRNAs having binding sites in 5'UTR of mRNA. *AR, ARID1A*, *AXIN2, BARX1, CEP72, GDF7, OXTR* and *SOX2* are candidate genes, having miRNAs binding sites in CDS, *ESR1, SMAD4* and *SOX2* are candidate genes in 3'UTR.

mRNA of these genes binds with miRNA with high affinity and, therefore, if the concentrations of the corresponding miRNAs are the same or exceed the concentrations of mRNAs, the effect of mRNA translation inhibition will be significant. Given that miRNAs are endogenous regulators of gene expression, these methods are quite feasible. The obtained results may be able to provide insights into pathogenesis mechanism and pave the way for the development of new diagnostic markers and therapeutic targets for patients with esophageal adenocarcinoma.

References

1 Hughes D., et al. MiRNA expression in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the esophagus: Associations with survival // Clin Cancer Res. – 2009. – Vol. 15. – P. 6192-6200

2 Zeng H., Zheng R., Zhang S., Zuo T., Xia C., Zou X., Chen W. Esophageal cancer statistics in China, 2011: Estimates based on 177 cancer registries // Thorac Cancer. – 2016. – Vol. 7. – P. 232–237. doi: 10.1111/1759-7714.12322

3 Rustgi A.K., El-Serag H.B. Esophageal Carcinoma // New Engl J Med. – 2014. – Vol. 371. – P. 2499-509. 10.1056/NEJMra1314530

4 Hvid-Jensen F., Pedersen L., Drewes A.M., Sørensen H.T., Funch-Jensen P. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus // N Engl J Med. – 2011. – Vol. 365. – P. 1375-1383. DOI: 10.1056/NEJMoa1103042

5 Desai TK., Krishnan K., Samala N., et al. The incidence of oesophageal adenocarcinoma in non-dysplastic Barrett's oesophagus: a meta-analysis // Gut. – 2012. – Vol. 61. – P. 970-976. DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300730

6 Wani S., Puli SR., Shaheen NJ., et al. Esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus after endoscopic ablative therapy: a meta-analysis and systematic review // Am. J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 104. – P. 502–513. DOI: 10.1038/ajg.2008.31

7 Garofalo M., Croce C.M. microRNAs: Master regulators as potential therapeutics in cancer // Annu Rev Pharmacol Toxicol. – 2011. – Vol. 51. – P. 25–43.

8 Zhou Y., Li R., Yu H., Wang R., Shen Z. microRNA-130a is an oncomir suppressing the expression of CRMP4 in gastric cancer // Onco Targets Ther. – 2017. – Vol. 10. – P. 3893-3905. doi: 10.2147/OTT.S139443

9 Wang Z., Zhao Z., Yang Y., Luo M., Zhang M., Wang X., Liu L., Hou N., Guo Q., Song T., Guo B., Huang C. MiR-99b-5p and miR-203a-3p Function as Tumor Suppressors by Targeting IGF-1R in Gastric Cancer // Sci Rep. – 2018. – Vol. 8(1). – P. 10119. doi: 10.1038/s41598-018-27583-y

10 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.

11 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva S. The properties of binding sites of miR-619-5p, miR-5095, miR-5096 and miR- 5585-3p in the mRNAs of human genes // Biomed Res Int. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1-8.

12 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.

13 Hata A., Kashima R. Dysregulation of microRNA biogenesis machinery in cancer // Crit Rev Biochem Mol Biol. – 2016. – Vol. 51(3). – P. 121-34. DOI: 10.3109/10409238.2015.1117054

14 Wu Y.R., Qi H.J., Deng D.F., Luo Y.Y., Yang S.L. MicroRNA-21 promotes cell proliferation, migration, and resistance to apoptosis through PTEN/PI3K/AKT signaling pathway in esophageal cancer // Tumour Biol. – 2016. – Vol. 37(9). – P. 12061–12070. DOI: 10.1007/s13277-016-5074-2

15 Poy M.N., Eliasson L., Krutzfeldt J., et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion // Nature. – 2004. – Vol. 432(7014). – P. 226–230. DOI: 10.1038/nature03076

16 Karp X., Ambros V. Developmental biology. Encountering microRNAs in cell fate signaling // Science. – 2005. – Vol. 310(5752). – P. 1288–1289. DOI: 10.1126/science.1121566

17 Cheng A.M., Byrom M.W., Shelton J., Ford L.P. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis // Nucleic Acids Res. – 2005. – Vol. 33(4). – P. 1290–1297. DOI: 10.1093/nar/gki200

18 Rath S.N., Das D., Konkimalla V.B., Pradhan S.K. In silico study of miRNA based gene regulation, involved in solid cancer, by the assistance of Argonaute protein // Genomics Inform. – 2016. – Vol. 14(3). – P. 112-124. DOI: 10.5808/GI.2016.14.3.112

19 Londin E., Lohera P., Telonisa A.G., Quanna K., et al. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs // PNAS USA. – 2015. – Vol. 112, No. 10. – P. 1106-1115.

20 Ivashchenko A.T., Pyrkova A.Y., Niyazova R.Y., Alybayeva A., Baskakov K. (2016) Prediction of miRNA binding sites in mRNA. Bioinformation, vol. 12, no. 4, pp. 237-240.

21 Kool E.T. Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication // Annu Rev Biophys Biomol Struct. – 2001. – Vol. 30. – P. 1-22.

22 Leontis N.B., Stombaugh J., Westhof E. The non-Watson-Crick base pairs and their associated isostericity matrices // Nucleic Acids Res. – 2002. – Vol. 30(16). P. 3497-3531.

23 Wu R.C., Wang T.L., Shih IeM. The emerging roles of arid1a in tumor suppression // Cancer Biol Ther. – 2014. – Vol. 15(6). – P. 655–664.

24 Streppel M.M., Lata S., DelaBastide M., Montgomery E.A., Wang J.S., Canto M.I., Macgregor-Das A.M., Pai S., Morsink FHM, Offerhaus G.J., et al. Next-generation sequencing of endoscopic biopsies identifies ARID1A as a tumor-suppressor gene in Barrett's esophagus // Oncogene. – 2014. – Vol. 33. – P. 347–57. doi: 10.1038/onc.2012.586

25 Mikhail S., Albanese C., Pishvaian MJ. Cyclin-dependent kinase inhibitors and the treatment of gastrointestinal cancers // Am J Pathol. – 2015. – Vol. 185(5). – P. 1185-97. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.01.008

26 Smith E., Palethorpe H.M., Ruszkiewicz A.R., Edwards S., Leach DA., Underwood T.J., Need E.F., Drew P.A. Androgen Receptor and Androgen-Responsive Gene FKBP5 Are Independent Prognostic Indicators for Esophageal Adenocarcinoma // Dig Dis Sci. – 2016. – Vol. 61(2). – P. 433-43. DOI: 10.1007/s10620-015-3909-0

27 Du Y., Liu P., Zang W., Wang Y., Chen X., Li M., Zhao G. BTG3 upregulation induces cell apoptosis and suppresses invasion in esophageal adenocarcinoma // Mol Cell Biochem. – 2015. – Vol. 404(1-2). – P. 31-8. doi: 10.1007/s11010-015-2363-9

28 Ou Y.H., Chung P.H., Hsu F.F., Sun T.P., Chang W.Y., Shieh S.Y. The candidate tumor suppressor BTG3 is a transcriptional target of p53 that inhibits E2F1 // EMBO J. – 2007. – Vol. 26(17). – P. 3968-80. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601825

29 Ivashchenko A. T., Niyazova R. Ye., Atambayeva Sh. A., Pyrkova A. Yu., Aisina D. E., Yurikova O. Yu., Kondybayeva A., Akimniyazova A., Bayzhigitova D., Bolshoy A. A. miRNA: achievements, misconceptions, perspectives // NEWS of NAS RK. – 2018. – Vol. 4(328). – P. 36-46.

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, pp. 428. doi: 10.1186/s12864-017-3811-6.

2 Cheng A.M., Byrom M.W., Shelton J., Ford L.P. (2005) Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis. Nucleic Acids Res., vol. 33, no. 4, pp. 1290–1297. DOI: 10.1093/nar/gki200

3 Desai TK., Krishnan K., Samala N., et al. (2012) The incidence of oesophageal adenocarcinoma in non-dysplastic Barrett's oesophagus: a meta-analysis. Gut, vol. 61, pp. 970-976. DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300730

4 Du Y., Liu P., Zang W., Wang Y., Chen X., Li M., Zhao G. (2015) BTG3 upregulation induces cell apoptosis and suppresses invasion in esophageal adenocarcinoma. Mol Cell Biochem., vol. 404, no. 1-2, pp. 31-8. doi: 10.1007/s11010-015-2363-9

5 Garofalo M., Croce C.M. (2011) microRNAs: Master regulators as potential therapeutics in cancer. Annu Rev Pharmacol Toxicol., vol. 51, pp. 25–43.

6 Hata A., Kashima R. (2016) Dysregulation of microRNA biogenesis machinery in cancer. Crit Rev Biochem Mol Biol., vol. 51, no. 3, pp. 121-34. DOI: 10.3109/10409238.2015.1117054

7 Hughes D., et al. (2009) MiRNA expression in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the esophagus: Associations with survival. Clin Cancer Res., vol. 15, pp. 6192-6200.

8 Hvid-Jensen F., Pedersen L., Drewes A.M., Sørensen H.T., Funch-Jensen P. (2011) Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. N Engl J Med., vol. 365, pp. 1375-1383. DOI: 10.1056/NEJMoa1103042

9 Ivashchenko A. T., Niyazova R. Ye., Atambayeva Sh. A., Pyrkova A. Yu., Aisina D. E., Yurikova O. Yu., Kondybayeva A., Akimniyazova A., Bayzhigitova D., Bolshoy A. A. (2018) miRNA: achievements, misconceptions, perspectives. NEWS of NAS RK, vol. 4, no. 328, pp. 36-46.

10 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, pp. e11.

11 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva S. (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 Res Int., vol. 2014, p. 1-8.

12 Ivashchenko A.T., Pyrkova A.Y., Niyazova R.Y., Alybayeva A., Baskakov K. (2016) Prediction of miRNA binding sites in mRNA. Bioinformation, vol. 12, no. 4, pp. 237-240.

13 Karp X., Ambros V. (2005) Developmental biology. Encountering microRNAs in cell fate signaling. Science, vol. 310, no. 5752, pp. 1288–1289. DOI: 10.1126/science.1121566

14 Kool E.T. (2001) Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication. Annu Rev Biophys Biomol Struct., vol. 30, pp. 1-22.

15 Leontis N.B., Stombaugh J., Westhof E. (2002) The non-Watson-Crick base pairs and their associated isostericity matrices. Nucleic Acids Res., vol. 30, no. 16, pp. 3497-3531.

16 Londin E., Lohera P., Telonisa A.G., Quanna K., et al. (2015) Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs. PNAS USA, vol. 112, no. 10. – P. 1106-1115.

17 Mikhail S., Albanese C., Pishvaian MJ. (2015) Cyclin-dependent kinase inhibitors and the treatment of gastrointestinal cancers. Am J Pathol., vol. 185, no. 5, pp. 1185-97. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.01.008

18 Ou Y.H., Chung P.H., Hsu F.F., Sun T.P., Chang W.Y., Shieh S.Y. (2007) The candidate tumor suppressor BTG3 is a transcriptional target of p53 that inhibits E2F1. EMBO J., vol. 26, no. 17, pp. 3968-80. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601825

19 Poy M.N., Eliasson L., Krutzfeldt J., et al. (2004) A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. Nature, vol. 432, no. 7014, pp. 226–230. DOI: 10.1038/nature03076

20 Rath S.N., Das D., Konkimalla V.B., Pradhan S.K. (2016) In silico study of miRNA based gene regulation, involved in solid cancer, by the assistance of Argonaute protein. Genomics Inform., vol. 14, no. 3, pp. 112-124. DOI: 10.5808/GI.2016.14.3.112

21 Rustgi A.K., El-Serag H.B. (2014) Esophageal Carcinoma. New Engl J Med., vol. 371, pp. 2499-509. 10.1056/NEJMra1314530.

22 Smith E., Palethorpe H.M., Ruszkiewicz A.R., Edwards S., Leach DA., Underwood T.J., Need E.F., Drew P.A. (2016) Androgen Receptor and Androgen-Responsive Gene FKBP5 Are Independent Prognostic Indicators for Esophageal Adenocarcinoma. Dig Dis Sci., vol. 61, no. 2, pp. 433-43. DOI: 10.1007/s10620-015-3909-0

23 Streppel M.M., Lata S., DelaBastide M., Montgomery E.A., Wang J.S., Canto M.I., Macgregor-Das A.M., Pai S., Morsink FHM, Offerhaus G.J., et al. (2014) Next-generation sequencing of endoscopic biopsies identifies ARID1A as a tumor-suppressor gene in Barrett's esophagus. Oncogene, vol. 33, pp. 347–57. doi: 10.1038/onc.2012.586

24 Wang Z., Zhao Z., Yang Y., Luo M., Zhang M., Wang X., Liu L., Hou N., Guo Q., Song T., Guo B., Huang C. (2018) MiR-99b-5p and miR-203a-3p Function as Tumor Suppressors by Targeting IGF-1R in Gastric Cancer. Sci Rep., vol. 8, no. 1, pp. 10119. doi: 10.1038/s41598-018-27583-y

25 Wani S., Puli SR., Shaheen NJ., et al. (2009) Esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus after endoscopic ablative therapy: a meta-analysis and systematic review. Am. J. Gastroenterol., vol. 104, pp. 502–513. DOI: 10.1038/ajg.2008.31

26 Wu R.C., Wang T.L., Shih IeM. (2014) The emerging roles of arid1a in tumor suppression. Cancer Biol Ther., vol. 15, no. 6, pp. 655–664.

27 Wu Y.R., Qi H.J., Deng D.F., Luo Y.Y., Yang S.L. (2016) MicroRNA-21 promotes cell proliferation, migration, and resistance to apoptosis through PTEN/PI3K/AKT signaling pathway in esophageal cancer. Tumor Biol., vol. 37, no. 9, pp. 12061–12070. DOI: 10.1007/s13277-016-5074-2

28 Zeng H., Zheng R., Zhang S., Zuo T., Xia C., Zou X., Chen W. (2016) Esophageal cancer statistics in China, 2011: Estimates based on 177 cancer registries. Thorac Cancer., vol. 7, pp. 232–237. doi: 10.1111/1759-7714.12322

29 Zhou Y., Li R., Yu H., Wang R., Shen Z. (2017) microRNA-130a is an oncomir suppressing the expression of CRMP4 in gastric cancer. Onco Targets Ther., vol. 10, pp. 3893-3905. doi: 10.2147/OTT.S139443

МРНТИ 34.15.23 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b11

Исабек А.У.[1], Тайлакова Э.Т.[2], Кожабергенов Н.С.[3], Строчков В.М.[4], Султанкулова К.Т.[5], Рсалиев А.С.[6]

[1]e-mail: isabekova___aisha@mail.ru, [2]e-mail: tailakova_86@mail.ru, [3]e-mail: nurlanks@gmail.com, [4]e-mail: vstrochkov@mail.ru, [5]e-mail: sultankul70@mail.ru, [6]e-mail: aralbek@mail.ru
Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, пгт. Гвардейский, Кордайский район, Жамбылская область

РАЗРАБОТКА ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ *PYRENOPHORA TRITICI-REPENSIS*

В последние годы наблюдается заметное расширение ареала и вредоносности желтой пятнистости листьев в Казахстане. Широкому распространению и повышенной вредоносности патогена способствует высокая адаптивная способность гриба. Идентифицировать вид гриба по симптомам проявления болезни на листьях растений и по морфологическим признакам конидий довольно сложно. Создание отечественных диагностических средств для выявления возбудителя желтой пятнистости пшеницы Pyrenophora tritici-repensis является актуальной задачей. Среди молекулярных методов наиболее удобным и оперативным является метод ПЦР диагностики. ПЦР позволяет обнаруживать грибковую ДНК еще до того, как физиологические симптомы становятся видимыми на растительной ткани. Целью данной работы является разработка ПЦР тест-системы для диагностики желтой пятнистости пшеницы.

В результате проведенных исследований, были подобраны и синтезированы видоспецифичные праймеры для выявления возбудителя желтой пятнистости пшеницы, оптимизированы условия постановки ПЦР: состав реакционной смеси и температурно-временной режим. Определена специфичность и чувствительность тест-системы. Разработанная тест-система показала довольно высокую специфичность и позволяет выявлять нуклеиновую кислоту патогена в исследуемых образцах в количестве 2,6 пг. Данная тест-система может быть использована для оперативного обнаружения ДНК патогена в пробах.

Ключевые слова: желтая пятнистость, ПЦР, специфичность, чувствительность, диагностика.

Isabek A.U.[1], Tajlakova Je.T.[2], Kozhabergenov N.S.[3], Strochkov V.M.[4], Sultankulova K.T.[5], Rsaliev A.S.[6]

[1]e-mail: isabekova___aisha@mail.ru, [2]e-mail: tailakova_86@mail.ru, [3]e-mail: nurlanks@gmail.com, [4]e-mail: vstrochkov@mail.ru, [5]e-mail: sultankul70@mail.ru, [6]e-mail: aralbek@mail.ru
The Republican Government Enterprise on the basis of economic control rights «Research Institute for Biological Safety Problems» of the Committee of Science of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan

Development of pcr test system for *Pyrenophora tritici-repensis* detection

In recent years, there has been a noticeable expansion of the range and severity of the tan spot in Kazakhstan. The high adaptive ability of the fungus contributes to the wide spread and increased harmfulness of the pathogen. It is quite difficult to identify the species of fungus by the symptoms of the manifestation of the disease on the leaves of plants and by the morphological features of conidia. The creation of domestic diagnostic tools to identify the causative agent of wheat tan spot Pyrenophora tritici-repensis is an urgent task. Among molecular methods, the most convenient and operational method is PCR diagnostics. PCR makes it possible to detect fungal DNA even before physiological symptoms become visible on plant tissue.

The aim of this work is to develop a PCR test system for the diagnosis of wheat tan spot. As a result of the studies, species-specific primers were selected and synthesized to identify the causative agent of wheat tan spot, the conditions for PCR formulation were optimized: the composition of the reaction mixture and the temperature and time regime. The specificity and sensitivity of the test system was determined. The developed test system showed rather high specificity and allows detection of the pathogen nucleic acid in the samples under study in the amount of 2,6 pg. This test system can be used for the rapid detection of pathogen DNA in samples.

Key words: tan spot, PCR, specificity, sensitivity, diagnosis.

© 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Исабек А.У.[1], Тайлакова Э.Т.[2], Кожабергенов Н.С.[3],
Строчков В.М.[4], Султанкулова К.Т.[5], Рсалиев А.С.[6]
[1]e-mail: isabekova___aisha@mail.ru, [2]e-mail: tailakova_86@mail.ru, [3]e-mail: nurlanks@gmail.com,
[4]e-mail: vstrochkov@mail.ru, [5]e-mail: sultankul70@mail.ru, [6]e-mail: aralbek@mail.ru
Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитеті «Биологиялық
қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» Республикалық мемлекеттік кәсіпорны

Pyrenophora tritici-repensis **анықтауға арналған ПТР сынақ-жүйесін құру**

Соңғы жылдары Қазақстанда бидайдың жапырақ дағы зияндылығының кеңеюі байқалады. Аурудың кең таралуына және зияндылығына саңырауқұлақтың жоғары бейімделу қабілеті ықпал етеді. Өсімдіктің жапырақтары мен конидияның морфологиялық ерекшеліктері арқылы аурудың көрініс белгілері бойынша саңырауқұлақтардың түрін анықтау өте қиын. Бидайдың жапырақ дағы Pyrenophora tritici-repensis қоздырғышын анықтауға арналған отандық баламалау құралдарын құру – бұл өзекті мәселе. Молекулярлық әдістердің арасында ПТР – ең қолайлы және тиімді болып табылады. ПТР өсімдік тініне физиологиялық белгілері пайда болғанға дейін, саңырауқұлақтың ДНҚ-ын анықтауға мүмкіндік береді. Бұл жұмыстың мақсаты бидайдың жапырақ дағын баламалау үшін ПТР сынақ-жүйесін құру болып табылады.

Зерттеулер нәтижесінде, бидай жапырақ дағының қоздырғышын анықтау үшін түрге тән праймерлер іріктеліп, синтезделді. ПТР шарттары: реакциялық қоспаның құрамы және температура мен уақыт режимі оңтайландырылды. Әзірленген сынақ-жүйесі жоғары ерекшелік көрсетті және зерттелген үлгілерде 2,6 пг мөлшерінде патогеннің нуклеин қышқылын анықтауға мүмкіндік береді. Бұл сынақ жүйесі арқылы сынамалардағы патогенді ДНҚ-ны жылдам анықтауға болады.

Түйін сөздер: бидайдың жапырақ дағы, ПТР, ерекшелігі, сезімталдық, баламалау.

Введение

Желтая пятнистость (пиренофороз) – является экономически значимым заболеванием пшеницы, которое приводит к значительным потерям урожая. Возбудителем желтой пятнистости является аскомицет *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Dresch. (син. *Dreschslera tritici-repentis* (Died.) Snheomaker) [1-3].

В настоящее время желтая пятнистость широко распространена во многих странах, в том числе в Центральной Азии, Северной Европы, Австралии и Северной Америки чему способствовали биологические особенности патогена, восприимчивость возделываемых сортов пшеницы и современная агротехника [4-10].

В Казахстане желтая пятнистость заняла доминирующее положение среди листовых болезней пшеницы сравнительно недавно. Патоген часто развивается в комплексе с септориозом как в предгорной зоне южного и юго-восточного регионов, так и в степной зоне северного региона в годы с повышенным количеством осадков. В период 2000-2016 годы 5 раз происходили локальные вспышки желтой пятнистости и септориоза или обширные их эпифитотии. При этом потери урожая пшеницы составляли в среднем 15-20 %, а при раннем их проявлении до 30-40 %. Причинами развития болезни в Казахстане являются минимальная обработка почвы с сохранением стерни, монокультура пшеницы и возделывание неустойчивых к патогену сортов [11, 12].

Несмотря на масштабные усилия ученых и очевидный прогресс в изучении желтой пятнистости листьев, существует ряд нерешенных проблем. Остается сложным идентификация вида гриба по симптомам проявления болезни на листьях растений и по морфологическим признакам конидий. Следовательно, в полевых условиях симптомы желтой пятнистости нелегко отделить от видов септориоза (*Parastagonospora nodorum, Zymoseptoria tritici*), внешние признаки которых почти одинаковы, а причины их возникновения и возбудители различны [13, 14].

В связи с этим для точного определения болезни, кроме внешнего осмотра пораженного растения, необходимы специальные исследования с целью установления возбудителя. В большинстве случаев внешние признаки заболевания дополняются микроскопическими исследованиями и морфологическими данными [15]. В отдельных случаях применяются молекулярно-генетические методы. Благодаря высокой чувствительности, специфичности метод ПЦР приобретает приоритетный статус в молекулярной диагностике. ПЦР позволяет обнаруживать грибковую ДНК еще до того, как физиологические симптомы становятся видимыми на

растительной ткани [16-19]. К настоящему времени для молекулярной идентификации *P. tritici-repentis* были разработаны несколько ПЦР тест-систем, основанные на использовании видоспецифичных праймеров [9, 13]. Кроме того, были разработаны методы диагностики изолятов патогена на основе дуплексной ПЦР в реальном времени, позволяющие одновременно дифференцировать два вида пятнистости листьев *P.tritici-repentis* и *P.nodorum* с помощью одной реакции [14]. В связи с распространением желтой пятнистости в Казахстане создание отечественного, специфичного и чувствительного теста, не требующего большого количества времени на проведения, является актуальной задачей для нашей страны.

Целью данной работы является разработка ПЦР тест-системы для диагностики желтой пятнистости пшеницы.

Материалы и методы исследования

Создание тест-системы состоит из нескольких этапов таких как, выделение чистой культуры возбудителя, подбор и синтез специфичных праймеров, выделение ДНК, оптимизация состава реакционной смеси и температурно-временного режима, определение специфичности и чувствительности тест-системы.

Выделение чистой культуры Pyrenophora tritici-repentis

Для получения чистой культуры *Pyrenophora tritici-repentis* заранее стерилизованные пораженные сегменты листьев раскладывают на поверхность КДА (картофельно-декстрозный агар/стрептомицина сульфат 50 мг/л) с дальнейшим инкубированием на светоустановке при температуре 20-26 °С [15, 16] .

Синтез праймеров и выделение ДНК грибов

Синтез олигонуклеотидных праймеров проводили на автоматическом синтезаторе фирмы K&A Laborgeraete, модели DNA/RNA Synthesizer H-16 (производство Германии), амидофосфитным методом согласно инструкции производителя.

Выделение ДНК проводили набором GeneJET Plant Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific) согласно инструкции производителя.

Оптимизация ПЦР

Работы по оптимизации параметров ПЦР-реакции проводились с использованием градиентных амплификаторов Master cycler ProS («Eppendorf», Германия) и SimpliAmp Thermal Cycler («Applied Biosystems», США).

Результаты амплификации выявляли с помощью метода гель электрофореза. Электрофорез проводили в 1,5 % агарозном геле в буфере ТАЕ (40 мМ трисгидроксиметиламинометан, 20 мМ ледяная уксусная кислота, 1 мМ ЭДТА), с добавлением 0.5 мкг/мл бромистого этидия. Для оценки молекулярного веса фрагментов использовали маркеры молекулярного веса ДНК 1 kb Invitrogen.

Секвенирование ДНК грибов

Секвенирование фрагментов амплификации выполняли методом секвенирования по Сэнгеру с набором ABI PRISM BigDye Terminator v 3.1 («Applied Biosystems», США), согласно инструкции изготовителя с использованием 16-капиллярного генетического анализатора 3130XL Genetic Analyzer («Applied Biosystems», США). Сборку и анализ полученных в результате секвенирования последовательностей проводили с использованием программы Sequencher v. 5.4.1.

Результаты и обсуждение

Для идентификации грибов на уровне рода и вида использовали праймеры, которые специфичны внутренним транскрибируемым спейсерам (ITS). Эти участки грибкового генома окружают 5.8S-кодирующую последовательность и расположены между генами 18S (SSU) и 28S (LSU). Область ITS очень стабильна, присутствует в нескольких экземплярах и обычно консервативна [17-19]. Универсальные праймеры, предназначенные для связывания высококонсервативных областей, позволяют амплифицировать вариабельные фрагменты ДНК, которые позволяют идентифицировать их на основе последовательности ДНК или рестрикционного анализа ампликонов [20-22]. В настоящее время, если 2 последовательности ITS отличаются менее чем на 3%, считается, что они происходят от одного и того же вида. Кроме того, области ITS содержат уникальные последовательности, позволяющие создавать пары праймеров, специфически нацеленные на отдельные виды [23].

Для подбора праймеров, был проведен поиск нуклеотидных последовательностей, кодирующих ген β-тубулина и ITS в международной базе данных GenBank. Были отобраны последовательности для гриба *Pyrenophora tritici-repentis*. Выравнивание нуклеотидных последовательностей и подбор специфических праймеров проводили с использованием программы CLC Genomics Workbench v.11.0.1 (QIAGEN).

На основании выравненных последовательностей, проводили подбор специфических праймеров.

Подобранные праймеры были проверены на специфичность с использованием программы BLAST. Для дальнейших работ были выбраны праймеры, показывающие 100 % специфичность с соответствующим возбудителем. Таким образом, были отобраны пара праймеров на участок ITS и пара праймеров на ген β-тубулина. Характеристика подобранных праймеров представлены в таблице 1.

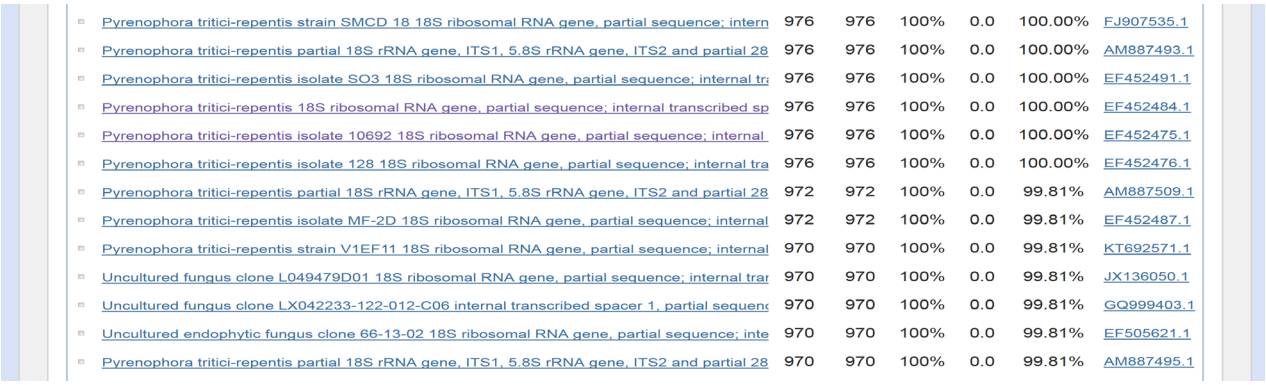
Таблица 1 – Характеристика подобранных и синтезированных праймеров

Название праймера	Последовательность 5’ – 3’	T_m (°C)	% GC	Размер ПЦР-продукта
PTR222F	CAGCGTCAGCAAAACAAA	57,8	44	159 п.о.
PTR380R	GAATACCAAAGGGCGCAA	57,4	50	

Видовую идентичность, выделенной ДНК, подтверждали с помощью секвенирования. Для этого проводили наработку ПЦР-продукта с использованием универсальных праймеров на ITS регион (ITS-4 – TCCTCCGCTTATTGATATGC и ITS-5 – GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) [22]. Полученный ПЦР-продукт секвенировали на 16-капиллярном секвенаторе 3130xl Genetic Analyzer.

Полученные, в ходе секвенирования, нуклеотидные последовательности сравнивали с помощью программы BLAST с последовательностями, размещёнными в международном банке генов GenBank. Результаты сравнительного анализа представлены на рисунке 1.

Рисунок 1, показывает 100% идентичность региона ITS выделенной ДНК и последовательностями региона ITS *Pyrenophora tritici-repentis*, размещёнными в международном банке генов GenBank. Следовательно, можно сделать вывод, что полученная в ходе исследования культура является монокультурой *Pyrenophora tritici-repentis*.



Pyrenophora tritici-repentis strain SMCD 18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; intern	976	976	100%	0.0	100.00%	FJ907535.1
Pyrenophora tritici-repentis partial 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and partial 28	976	976	100%	0.0	100.00%	AM887493.1
Pyrenophora tritici-repentis isolate SO3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra	976	976	100%	0.0	100.00%	EF452491.1
Pyrenophora tritici-repentis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed sp	976	976	100%	0.0	100.00%	EF452484.1
Pyrenophora tritici-repentis isolate 10692 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal	976	976	100%	0.0	100.00%	EF452475.1
Pyrenophora tritici-repentis isolate 128 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tra	976	976	100%	0.0	100.00%	EF452476.1
Pyrenophora tritici-repentis partial 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and partial 28	972	972	100%	0.0	99.81%	AM887509.1
Pyrenophora tritici-repentis isolate MF-2D 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal	972	972	100%	0.0	99.81%	EF452487.1
Pyrenophora tritici-repentis strain V1EF11 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal	970	970	100%	0.0	99.81%	KT692571.1
Uncultured fungus clone L049479D01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal tran	970	970	100%	0.0	99.81%	JX136050.1
Uncultured fungus clone LX042233-122-012-C06 internal transcribed spacer 1, partial sequenc	970	970	100%	0.0	99.81%	GQ999403.1
Uncultured endophytic fungus clone 66-13-02 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; inte	970	970	100%	0.0	99.81%	EF505621.1
Pyrenophora tritici-repentis partial 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and partial 28	970	970	100%	0.0	99.81%	AM887495.1

Рисунок 1 – Сравнительный анализ ДНК, выделенной из *Pyrenophora tritici-repentis*

Были проведены работы по определению специфичности тест-системы. Есть несколько факторов влияющих на специфичность метода ПЦР, такие как, температура отжига праймеров, концентрация ионов магния в реакционной смеси; концентрация буфера. Одним из важнейших аспектов реакции амплификации является подбор соответствующей температуры гибридизации праймера с ДНК. Оптимальной следует считать температуру, при которой образуется максимальное количество продукта ПЦР без появления неспецифических полос на электрофореграмме. Для амплификации в условиях не полностью комплементарных последовательностей праймера и матричной ДНК необходимо увеличивать концентрацию ионов магния. Увеличение концентрации ионов магния оказывает очень резкое влияние на специфичность и эффективность ПЦР. Это особенно важно в первых четырех циклах, в

дальнейшем амплифицируются вновь синтезированные продукты, которые содержат концевые последовательности, полностью комплементарные праймеру. Также в некоторых случаях на специфичность реакции может влиять концентрация буфера для ПЦР. Высокое значение концентрации буфера может увеличивать специфичность реакции [24, 25]. Для определения специфичности было проведен ряд работ, в которых изучали разные факторы, влияющие на специфичность реакции. Состав реакционной смеси и температурно-временной режим для определения специфичности реакции отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Параметры ПЦР для определения специфичности

Факторы, влияющие на специфичность	Буфер для ПЦР	Ионы магния	Температура отжига
Состав реакционной смеси (общий объем 50 мкл)	10х буфер-10 мкл 0,2 mM дНТФ 2 mM Mg^{2+} 400 nM каждого праймера 2 ед. фермента ДНК 10 нг	10х буфер-5,0 мкл 0,2 mM дНТФ 1,5 mM Mg^{2+} 400 nM каждого праймера 2 ед. фермента ДНК 10 нг	10х буфер-5,0 мкл 0,2 mM дНТФ 2 mM Mg^{2+} 400 nM каждого праймера 2 ед. фермента ДНК 10 нг
Температурно-временной режим	94 °C –3м (1 цикл) 94 °C –30 с 50 °C – 45 с (35 циклов) 72 °C –1м 30с 72 °C –7м (1 цикл)	94 °C –3м (1 цикл) 94 °C –30 с 50 °C – 45 с (35 циклов) 72 °C –1м 30с 72 °C –7м (1 цикл)	94 °C –3м (1 цикл) 94 °C –30 с 50 °C – гр. тем (35 72 °C –1м 30с циклов) 72 °C –7м (1 цикл)
Примечание: гр.тем- градиент температуры: 47,6°C; 50,6°C; 53,6°C; 56,6°C.			

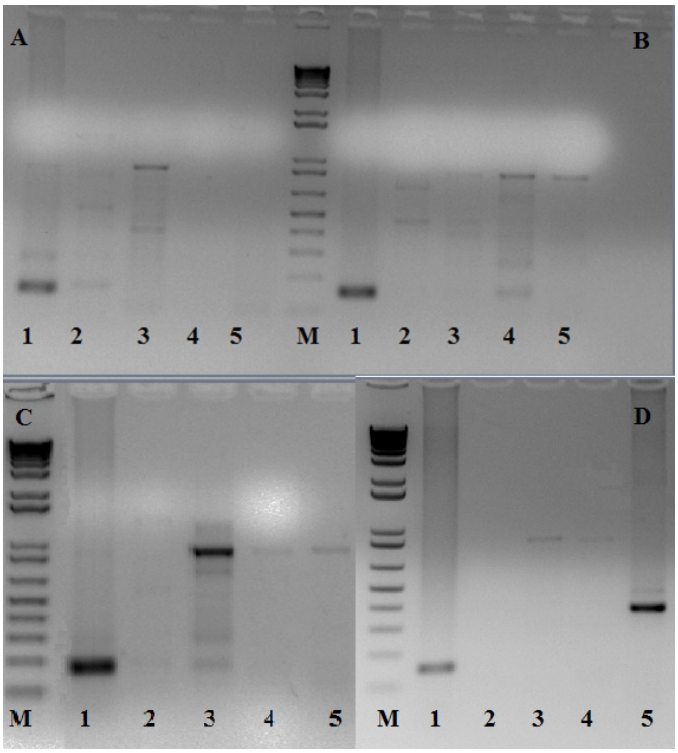


Рисунок 2 – Результаты определения специфичности
A – температура отжига праймеров 47,6°C; B – температура отжига праймеров 50,6°C;
C – температура отжига праймеров 53,6°C; D – температура отжига праймеров 56,6°C.
M – маркер молекулярного веса; 1 – ДНК *Pyrenophora tritici-repensis*; 2 – ДНК *Parastagonophora nodorum*;
3 – ДНК *Zymoseptoria tritici*; 4 – ДНК *Alternaria alternata*; 5 – ДНК *Fusarium graminearum*

При изучении специфичности реакции были выбраны ДНК других патогенов, которые часто сопутствуют с *Pyrenophora tritici-repensis* такие как, ***Parastagonophora nodorum, Zymoseptoria tritici, Alternaria alternata, Fusarium graminearum***. Полученные экспериментальные данные при постановке градиентной ПЦР показали, что во всех пробах нарабатываются неспецифические продукты реакции разных размеров (рисунок 2).

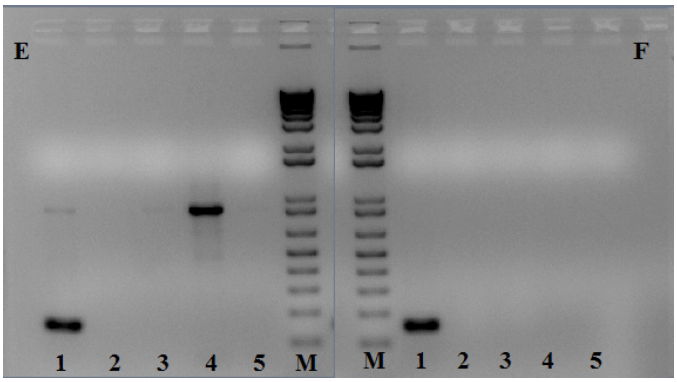


Рисунок 3 – Результаты определения специфичности
E – уменьшение концентрации ионов магния;
F – двукратное увеличение концентрации буфера. M – маркер молекулярного веса;
1 – ДНК *Pyrenophora tritici-repensis*; 2 – ДНК *Parastagonophora nodorum*;
3 – ДНК *Zymoseptoria tritici*; 4 – ДНК *Alternaria alternate*; 5 – ДНК *Fusarium graminearum*

Согласно рисунку 3, при определении специфичности метода диагностики желтой пятнистости листьев пшеницы было установлено, что при увеличении концентрации буфера для ПЦР не синтезируются неспецифические продукты ПЦР. При уменьшении ионов магния наблюдается амплификация неспецифических ПЦР-продуктов разных размеров.

Также нами были проведены работы по определению чувствительности. Определение чувствительности проводили при следующих температурных условиях: 94°C – 3 мин (1 цикл); 94 °C – 30 с, 50 °C – 45 с, 72 °C – 1 мин 30 с (35 циклов), 72 °C – 7 мин (1 цикл). Реакцию амплификации проводили в 50 мкл смеси. Состав реакционной смеси: 10х буфер-10 мкл; 0,2 mM дНТФ; 2 mM Mg^{2+}; 400 nM каждого праймера; фермент – 2 ед. ДНК с концентрацией 26 нг/мкл разводили стерильной свободной от нуклеаз водой в соотношении 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10 000; 1:100 000; 1: 1 000 000; 1: 10 000 000 (ДНК: вода).

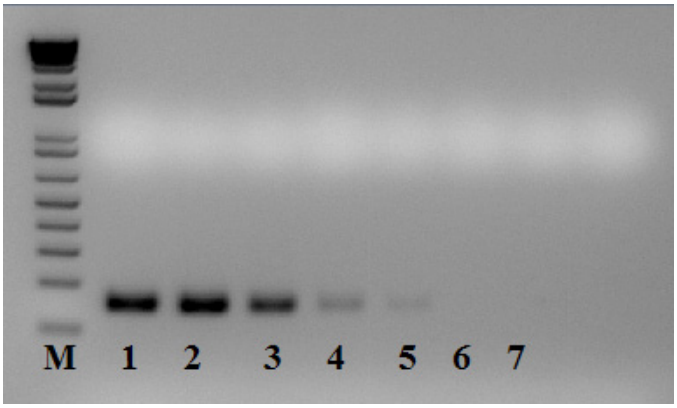


Рисунок 4 – Результаты определения чувствительности
M-маркер молекулярного веса; 1- ДНК $26*10^3$ пг; 2 – ДНК $26*10^2$ пг; 3 – ДНК 260 пг;
4 – ДНК 26 пг; 5 – ДНК 2,6 пг; 6 – ДНК 0,26 пг; 7 – ДНК 0,026 пг.

При определении чувствительности разработанной ПЦР для обнаружения ДНК *Pyrenophora tritici-repensis* использовали десятикратные разведения ДНК патогена (от 26 нг до 0,026 пг). Результаты представлены на рисунке 4. Как показали исследования, порог чувствительности метода ПЦР составляет 2,6 пг ДНК патогена в пробе, это говорит о том, что отработанный метод ПЦР обладает высокой чувствительностью.

Ежегодно на рынке появляются десятки новых тест-систем для ПЦР анализа, предназначенных как для выявления нуклеотидных последовательностей различных микроорганизмов – возбудителей заболеваний, так и для исследования генов. Себестоимость ПЦР-анализа неуклонно снижается, что способствует все более широкому использованию метода в диагностических учреждениях. Применение метода ПЦР и различных его модификаций для диагностики заболеваний имеет ряд преимуществ – прямое определение ДНК возбудителя, высокая специфичность, высокая чувствительность, универсальность процедуры, простота и удобство проведения анализа, сравнительно небольшие затраты времени на проведение анализа. Таким образом, ПЦР тест-система для детекции ДНК возбудителя желтой пятнистости пшеницы позволит поставить диагноз в короткие сроки, включая ранние стадии заболевания, позволит упростить и повысить эффективность диагностики, что может сократить экономические потери в хозяйствах от данного заболевания.

Вывод

В результате проведенных исследований получены следующие результаты:

1. Подобраны видоспецифичные праймеры на область гена β-тубулина, обеспечивающие детекцию патогена методом ПЦР.

2. Оптимизированы условия реакции ПЦР. На основании выбранных в процессе экспериментов оптимальных параметров, были составлены следующие температурно-временной режим и состав реакционной смеси для проведения ПЦР: 94°C – 3 мин (1 цикл); 94 °C – 30 с, 50 °C – 45 с, 72 °C – 1 мин 30 с (35 циклов), 72 °C – 7 мин (1 цикл); состав реакционной смеси: 10х буфер-10 мкл; 0,2 mM дНТФ; 2 mM Mg^{2+}; 400 nM каждого праймера; фермент – 2 ед.

3. Разработанная ПЦР тест-система является высокоспецифичной и позволяет выявлять нуклеиновую кислоту возбудителя желтой пятнистости пшеницы в количестве 2,6 пг. Данное значение является относительно высоким и свидетельствует о корректной оптимизации ПЦР и эффективности предложенной диагностической системы.

Исследования выполнены при поддержке Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан в рамках ПЦФ «Разработка инновационных систем для повышения устойчивости сортов пшеницы к особо опасным болезням в Республике Казахстан» на 2018-2020 гг. (№ BR06249329).

Литература

1 Lamari L., Bernier C.C. Virulence of isolates of Pyrenophora tritici-repentis on 11 wheat cultivars and cytology of the different host reaction // Can. J. Plant Pathol. – 1989. – Vol. 11. – P. 284-290.

2 Gurung, S., Short, D.P.G., Adhirkari, T.B. Global population structure and migration patterns suggest significant population differentiation among isolates of Pyrenophora tritici-repentis // Fungal Genetics and Biology. – 2013. Vol. 52. – P. 32-41.

3 Manning, V.A., Pandelova, I., Dhillon, B., Wilhelm, L.J., Goodwin, S.B., Berlin, A.M., Figueroa, M., Freitag, M., Hane, J.K., Henrissat, B., Holman, W.H., Kodira, C.D., Martin, J., Oliver, R.P., Robbertse, B., Schackwitz, W., Schwartz, D.C., Spatafora, J.W., Turgeon, B.G., Yandava, C., Young, S., Zhou, S., Zeng, Q., Grigoriev, I.V., Ma, L.J., Ciuffetti, L.M. Comparative genomics of a plant-pathogenic fungus, Pyrenophora tritici-repentis, reveals transduplication and the impact of repeat elements on pathogenicity and population divergence. // G3: Genes. Genomes. Genetics. – 2013. Vol. 3. – P. 41-63.

4 Rees R.G., Platz G.J., Mayer R.J. Susceptibility of Australian wheats to Pyrenophora tritici-repentis. // Aust J Agric Res. – 1988. Vol. 39. – P. 141-151.

5 Hosford R.M. Tan spot of wheat and related disease workshop. /R.M. Hosford (ed.). North Dacota State University, Fargo, 1982.

6 Weiss M.V. Compendium of Wheat Diseases, ed 2. St. Paul, APS Press, 1987.

7 Oerke E.C. Crop losses to pests. // J Agric Sci. – 2016. Vol. 144. – P. 31-43.

8 Friesen T.L., Stukenbrock E.H., Liu Z., Meinhardt S., Ling H., Faris J.D., Rasmussen J.B., Solomon P.S., McDonald B.A., Oliver R.P. Emergence of a new disease as a result of interspecific virulence gene transfer. // Nature Genetics. 2006. – Vol.38. – P.953–956.

9 Antoni E.A., Rybak K., Tucker M.P., Hane J.K., Solomon P.S., Drenth A., Shankar M., Oliver R.P. Ubiquity of ToxA and absence of ToxB in Australian populations of Pyrenophora tritici-repentis // Australasian Plant Pathology. 2010. – Vol.39. – P.63–68.

10 Mikhailova L.A., Ternuk I.G., Mironenko N.V. Structure of Pyrenophora tritici-repentis populations from European part of Russia by virulence. // Mikologiya I Fitopatologiya. 2007. – Vol.41. – P. 269–275.

11 Койшыбаев М. Распространение и развитие желтой пятнистости пшеницы в Казахстане // Микология и фитопатология. – 2010. – Т. 45. – Вып. 2. – С. 177-186.

12 Kokhmetova A., Kremneva O., Volkova G., Atishova M., Sapakhova Z. Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot // Journal of Plant Pathology. – 2017. – Vol. 99 (1). – P. 161-167.

13 Hudcovicova M., Matusinsky P., Gubis J., Leisova-Svobodova L., Heinonen U., Ondreickova K., Mihalik D., Gubisova M., Majeska M., Jalli M. DNA markers for identification of Pyrenophora tritici-repentis and detection of genetic diversity among its isolates. Romanian agricultural research. 2015. – Vol.32. – P.1-10.

14 Abdullah A.S., Turo C., Moffat C.S., Lopez-Ruiz F.J., Gibberd M.R., Hamblin J., Zerihun A. Real-Time PCR for Diagnosing and Quantifying Co-infection by Two Globally Distributed Fungal Pathogens of Wheat // Front. Plant Sci. – 2018. – Vol. 9. – P. 1086-1089

15 Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. Желтая пятнистость пшеницы // Методические указания по изучению популяций возбудителя желтой пятнистости Pyrenophora tritici-repentis и устойчивости сортов. – Санкт-Петербург, 2012. – 56 с.

16 Lamari, L., Bernier, C.C. Genetics of tan necrosis and extensive chlorosis in tan spot of wheat caused by Pyrenophora tritici-repentis. // Phytopathology. – 1991. – Vol. 81. – P. 1092-1095.

17 White T.J., Bruns T., Lee S. Tailor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. // New York, Academic Press Inc. – 1990. – P. 315-322.

18 Bellemain E., Carlsen T., Brochmann C., Coissac E., Taberlet P., Kauserud H. ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. // BMC Microbiol. – 2010. – P. 189-198.

19 Kulik T., Fordoński G., Pszczółkowska A., Płodzień K., Łapiński M. Development of PCR assay based on ITS2 rDNA polymorphism for the detection and differentiation of Fusarium sporotrichioides // FEMS Microbiol Lett. – 2004. – P. 181-186.

20 Edwards S.G., O'Callaghan J., Dobson A.D.W. PCR-based detection and quantification of mycotoxigenic fungi. // Mycol Res. – 2002. – Vol. 106. – P. 1005-1025.

21 Wang X., Zhao J., Han Q., Huang L., Kang Z. The development of a PCR-based method for detecting Puccinia striiformis latent infections in wheat leaves. // Eur J Plant Pathol. – 2008. Vol. 120. – P. 241-247.

22 Zhao J., Wang X.J., Chen C.Q., Huang L.L., Kang Z.S. A PCR-based assay for detection of Puccinia striiformis f. sp. tritici in wheat. // Plant Dis. – 2007. Vol. 91. – P. 1669-1674.

23 Ma Z, Yoshimura M, Holtz B, Michailides TJ: Characterization and PCR-based detection of benzimidazole-resistant isolates of Monilinia laxa in California. // Pest Manag Sci. – 2005. – Vol. 61. – P. 449-457.

24 Schena L., Nicosia M.G., Li D., Sanzani S.M., Faedda R., Ippolito A., et al. Development of quantitative PCR detection methods for phytopathogenic fungi and oomycetes. // J Plant Pathol. – 2013. – P. 7-24.

25 Sanoubar R., Bauer A., Seigner L. Detection, identification and quantification of Fusarium graminearum and Fusarium culmorum in wheat kernels by PCR techniques. // J Plant Pathol Microbiol. – 2015. – P. 286-287.

References

1 Abdullah A.S., Turo C., Moffat C.S., Lopez-Ruiz F.J., Gibberd M.R., Hamblin J., Zerihun A. (2018) Real-Time PCR for Diagnosing and Quantifying Co-infection by Two Globally Distributed Fungal Pathogens of Wheat . Front. Plant Sci. – Vol.9, p. 1086-1089.

2 Antoni E.A., Rybak K., Tucker M.P., Hane J.K., Solomon P.S., Drenth A., Shankar M., Oliver R.P. (2010) Ubiquity of ToxA and absence of ToxB in Australian populations of Pyrenophora tritici-repentis . Australasian Plant Pathology. Vol.39, P.63–68..

3 Bellemain E., Carlsen T., Brochmann C., Coissac E., Taberlet P., Kauserud H. (2010) ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. . BMC Microbiol., p. 189-198.

4 Edwards S.G., O'Callaghan J., Dobson A.D.W. (2002) PCR-based detection and quantification of mycotoxigenic fungi. . Mycol Res., Vol. 106, p. 1005-1025.

5 Friesen T.L., Stukenbrock E.H., Liu Z., Meinhardt S., Ling H., Faris J.D., Rasmussen J.B., Solomon P.S., McDonald B.A., Oliver R.P. (2006) Emergence of a new disease as a result of interspecific virulence gene transfer. . Nature Genetics. Vol. 38, P. 953–956.

6 Gurung, S., Short, D.P.G., Adhirkari, T.B. (2013). Global population structure and migration patterns suggest significant population differentiation among isolates of Pyrenophora tritici-repentis. . Fungal Genetics and Biology. 52: 32-41.

7 Hosford R.M. Tan spot of wheat and related disease workshop. /R.M. Hosford (ed.). North Dacota State University, Fargo, 1982.

8 Hudcovicova M., Matusinsky P., Gubis J., Leisova-Svobodova L., Heinonen U., Ondreickova K., Mihalik D., Gubisova M., Majeska M., Jalli M. (2015) DNA markers for identification of Pyrenophora tritici-repentis and detection of genetic diversity among its isolates.. Romanian agricultural research. Vol.32, P.1-10.

9 Kojshybaev M. (2010) Rasprostranenie i razvitie zheltoj pjatnistosti pshenicy v Kazahstane [The distribution and development of yellow spot of wheat in Kazakhstan] . Mikologija i fitopatologija. Vol.45, p. 177-186 [in Russian].

10 Kokhmetova A., Kremneva O., Volkova G., Atishova M., Sapakhova Z. (2017) Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot . Journal of Plant Pathology. Vol. 99 (1), P. 161-167.

11 Kulik T., Fordoński G., Pszczółkowska A., Płodzień K., Łapiński M. (2004) Development of PCR assay based on ITS2 rDNA polymorphism for the detection and differentiation of Fusarium sporotrichioides . FEMS Microbiol Lett., p. 181-186.

12 Lamari L., Bernier C.C. (1989) Virulence of isolates of Pyrenophora tritici-repentis on 11 wheat cultivars and cytology of the different host reaction. . Can. J. Plant Pathol. P. 284-290.

13 Lamari, L., Bernier, C.C. (1991). Genetics of tan necrosis and extensive chlorosis in tan spot of wheat caused by Pyrenophora tritici-repentis.. Phytopathology. Vol. 81, p. 1092-1095.

14 Ma Z, Yoshimura M, Holtz B, Michailides T.J. (2005) Characterization and PCR-based detection of benzimidazole-resistant isolates of Monilinia laxa in California. . Pest Manag Sci, Vol. 61, p. 449-457.

15 Manning, V.A., Pandelova, I., Dhillon, B., Wilhelm, L.J., Goodwin, S.B., Berlin, A.M., Figueroa, M., Freitag, M., Hane, J.K., Henrissat, B., Holman, W.H., Kodira, C.D., Martin, J., Oliver, R.P., Robbertse, B., Schackwitz, W., Schwartz, D.C., Spatafora, J.W., Turgeon, B.G., Yandava, C., Young, S., Zhou, S., Zeng, Q., Grigoriev, I.V., Ma, L.J., Ciuffetti, L.M. (2013). Comparative genomics of a plant-pathogenic fungus, Pyrenophora tritici-repentis, reveals transduplication and the impact of repeat elements on pathogenicity and population divergence. . G3: Genes. Genomes. Genetics. 3: 41-63.

16 Mihajlova L.A., Mironenko N.V., Kovalenko N.M. (2012) Zheltaja pjatnistost' pshenicy [Tan spot of wheat] . Metodicheskie ukazanija po izucheniju populjacij vozbuditelja zheltoj pjatnistosti Pyrenophora tritici-repentis i ustojchivosti sortov. – Sankt-Peterburg, 56 s [in Russian].

17 Mikhailova L.A., Ternuk I.G., Mironenko N.V. (2007) Structure of Pyrenophora tritici-repentis populations from European part of Russia by virulence. . Mikologiya I Fitopatologiya. Vol.41, P. 269–275.

18 Oerke E.C. (2016) Crop losses to pests. . J Agric Sci. vol. 144, p. 31-43.

19 Rees R.G., Platz G.J., Mayer R.J. (1988) Susceptibility of Australian wheats to Pyrenophora tritici-repentis. . Aust J Agric Res. Vol. 39, p. 141-151.

20 Sanoubar R., Bauer A., Seigner L. (2015) Detection, identification and quantification of Fusarium graminearum and Fusarium culmorum in wheat kernels by PCR techniques. . J Plant Pathol Microbiol., p. 286-287.

21 Schena L., Nicosia M.G., Li D., Sanzani S.M., Faedda R., Ippolito A., et al. (2013) Development of quantitative PCR detection methods for phytopathogenic fungi and oomycetes. . J Plant Pathol., p. 7-24.

22 Wang X., Zhao J., Han Q., Huang L., Kang Z. (2008) The development of a PCR-based method for detecting Puccinia striiformis latent infections in wheat leaves. . Eur J Plant Pathol Vol. 120, p. 241-247.

23 Weiss MV: Compendium of Wheat Diseases, ed 2. St. Paul, APS Press, 1987.

24 White T.J., Bruns T., Lee S. Tailor J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. . New York, Academic Press Inc, pp 315-322.

25 Zhao J., Wang X.J., Chen C.Q., Huang L.L., Kang Z.S. (2007) A PCR-based assay for detection of Puccinia striiformis f. sp. tritici in wheat. . Plant Dis., Vol. 91, p. 1669-1674.

МРНТИ 34.15.27 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b12

Станбекова Г.Э.[1], Бейсенов Д.К.[2], Калиева А.А.[3], Искаков Б.К.[4]

[1]ведущий научный сотрудник, e-mail: gulshanst@yahoo.com
[2]младший научный сотрудник, e-mail: beisenov.d@gmail.com
[3]лаборант, e-mail: aigul_altaevna@mail.ru
[4]д.б.н., профессор, заведующий, e-mail: bulat.iskakov@mail.ru
Лаборатория белка и нуклеиновых кислот РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина» КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *UIDA* В ТРАНСПЛАСТОМНЫХ РАСТЕНИЯХ ТАБАКА ПОД КОНТРОЛЕМ 5′-НЕТРАНСЛИРУЕМОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНОМНОЙ РНК Y-ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ

Регуляция экспрессии хлоропластных генов в основном происходит на посттранскрипкционном уровне, существенную роль в которой играют 5′-нетранслируемые последовательности (5′НТП) пластидных мРНК. В трансплаcтомных растениях табака нами изучено влияние 5′НТП геномной РНК Y-вируса картофеля (5′PVY), а также 5′НТП пластидного гена psbA (5′psbA) на экспрессию бактериального репортерного гена uidA, кодирующего β-глюкуронидазу (GUS). Были созданы генетические конструкции, содержащие ген uidA, под контролем одинаковых транскрипционных регуляторных элементов: промотора и терминатора гена psbA и двух различных 5′НТП – 5′psbA и 5′PVY. Этими конструкциями трансформировали хлоропласты табака методом биобаллистики. Трансплаcтомные линии показали примерно 24-кратные различия в активности GUS. Замена природной 5′psbA на чужеродную 5′PVY привела к значительному снижению синтеза GUS-белка.

Ключевые слова: хлоропласты, синтез белка, 5′НТП, трансплаcтомные растения, репортерный белок.

Stanbekova G.E.[1], Beisenov D. K.[2], Kalieva A.A.[3], Iskakov B. K.[4]

[1]c. bi.sci., e-mail: gulshanst@yahoo.com
[2] junior researcher, e-mail: beisenov.d@gmail.com
[3]technician of the laboratory, e-mail: aigul_altaevna@mail.ru
[4]d.bi. sci., professor, head, e-mail: bulat.iskakov@mail.ru
leading researcher of the laboratory of protein and nucleic acids, RSE «M.A. Ajtkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry», Committee of science, MES RK, Kazakhstan, Almaty

Expression of *uidA* gene in tobacco transplastomic plants under the control of 5′-untranslated region of genomic RNA of potato virus Y

Regulation of the expression of chloroplast genes mainly occurs at the post-transcriptional level, in which 5′-untranslated regions (5′UTR) of plastid mRNA play a significant role. In transplastomic tobacco plants, we studied the effect of the 5′UTRs of the genomic RNA of potato Y-virus (5′PVY), as well as the 5′UTR of the plastid psbA gene (5′psbA) on the expression of the bacterial reporter uidA gene encoding β-glucuronidase (GUS). Genetic constructs containing the uidA gene were created under the control of identical transcriptional regulatory elements: the promoter and terminator of the psbA gene and two different 5′UTRs — 5′psbA and 5′PVY. Tobacco chloroplasts were transformed with these constructs by bioballistic method. Transplastomic lines showed approximately 24-fold differences in GUS activity. Replacing the natural 5′psbA with the heterologous 5′PVY resulted in a significant decrease in the synthesis of GUS protein.

Key words: chloroplasts, protein synthesis, 5′UTR, transplastomic plants, reporter protein.

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Станбекова Г.Э.[1], Бейсенов Д.К.[2],
Калиева А.А.[3], Искаков Б.К.[4]

[1]б.ғ.к., жетекші ғылыми қызметкері, e-mail: gulshanst@yahoo.com
[2]кіші ғылыми қызметкері, e-mail: beisenov.d@gmail.com
[3]лаборант, e-mail: aigul_altaevna@mail.ru
[4]б.ғ.д, профессор, меңгеруші, e-mail: bulat.iskakov@mail.ru
ҚР БҒМ ҒМ «М.А. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты»
ШЖҚ РМК Ақуыз және нуклеин қышқылдары зертханасы, Қазақстан, Алматы қ.

Картоптың Y-вирусының геномдық РНҚ 5′ – трансляцияланбайтын тізбегінің бақылауындағы транспластомды темекі өсімдігінің *uidA* генінің экспрессиясы

Хлоропласт гендерінің экспрессиясының реттелуі посттранкционды деңгейде орын алады, бұл ретте пластикалық мРНҚ 5′-трансляцияланбайтын тізбегі (5′ТЛТ) маңызды рөлін атқарады. Картоптың Y вирусының (5′PVY) геномдық РНҚ-ның 5′ТЛТ-ін және пластид psbA генінің 5′ТЛТ-нің транспластомды темекі өсімдіктерінде β-глюкуронидаза (GUS) кодтайтын бактериялық репортер uidA генінің экспрессиясына әсері біздің жұмыстарда зерттелінді. Трансформация үшін uidA генін қамтитын бірдей басқарушы транскрипциялық реттегіштер элементтері: пластидті psbA генінің промоутерлері мен терминаторлары және екі түрлі 5′ТЛТ: 5′psbA және 5′PVY бар генетикалық конструкциялар құрылды. Биобаллистика әдісімен бұл конструкциялар арқылы темекі хлоропластары трансформацияланды. Транспластомды сызығы GUS белсенділігінде шамамен 24 есе айырмашылықты көрсетті. Табиғи 5′psbA бөтен 5′PVY-ға ауыстыру GUS-белок синтезінің айтарлықтай төмендеуіне әкелді.

Түйін сөздер: хлоропластар, белок синтезі, 5′-ТЛТ, транспластомды өсімдік, репортерлы белок.

Введение

Полиплоидность хлоропластного генома позволяет синтезировать чужеродные белки на очень высоком уровне, что дает огромное преимущество пластидной системе экспрессии по сравнению с ядерной. За последние годы были получены транспластомные растения с улучшенными агрономическими признаками, такими как увеличение биомассы, устойчивость к гербицидам, насекомым, засухе, холоду и соли. Показана их возможность применения в фиторемедиации, производстве вакцинных антигенов и биопрепаратов медицинского назначения, ферментов для промышленного производства, биоматериалов и биотоплива [1, 2, 3].

Уровень синтеза одного и того же гетерологичного белка в транспластомных растениях может сильно варьировать в зависимости от выбора регуляторных элементов. Как было показано в работах по мутагенезу одноклеточной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* [4], в транспластомных линиях табака [5] и в хлоропластной системе трансляции *in vitro* [6], значительную роль в экспрессии пластидных генов играет посттранскрипционная регуляция, определяемая во многом нуклеотидными последовательностями, расположенными до и после инициирующего кодона AUG в мРНК. К областям, примыкающим к стартовому кодону, относятся 5’НТП и так называемый ‘‘downstream box’’, обычно включающий первые 10-15 кодонов мРНК. Комбинация и модификации указанных элементов, как было показано рядом исследователей, часто приводит к значительному повышению уровня экспрессии целевого гена [7, 8, 9, 10].

В работах по трансформации хлоропластов наиболее часто используют 5’НТП пластидных генов *psbA, atpB, rbcL* [11, 12, 13, 14, 15]. Удивительно, но наиболее рекордного выхода целевого белка удалось достичь при применении чужеродной 5’НТП гена 10 бактериофага Т7 (5’T7G10). Так при экспрессии в табаке гена *plyGBS,* кодирующего бактериофаговый антибиотик против стрептококков группы Б, выход рекомбинантного белка составил более 70% от общего растворимого белка [16]. Такой же высокий уровень синтеза рекомбинантного проинсулина в хлоропластах был продемонстрирован в работе Рулмана с соавт. [17]. Первые фертильные транспластомные растения арабидопсиса, наиболее хорошо изученного модельного генетического объекта, были получены с помощью 5’T7G10-содержащих векторов [18].

Успешное применение 5’T7G10 при синтезе рекомбинантных белков вызвал интерес к изучению других 5’НТП генов бактериофагов. Так была показана способность 5’T7g1.3 и 5’T4g23

направлять синтез в хлоропластах аминогликозид 3′-аденилилтрансферазы, кодируемой геном *aadA* и придающей устойчивость к спектиномицину, применяемого в качестве селективного антибиотика при отборе трансформантов. Несмотря на присутствие в них характерной для большинства 5'НТП *E. coli* и пластидных транскриптов последовательности Шайн-Дальгарно, содержание придающего устойчивость к спектиномицину белка в растениях была значительно ниже по сравнению с 5'T7G10, но достаточным для отбора трансформантов [19].

Кроме лидерных последовательностей генов бактериофагов было исследовано влияние 5'НТП растительных вирусов на синтез GUS-белка в хлоропластах, таких как 5'НТП белка оболочки вируса картофеля PVX, IRES-элементы (Internal Ribosome Entry Site) генов белка оболочки и транспортного белка тобамовируса крестоцветных: IREScp148 и IRESmp75 [8].

Поиск новых непластидных 5'НТП для регуляции экспрессии трансгенов в хлоропластах является актуальным, поскольку гетерологичные последовательности в силу отсутствия гомологии с пластомом хозяина сокращают риск нежелательной посттрансформационной рекомбинации между эндогенными и привнесенными в составе трансгена пластидными элементами (промоторами, терминаторами, 5'НТП), которая может приводить к утрате трансгенов и/или гетерогенности пластид в трансластомных растениях [20].

В настоящей работе мы впервые исследовали влияние 5'НТП геномной РНК вируса картофеля Y (5'PVY) на уровень экспрессии кодирущего репортерный белок β-глюкуронидазу гена *uidA* в трансластомных растениях табака. Выбор данной лидерной последовательности неслучаен, а обусловлен результатами исследований, показавших ее функциональную активность при экспрессии гена *uidA* в *E. coli*, сравнимую с последовательностью Шайн-Дальгарно [21].

Материалы и методы исследования

Сайт-направленный мутагенез. Мутагенез плазмиды pKG27 [22], любезно предоставленной проф. Х. Варцехой (Технический Университет г. Дармштадт, Германия) проводили посредством амплификации Pfu-полимеразой («Roche», Швейцария) с участием пары праймеров: BamHI-for (5' –TGTTATACTGTTGAATAAGGATCCTTCCATTTTCTATT– 3') и BamHI-rev (5' –AATAGAAAATGGAAGGATCCTTATTCAACAGTATAACA– 3'). Вносимые мутации подчеркнуты. ПЦР проводили на амплификаторе Mastercycler® («Eppendorf», Германия) в следующем температурном режиме: 1 мин при 94ºС; 50 сек при 94ºС, 50 сек при 48ºС, 7 мин при 68ºС – 25 циклов; 10 мин при 68ºС. Продукты ПЦР анализировали в 1% агарозном геле.

Конструирование векторов. В полученную мутагенезом плазмиду pKG27B клонировали фрагмент ДНК, содержащий 5' PVY, из плазмиды pET23c/Y (из коллекции лаборатории). Полученную плазмиду обозначили как pKG27BY. Плазмиды pNT4/5'psbA-GUS и pNT4/5'PVY-GUS были получены путем встраивания *Sac*I/*Hind*III ДНК-фрагментов из pKG27 и pKG27BY в плазмиду pNT4 (любезно предоставленной проф. Х. Варцехой). При клонировании использовали общепринятые методы [23].

Секвенирование ДНК осуществляли с использованием коммерческого набора Big Dye® Terminator v.3.1 («Applied Biosystems», США) по методике фирмы-производителя, используя праймер GUS-rev (5'-CACAGTTTTCGCGATC CAGACTGAA-3'). Амплификацию проводили в амплификаторе 9700 («Applied Biosystems», США) при использовании температурного режима: 2 мин при 96ºС; 15 сек при 96ºС, 10 сек при 50ºС, 4мин при 60ºС – 25 циклов. Образцы ДНК анализировали на генетическом анализаторе 310 («Applied Biosystems», США).

Трансформация и регенерация трансластомных растений.

Растения табака *Nicotiana tabacum* (Nt) культивара Petit Havana были выращены из семян *in vitro* при 22±3°С при световом режиме 16ч/8ч (день/ночь), освещенности 3000 люкс на агаризованной, содержащей сахарозу (30 г/л) среде МС [24]. Листья растений были трансформированы методом биобаллистики (бомбардировки) микрочастицами золота (0,6 мкм), на поверхности которых были иммобилизованы молекулы ДНК, с помощью баллистической пушки PDS-1000/He Biolistic Particle Delivery System («Bio-Rad», США) по методу Сваба с соавт. [25]. Селективная среда МС для отбора трансформантов содержала 1 мг/л БАП (6-бензиламинопурин) и 0,1 мг/л НУК (нафтилуксусная кислота) и 500 мг/л спектиномицина. Образовавшиеся побеги срезали и пересаживали на безгормональную среду с добавлением антибиотика.

ПЦР анализ растений. Препараты тотальных ДНК выделяли из 50 мг листьев табака с помощью набора DNeasy Plant Mini Kit («Qiagen», Германия) по методике фирмы-изготовителя. 100 нг ДНК брали для ПЦР анализа, который проводили с помощью Taq-полимеразы («Fermentas», Литва) и пары праймеров Ppsba-for (5'-CACCCACTAGCATATCGAAATTCT-3') и GUS-rev, подобранных к 3'-концу промотора гена *psbA* и 5'-концу гена *uidA*.

Гибридизационный анализ по Саузерну. По 2 мкг препаратов тотальных ДНК, выделенных из трансластомных линий и дикого типа табака, были обработаны рестриктазой *EcoO*109I («Fermentas», Литва). Далее фрагменты ДНК были разделены электрофоретически в 1% агарозном геле, после чего были перенесены капиллярным способом на нейлоновую мембрану Porablot NY plus («Macherey-Nagel», Германия) и гибридизованы с меченным дигоксигенином зондом, полученным амплификацией ДНК дикого типа с помощью набора PCR DIG Probe Synthesis Kit («Roche», Швейцария) и пары праймеров Chl-for/Chl-rev (5'-TCTCGGTTGTGAGACACATTAAAT-3'; 5'-GAAGCCCCTTTACCATTCTGTAT-3'). Детекцию связавшихся с зондом фрагментов проводили с помощью набора DIG Nucleic Acid Detection kit («Roche», Швейцария).

Измерение активности β-глюкуронидазы проводили флюорометрическим методом согласно Джеферсону с соавт. [26] на приборе Hoefer TKO-100 («Hoefer», США). В качестве субстрата использовали MUG (4-метилумбеллиферил-β-D-глюкуронид) («Sigma aldrich», США). 50 мг листьев растирали в ступке в 100 мкл экстракционного буфера (50 мМ Na-фосфатный буфер, pH 7.8; 10 мМ β-меркаптоэтанол; 10 мМ Na_2-ЭДТА; 0.1% Тритон X-100), центрифугировали 5 мин при 13400 тыс. об/мин. К 16 мкл супернатанта добавляли 4 мкл раствора 5мМ MUG в экстракционном буфере, инкубировали 30 мин при 37°C, реакцию останавливали добавлением 2 мл 0,2 М Na_2CO_3.

Результаты исследований и их обсуждение

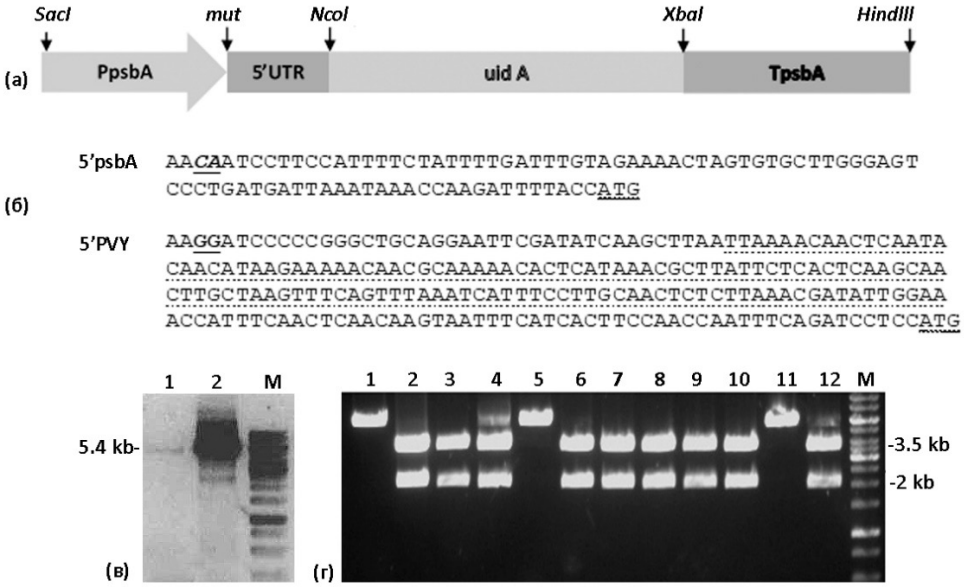
Сайт-направленный мутагенез

Для сравнительного изучения влияния 5'PVY и 5'psbA на трансляцию репортерного GUS-белка в хлоропластах нами были получены соответствующие конструкции. Их основой послужил вектор pKG27 (рис. 1а), который содержит *uidA* ген под контролем промотора с 5'НТП и терминатора пластидного гена *psbA*, кодирующего D1 полипептид фотосистемы II. По причине отсутствия в pKG27 сайта клонирования между промотором и 5'НТП нами в указанную область был введен *BamH*I сайт посредством сайт-направленного мутагенеза. Мутагенез осуществляли путем амплификации плазмиды целиком посредством высокоточной ДНК-полимеразы с вовлечением двух взаимно комплементарных праймеров, подобранных к желаемой области и содержащих в центре две нуклеотидные замены. Замена третьего и четвертого нуклеотида от начала старта транскрипции CA на GG приводит к образованию сайта GGATCC, узнаваемого эндонуклеазой рестрикции *BamH*I (рис. 1а, 1б). Электрофоретический анализ продуктов ПЦР показал, что синтезированный ампликон по размеру соответствовал исходной плазмиде pKG27 (рис. 1в).

Далее реакционную смесь обрабатывали рестриктазой *Dpn*I, расщепляющей метилированную ДНК по последовательностям 5'-Gm^6ATC-3'. Поскольку исходная плазмида была метилирована (штамм *E. coli* DH5 является dam+ штаммом), рестриктаза *Dpn*I расщепляла исходную, служившей матрицей немутированную плазмиду, но не амплифицированную в ходе ПЦР мутированную ДНК. После рестрикции реакционной смесью трансформировали компетентные клетки *E.coli* штамма XL1-Blue. Плазмиды из выросших клонов анализировали совместной обработкой эндонуклеазами рестрикции *Bam*HI и *Xba*I. Выщепление фрагмента с размером ~2 kb в большинстве проанализированных клонах свидетельствовало о внедрении *Bam*HI сайта (рис. 1г). Данный факт был подтвержден посредством секвенирования ДНК. Полученная плазмида pKG27 с *BamH*I сайтом между промотором и 5'НТП *psbA* гена была обозначена как pKG27B.

Клонирование uidA гена в хлоропластный вектор

Для встраивания последовательности 5'PVY перед кодирующей областью гена *uidA* фрагмент ДНК размером 222 bp из плазмиды pET23c/Y, содержащий полную последовательность вирусного лидера (рис.1б), клонировали в плазмиду pKG27B по сайтам рестрикции *BamH*I/*Nco*I. Полученная плазмида была обозначена как pKG27BY и отличалась от исходной pKG27 только областью 5'НТП перед *uidA* геном.



(а) PpsbA, TpsbA, 5’UTR – промотор, терминатор, 5’НТП пластидного гена psbA, uidA – ген, кодирующий GUS-белок; (б) 5’psbA, 5’PVY – нуклеотидные последовательности 5’НТП, подчеркнуты две нуклеотидные замены, пунктиром выделена 5’PVY, волнистой линией отмечен стартовый кодон; (в) М – ДНК-маркер, 1 – отрицательный контроль, 2 – при добавлении Pfu; (г) 1-12- анализируемые плазмиды, обработанные BamHI и XbaI рестриктазами.

Рисунок 1 – Сайт-направленный мутагенез плазмиды pKG27 и нуклеотидные последовательности 5’НТП. (а) Карта плазмиды pKG27, (б) нуклеотидные последовательности 5’psbA и 5’PVY, (в) электрофорез продуктов ПЦР (г) скрининг клонов

На следующем этапе полученная ДНК-кассета была перенесена в хлоропластный вектор pNT4. pNT4 обеспечивает интеграцию трансгенов в межгенную область trnG/trnfM хлоропластного генома путем гомологичной рекомбинации и содержит ген *aadA*, придающий устойчивость к антибиотику спектиномицину. ДНК-фрагменты размером 2332 bp и 2469 bp, полученные путем рестрикции плазмид pKG27 и pKG27BY совместной обработкой ферментами *Hind*III и *Sac*I, были клонированы по тем же сайтам в pNT4. Полученные плазмиды были обозначены как pNT4/5’psbA-GUS и pNT4/5’PVY-GUS (рис. 2). Так как в последовательности 5’PVY плазмиды pKG27BY имеется дополнительный *Hind*III-сайт (рис. 2) фрагмент ДНК, содержащий кассету [PpsbA-5’PVY-GUS-TpsbA], был получен в результате неполного гидролиза рестриктазой *Hind*III, предварительно обработанной *Sac*I.

Получение и характеристика трансластомных растений

Генетическая трансформация хлоропластов табака была проведена методом биобаллистики листьев полученными векторами pNT4/5’psbA-GUS и pNT4/5’PVY-GUS, иммобилизованными на поверхности золотых микрочастиц. Эксплантыи листьев после обстрела культивировали на среде с гормонами и спектиномицином для селекции и регенерации трансформантов. Нетрансформированные сегменты листьев постепенно обесцвечивались и отмирали. Образование первых зеленых побегов-регенерантов наблюдали через 6-8 недель от начала эксперимента (рис. 3а). Для корнеобразования побеги, достигшие 2-3 см в длину, переносили на безгормональную, спектиномицин-содержащую среду. Для подтверждения интеграции трансгена и отсева устойчивых к антибиотику спонтанных мутантов подросшие растения были протестированы методом ПЦР с участием пары праймеров Ppsba-for/GUS-rev, подобранных к 3’- и 5’-концам промотора гена *psbA* и кодирующей части гена *uidA*. Проведенный анализ показал, что все пять отобранных растений содержат целевую вставку (рис. 3б). По две линии каждого варианта были подвергнуты вторичному отбору для элиминации пластид дикого типа и отбора пластид, несущих ген устойчивости к спектиномицину. Листовые сегменты четырех

линий культивировали на среде с гормонами и антибиотиком до появления вторичных регенерантов. Такой отбор проводили четырежды. Линии, прошедшие вторичный отбор, были высажены в грунт и анализировались далее. Полученные трансластомные растения по внешнему виду ничем не отличались от растений дикого типа (рис. 3в).

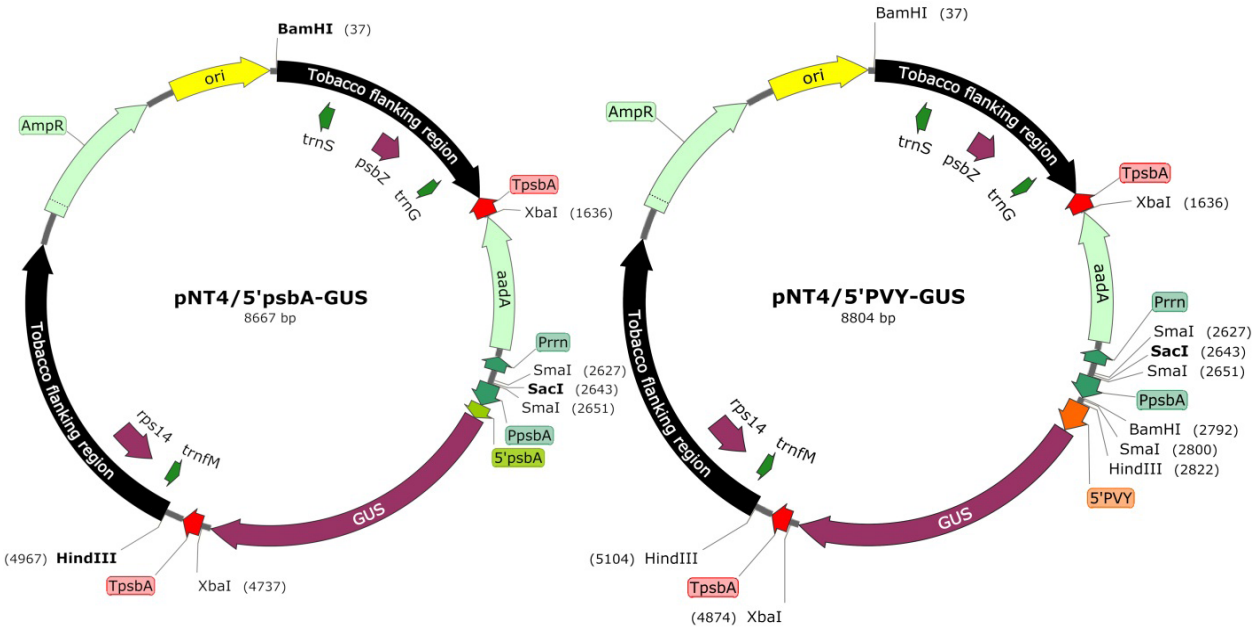
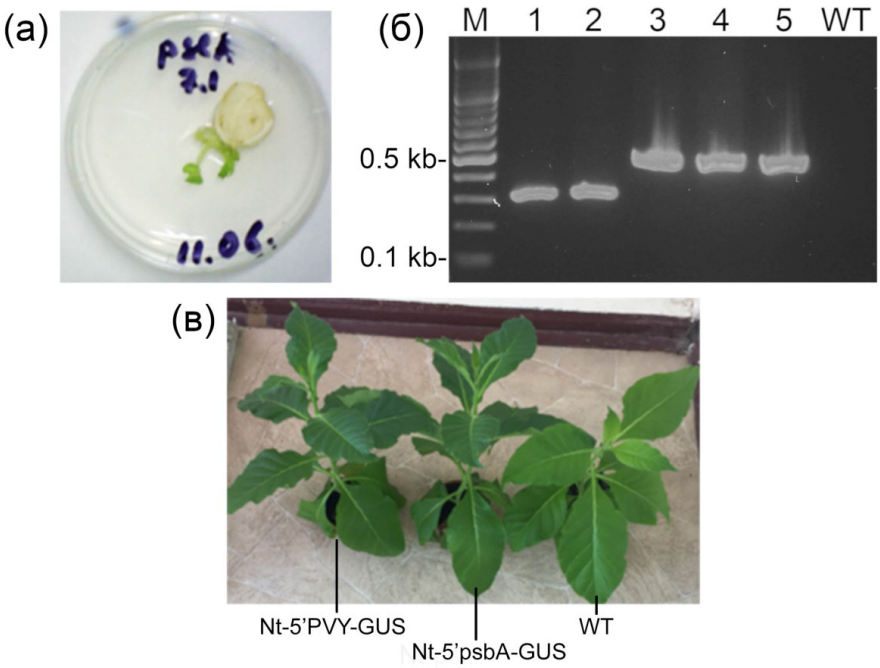


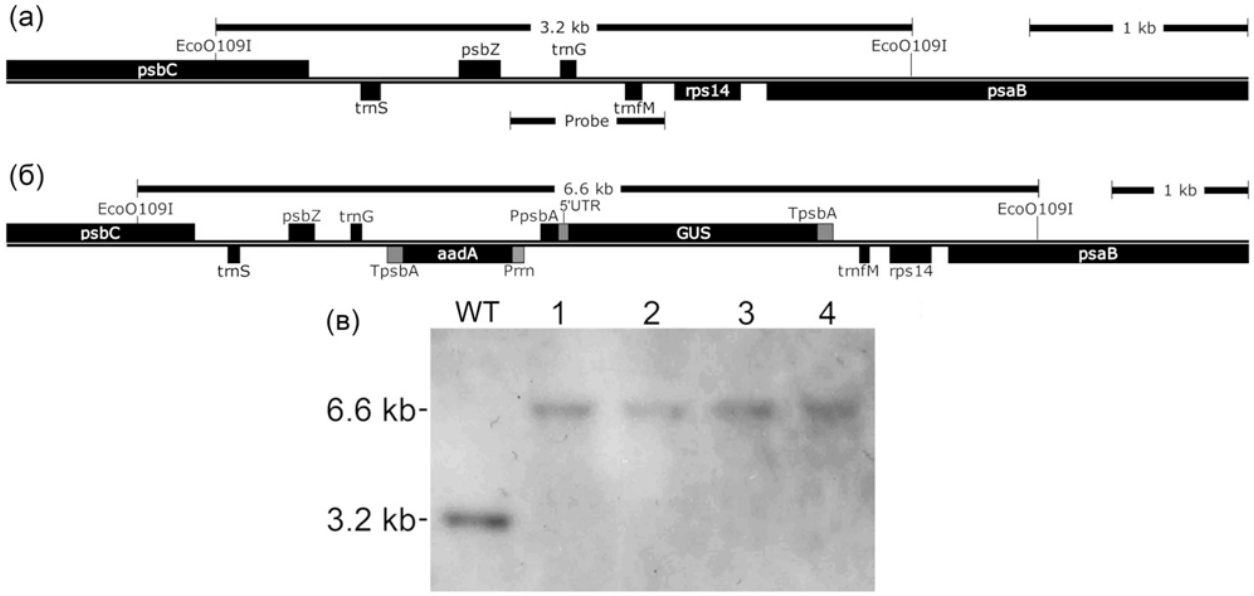
Рисунок 2 – Карты плазмид pNT4/5’psbA-GUS и pNT4/5’PVY-GUS



M – ДНК-маркер; 1,2–линии Nt-5’psbA-GUS; 3,4,5– линии Nt-5’PVY-GUS; WT–дикий тип.

Рисунок 3 – Получение трансластомных растений. (а) регенерация; (б) ПЦР анализ; (в) взрослые растения

Гомопластидность линий после двух этапов селекции была подтверждена при изучении полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) посредством Саузерн-блоттинга. Препараты тотальных ДНК различных линий были обработаны рестриктазой *EcoO*109I и гибридизованы с DIG-меченным зондом. Зонд представлял собой ДНК-фрагмент размером 710 bp, полученный в ходе амплификации ДНК дикого типа с участием пары праймеров Chl-dir/Chl-rev и охватывающей смежные с сайтом встраивания трансгена области пластидной ДНК (рис. 4а, 4б). Зонд гибридизовался с 3,2 kb ДНК-фрагментом дикого типа, тогда как ДНК из трансластомных растений давала сигнал около 6,6 kb (рис. 4в). Отсутствие 3,2 kb фрагмента в полученных растениях свидетельствовало о генетической однородности хлоропластной ДНК, несущей целевые вставки.



WT – дикий тип; 1, 2 – линии Nt-5'PVY-GUS; 3, 4 – линии Nt-5'psbA-GUS.

Рисунок 4 – Саузерн-блот гибридизация ДНК. (а) карта места интеграции гена uidA в хлоропластную ДНК дикого типа; (б) карта хлоропластной ДНК трансластомных линий; (в) результаты Саузерн-блоттинга

Изучение GUS-активности

Данные по измерению GUS-активности в листьях отобранных линий приведены в таблице 1. Результаты показали, что в линиях табака, трансформированных конструкцией pNT4/5'PVY-GUS, активность фермента β-глюкуронидазы снижена по сравнению с линиями, полученными с помощью конструкции pNT4/5'psbA-GUS, приблизительно в 24 раза.

Незначительная активность GUS-белка в растениях дикого типа объясняется примесями 4- метилумбеллиферона (гидролизованного MUG) в препарате субстрата. Причиной столь значительного понижения синтеза целевого белка не является более низкое содержание мРНК, так как линии Nt-5'PVY-GUS по уровню транскриптов гена *uidA* лишь незначительно уступали линиям Nt-5'psbA-GUS (данные не приводятся).

Полученные нами данные еще раз подтверждают тот факт, что не всегда чужеродные энхансеры, показавшие активность в *E. coli*, функциональны в пластидах. До сегодняшнего дня лишь для 5'T7G10 показана усиливающая активность в обеих системах. Несмотря на значительное сходство в силу эндосимбиотического происхождения хлоропластов от фотосинтезирующих прокариот, механизм трансляции в хлоропластах отличается от такового в бактериях [3, 27].

Таблица 1 – Уровень активности β-глюкуронидазы в трансластомных линиях

линия	активность в усл. ед.
дикий тип	44±2
Nt-5'psbA-GUS1	8417±175
Nt-5'psbA-GUS2	8757±188
Nt-5'PVY-GUS3	382±9
Nt-5'PVY-GUS4	342±9

Заключение

Проведенный нами сравнительный анализ влияния двух различных 5'НТП на уровень синтеза репортерного белка в хлоропластах показал, что замена пластидной 5'psbA перед целевым геном на чужеродную 5'PVY приводит к значительному снижению синтеза белка. Применение 5'PVY в качестве лидера может быть актуально в тех случаях, когда высокий уровень синтеза гетерологичных белков в пластидах приводит к негативным последствиям для растения-продуцента (задержке роста, изменению окраски листьев, снижению уровня фотосинтеза, мужской стерильности), которые являются причиной снижения биомассы, а значит и низкого выхода целевого белка [21, 28, 29].

Полученные в ходе настоящей работы плазмиды pKG27B и pKG27BY, содержащие сайты клонирования после промотора гена *psbA*, могут быть использованы в конструировании векторов с другими лидерными последовательностями для изучения их влияния на трансляцию в хлоропластах не только репортерных, а также белков прикладного назначения.

Работа выполнена при финансовой поддержке МОН РК в рамках научных проектов AP05132066 «Разработка технологии экспрессии рекомбинантных антигенов вируса оспы овец в трансластомных растениях» и AP05132532 «Новые молекулярно-биологические подходы к улучшению продуктивности растений».

Литература

1 Adem M., Beyene D., Feyissa T. Recent achievements obtained by chloroplast transformation // Plant methods. – 2017. – Vol. 13. – P. 30-41.

2 Jin S., Kanagaraj A., Verma D., Lange T., Daniell H. Release of hormones from conjugates: chloroplast expression of β-glucosidase results in elevated phytohormone levels associated with significant increase in biomass and protection from aphids or whiteflies conferred by sucrose esters // Plant physiol. – 2011. – Vol. 155. – P. 222–235.

3 Zoschke R., Bock R. Chloroplast translation: structural and functional organization, operational control and regulation // Plant Cell. – 2018. – Vol. 30. – P. 745–770.

4 Nickelsen J., Fleischmann M., Boudreau E., Rahire M., Rochaix J.D. Identification of cis-acting RNA leader elements required for chloroplast psbD gene expression in Chlamydomonas // Plant Cell. – 1999. – Vol. 11. – P. 957–970.

5 Kuroda H., Maliga P. Complementarity of the 16S rRNA penultimate stem with sequences downstream of the AUG destabilizes the plastid mRNAs // Nucleic Acids Res. – 2001. – Vol. 29. – P. 970–975.

6 Yukawa M., Kuroda H., Sugiura M. A new in vitro translation system for non-radioactive assay from tobacco chloroplasts: effect of pre-mRNA processing on translation in vitro // Plant J. – 2007. – Vol. 49. – P. 367–376.

7 Bock R. Plastid biotechnology: prospects for herbicide and insect resistance, metabolic engineering and molecular farming // Curr Opin Biotechnol. – 2007. – Vol. 18. – P. 100–106.

8 Herz S., Füßl M., Steiger S., Koop H.U. Development of novel types of plastid transformation vectors and evaluation of factors controlling expression // Transgenic Res.- 2005. – Vol. 14. – P. 969–982.

9 Ye G. N, Hajdukiewicz P.T., Broyles D., Rodriguez D., Xu C.W., Nehra N., Staub J.M. Plastid-expressed 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase genes provide high level glyphosate tolerance in tobacco // Plant J. – 2001. – Vol. 25. – P.261–270.

10 Leelavathi S., Reddy V.S. Chloroplast expression of His-tagged GUS-fusions: a general strategy to overproduce and purify foreign proteins using transplastomic plants as bioreactors // Mol Breed. – 2003. – Vol. 11. – P. 49–58.

11 Fernández-San Millán A., Ortigosa S. M., Hervás-Stubbs S., Corral-Martínez P., Seguí-Simarro J. M., Gaétan J., Veramendi J. Human papillomavirus L1 protein expressed in tobacco chloroplasts self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic // Plant Biotechnol J. – 2008. – Vol. 6. – P. 427–441.

12 Morgenfeld M., Lentz E., Segretin M. E., Alfano E. F., Bravo-Almonacid F. Translational Fusion and Redirection to Thylakoid Lumen as Strategies to Enhance Accumulation of Human Papillomavirus E7 Antigen in Tobacco Chloroplasts // Mol Biotechnol. – 2014. – Vol. 56. – P. 1021–1031.

13 Kuroda H., Maliga P. Overexpression of the clpP 5'-untranslated region in a chimeric context causes a mutant phenotype, suggesting competition for a clpP-specific RNA maturation factor in tobacco chloroplasts // Plant physiol. -2002. – Vol. 129. – P. 1600-1606.

14 Jin S., Daniell H. The Engineered Chloroplast Genome Just Got Smarter // Trends Plant Sci. – 2015. – Vol. 20. – P. 622–640.

15 Gerasymenko I. M., Sheludko Y. V., Klebanovych A. A., Rudas V. A., Shakhovsky A. M., Klein T. M., Kuchuk N. V. Comparison of effectiveness of 5′-regulatory sequences in transplastomic tobacco chloroplasts // Transgenic Res. -2016. – Vol. 26. – P. 65–75.

16 Oey M., Lohse M., Kreikemeyer B., Bock R. Exhaustion of the chloroplast protein synthesis capacity by massive expression of a highly stable protein antibiotic // Plant J. – 2009. – Vol. 57. – P. 436–445.

17 Ruhlman T., Ahangari R., Devine A., Samsam M., Daniell H. Expression of cholera toxin B-proinsulin fusion protein in lettuce and tobacco chloroplasts: oral administration protects against development of insulitis in non-obese diabetic mice // Plant Biotechnol J. – 2007. – Vol. 5. – P. 495–510.

18 Ruf S., Forner J., Hasse C., Kroop X., Seeger S., Schollbach L., Bock R. High-efficiency generation of fertile transplastomic Arabidopsis plants // Nat Plants. – 2019. – Vol. 5. – P. 282–289.

19 Yang H., Gray B. N., Ahner B. A., Maureen R., Hanson M.R. Bacteriophage 5’ untranslated regions for control of plastid transgene expression // Planta. -2013. – Vol. 237. – P. 517–527.

20 Gray B.N., Ahner B.A, Hanson M.R. Extensive homologous recombination between introduced and native regulatory plastid DNA elements in transplastomic plants // Transgenic Res. – 2009. – Vol. 18. – P. 559–572.

21 Nizkorodova A., Beisenov D., Iskakov B. 5’-untranslated region of potato virus Y genomic RNA provides efficient mRNA translation in bacterial cells // EMBO Conference: protein synthesis and translational control – EMBL advanced training centre, Heidelberg, 09-13 Sep. 2015. – P. 243.

22 Michoux F., Ahmad N., Hennig A., Nixon P.J., Warzecha H. Production of leafy biomass using temporary immersionbioreactors: an alternative platform to express proteinsin transplastomic plants with drastic phenotypes // Planta. – 2013. – Vol. 237. – P. 903–908.

23 Sambrook J., Russel D.W. Molecular cloning: A laboratory manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor, NY: CSHL Press; 2001.

24 Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol Plant. – 1962. – Vol. 15. – P.473–497.

25 Svab Z., Hajdukiewicz P., Maliga P. Stable transformation of plastids in higher plants // Proc Natl Acad Sci USA. – 1990. – Vol. 87. – P. 8526–8530.

26 Jefferson R.A., Kavanagh T.A., Bevan M.W. GUS fusions: beta-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants // EMBO J.–1987. -Vol. 6. – P.3901–3907.

27 Tiller N., Bock R. The Translational Apparatus of Plastids and Its Role in Plant // Development. Mol Plant. – 2014 – Vol. 7. – P. 1105–1120.

28 Hennig A., Bonfig K., Roitsch T., Warzecha H. Expression of the recombinant bacterial outer surface protein A in tobacco chloroplasts leads to thylakoid localization and loss of photosynthesis // FEBS J. – 2007. – Vol. 274. – P. 5749-5758.

29 Scotti N., Cardi T. Transgene-induced pleiotropic effects in transplastomic plants // Biotechnol Lett. – 2014. – Vol. 36. – P. 229–239.

References

1 Adem M., Beyene D., Feyissa T. (2017) Recent achievements obtained by chloroplast transformation. Plant methods, vol. 13, pp. 30-41.

2 Bock R. (2007) Plastid biotechnology: prospects for herbicide and insect resistance, metabolic engineering and molecular farming. Curr Opin Biotechnol, vol. 18, pp. 100–106.

3 Fernández-San Millán A., Ortigosa S. M., Hervás-Stubbs S., Corral-Martínez P., Seguí-Simarro J. M., Gaétan J., Veramendi J. (2008) Human papillomavirus L1 protein expressed in tobacco chloroplasts self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. Plant Biotechnol J, vol. 6, pp. 427–441.

4 Gerasymenko I. M., Sheludko Y. V., Klebanovych A. A., Rudas V. A., Shakhovsky A. M., Klein T. M., Kuchuk N. V. (2016) Comparison of effectiveness of 5′-regulatory sequences in transplastomic tobacco chloroplasts. Transgenic Res, vol. 26, pp. 65–75.

5 Gray B.N., Ahner B.A, Hanson M.R. (2009) Extensive homologous recombination between introduced and native regulatory plastid DNA elements in transplastomic plants. Transgenic Res, vol. 18, pp. 559–572.

6 Hennig A., Bonfig K., Roitsch T., Warzecha H.(2007) Expression of the recombinant bacterial outer surface protein A in tobacco chloroplasts leads to thylakoid localization and loss of photosynthesis. FEBS J, vol. 274, pp. 5749-5758.

7 Herz S., Füßl M., Steiger S., Koop H.U. (2005) Development of novel types of plastid transformation vectors and evaluation of factors controlling expression. Transgenic Res, vol. 14, pp. 969–982.

8 Jefferson R.A., Kavanagh T.A., Bevan M.W. (1987) GUS fusions: beta-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. EMBO J, vol. 6, pp.3901–3907.

9 Jin S., Daniell H. (2015) The Engineered Chloroplast Genome Just Got Smarter. Trends Plant Sci, vol. 20, pp. 622–640.

10 Jin S., Kanagaraj A., Verma D., Lange T., Daniell H. (2011) Release of hormones from conjugates: chloroplast expression of β-glucosidase results in elevated phytohormone levels associated with significant increase in biomass and protection from aphids or whiteflies conferred by sucrose esters. Plant physiol, vol. 155, pp. 222–235.

11 Kuroda H., Maliga P. (2001) Complementarity of the 16S rRNA penultimate stem with sequences downstream of the AUG destabilizes the plastid mRNAs. Nucleic Acids Res, vol. 29, pp. 970–975.

12 Kuroda H., Maliga P. (2002) Overexpression of the clpP 5'-untranslated region in a chimeric context causes a mutant phenotype, suggesting competition for a clpP-specific RNA maturation factor in tobacco chloroplasts. Plant physiol, vol. 129, pp. 1600-1606.

13 Leelavathi S., Reddy V.S. (2003) Chloroplast expression of His-tagged GUS-fusions: a general strategy to overproduce and purify foreign proteins using transplastomic plants as bioreactors. Mol Breed, vol. 11, pp. 49–58.

14 Michoux F., Ahmad N., Hennig A., Nixon P.J., Warzecha H. (2003) Production of leafy biomass using temporary immersionbioreactors: an alternative platform to express proteinsin transplastomic plants with drastic phenotypes. Planta, vol. 237, pp. 903–908.

15 Morgenfeld M., Lentz E., Segretin M. E., Alfano E. F., Bravo-Almonacid F. (2014) Translational Fusion and Redirection to Thylakoid Lumen as Strategies to Enhance Accumulation of Human Papillomavirus E7 Antigen in Tobacco Chloroplasts. Mol Biotechnol, vol. 56, pp. 1021–1031.

16 Murashige T, Skoog F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant, vol. 15, pp.473–497.

17 Nickelsen J., Fleischmann M., Boudreau E., Rahire M., Rochaix J.D. (1999) Identification of cis-acting RNA leader elements required for chloroplast psbD gene expression in Chlamydomonas. Plant Cell, vol. 11, pp. 957–970.

18 Nizkorodova A., Beisenov D., Iskakov B. (2015) 5’-untranslated region of potato virus Y genomic RNA provides efficient mRNA translation in bacterial cells. EMBO Conference: protein synthesis and translational control, Heidelberg, 09-13 Sep. 2015, p. 243.

19 Oey M., Lohse M., Kreikemeyer B., Bock R. (2009) Exhaustion of the chloroplast protein synthesis capacity by massive expression of a highly stable protein antibiotic. Plant J, vol. 57, pp. 436–445.

20 Ruf S., Forner J., Hasse C., Kroop X., Seeger S., Schollbach L., Bock R. (2019) High-efficiency generation of fertile transplastomic Arabidopsis plants. Nat Plants, vol. 5, pp. 282–289.

21 Ruhlman T., Ahangari R., Devine A., Samsam M., Daniell H. (2007) Expression of cholera toxin B-proinsulin fusion protein in lettuce and tobacco chloroplasts: oral administration protects against development of insulitis in non-obese diabetic mice. Plant Biotechnol J, vol. 5, pp. 495–510.

22 Sambrook, J. and Russell, D.W. (2001) Molecular cloning a laboratory manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

23 Scotti N., Cardi T. (2014) Transgene-induced pleiotropic effects in transplastomic plants. Biotechnol Lett, vol. 36, pp. 229–239.

24 Svab Z., Hajdukiewicz P., Maliga P. (1990) Stable transformation of plastids in higher plants. Proc Natl Acad Sci USA, vol. 87, pp. 8526–8530.

25 Tiller N., Bock R. (2014) The Translational Apparatus of Plastids and Its Role in Plant Development. Mol Plant, vol. 7, pp. 1105–1120.

26 Yang H., Gray B. N., Ahner B. A., Maureen R., Hanson M.R. (2013) Bacteriophage 5’ untranslated regions for control of plastid transgene expression. Planta, vol. 237, pp. 517–527.

27 Ye G. N, Hajdukiewicz P.T., Broyles D., Rodriguez D., Xu C.W., Nehra N., Staub J.M. (2001) Plastid-expressed 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase genes provide high level glyphosate tolerance in tobacco. Plant J, vol. 25, pp.261–270.

28 Yukawa M., Kuroda H., Sugiura M. (2007) A new in vitro translation system for non-radioactive assay from tobacco chloroplasts: effect of pre-mRNA processing on translation in vitro. Plant J, vol. 49, pp. 367–376.

29 Zoschke R., Bock R. (2018) Chloroplast translation: structural and functional organization, operational control and regulation. Plant Cell, vol. 30, pp. 745–770.

7-бөлім
ЗООЛОГИЯ

Section 7
ZOOLOGY

Раздел 7
ЗООЛОГИЯ

МРНТИ 68.37.31; 68.37.29 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b13

Валиева Б.Г.

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник,
Главный ботанический сад,
Институт ботаники и фитоинтродукции МОН,
Казахстан, г. Алматы, e-mail: valiyeva_b@bk.ru

ИНВАЗИВНЫЕ ВИДЫ ВРЕДИТЕЛЕЙ И БОЛЕЗНЕЙ НА ЮГО-ВОСТОКЕ КАЗАХСТАНА

Пополнение состава инвазивных видов вредителей и болезней происходит за счет заноса вредных видов с посадочным материалом, семенами. Впервые на территории ГБС были выявлены такие опасные вредители как туевая ложнощитовка, чехликовая моль, 25 видов тлей, завезенных интродуцентами, ранее не отмечавшихся в Алма-Атинской области. Из болезней растений известны мучнистая роса роз, мучнистая роса флоксов, ржавчина роз, мучнистая роса березы, серая гниль пионов. По оценке фитосанитарного состояния растений-интродуцентов последних лет наблюдается увеличение количества проникающих новых видов опасных насекомых и болезней. Таким образом, в закрытом грунте количество вредителей пополнилось до 13 видов: 3 вида щитовок, 3 вида червецы,1 вид тли, 1 вид ложнощитовки. В открытом грунте количество новых видов составляет 9. Из болезней с посадочным материалом был завезен 1 вид мучнисторосяного гриба (Uncinula flexuosa Peck.), который ранее не отмечался в условиях юго-востока Казахстана. Оценка степени вредоносности проводилась по 3-балльной шкале. В целях снижения степени вредоносности вредителей и болезней используются такие препараты как актелик, кельтан, очищенный, 18 к.э. (дикофол). Ром и Хаас, США, омайт, 30% с.п.; 57% к.э. Юнироял, США. Препараты применяют 0,2 % конц. против клещей, мучнистого червеца, щитовки, тли.

Ключевые слова: инвазивные вредители и болезни растений, меры борьбы.

Valiyeva B.G.

Candidate of biological sciences, leader researcher,
Main Botanical Garden, Institute of Botany and Phytointroduction MON,
Kazakhstan, Almaty, e-mail: valiyeva_b@bk.ru

Invasive pest species and plant diseases in the south-east of Kazakhstan

The replenishment of the composition of invasive pest and diseases occurs due to the introduction of harmful species with planting material and seeds. For the first time in the territory of the MBG such dangerous pests as Parthenolekanium fletscheriCkll., Coleophora laricella Hb. were identified including 25 species of aphids imported by introduced species that have not previously been reported in the Alma-Ata region. Podosphaera pannosa (Wallr.Fr.) de Bary, Golovinomyces magnicellulataU.Braun, Phragmidium disciflorum (Tode) J.James, Erysiphe ornate var.eurapae (U.Braun), Botrytis paeoniae Oudem are announced to be common plant diseases. According to the assessment of the phytosanitary condition of introduced plants in recent years, an increase in the number of penetrating new species of endangering insects and diseases is observed. Thus, the number of pests in greenhouses has increased to 13 species from Coccoidea and Aphidinea. In open ground, the significative of new species is counted to be 9. One type of the diseases (Uncinulaflexuosa Peck.), was imported with planting material, which had not previously been noted in the conditions of the south-east Kazakhstan. In order to reduce the harmfulness of pests and diseases, such preparations as aktelik, keltan, purified 18 c.e. dicofol, Rum and Haas (USA), omayt, 30% w.p., 57 % c.e. eniroyal, USA have been consumed. These preparation are used with 0.2% conc. against ticks, mealybug, Diaspididae and aphids.The assessment of the harmfulness degree was carried out on a three-point scale.

Key words: invasive pests and plant diseases, control measures.

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Валиева Б.Г.
биология ғылымдарының кандидаты, бас ғылыми қызметкері,
негізгі ботаникалық бақ, БҒМ Ботаника және фитоинтродукция институты,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: valiyeva_ b@bk.ru

Оңтүстік Шығыс Қазақстандағы инвазивті зиянкестер және оларда кездесетін аурулар

Зиянкестер мен аурулардың инвазивті түрлерінің құрамын зиянды түрлерді отырғызу материалдарымен, тұқыммен толықтыру. ГБС аумағында тұңғыш рет (1974 ж.) Алматы облысында бұрын байқалмаған енгізілген түрлерімен енгізілген 25 aphid түрлері (1985 ж.), туялық жалған күзетші, hook moth сияқты қауіпті зиянкестер анықталды. Өсімдік ауруларының зеңі, флокстардың ұнтақты зеңі, сұр пионның шіруі анықталды. Соңғы жылдары (2013-2019 жж.) енгізілген өсімдіктердің фитосанитариялық жағдайық бағалауға сәйкес, қауіпті жәндіктермен аурулардың жаңа түрлерінің саны артуда. Осылайша, қорғалатын аумақтағы зиянкестердің саны 13 түрге дейін өсті: қалқанның 3 түрі, aphid 1 түрі, жалған күзетші 1 түрі. Ашық грунтта жаңа түрлер саны 9-ға жетті. Отырғызу материалы бар аурулардың алдын алу үшін Қазақстанның оңтүстік шығысындағы жағдайында бұрын байқалмаған ұнтақталған саңырауқұлақ (Uncinula flexuosa Pesk) 1 түрі енгізілді. Зияндылық дәрежесін бағалау 3 балдық шкалада жүзеге асырылады. Зиянкестер мен аурулардың зияндылығын төмендету үшін: актелик, кельтан, тазартылған 18 к.э. (дикофол) Ром және Хаас, АҚШ, омайт 30% с.п.; 57% к.э. Юнироял, АҚШ сияқты препараттар қолданылады. Препараттарды 0,2 % концентратты кенеге, mealy bug, қалқанға, aphidаға қарсы пайдаланады.

Түйін сөздер: инвазивті зиянкестер мен өсімдіктердің ауруларын қорғау шаралары.

Введение

По результатам последних лет оценки состояния растений отмечается увеличение количества проникающих новых видов опасных насекомых [1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 19]. По данным этих авторов наблюдается проникновение новых чужеродных организмов. Известны такие инвазивные виды из семейства Lepidoptera: белоакациевая моль-пестрянка (*Parectopa robiniella* Clemens), минирующая моль листьев конского каштана, или охридский минер (*Cameraria ohridella* Descko et Dimic), липовая минирующая моль (*Phyllonorycter issikii* Kumata), тополевая нижнесторонняя моль-пестрянка (*Phyllonorycter populifoliella* Tr.). Не исключено, что эти виды также не «залетят» на территории Казахстана, тогда как, минирующая моль листьев конского каштана обыкновенного (*Cameraria ohridella* Descko et Dimic), дубовый минирующий пилильщик дуба черешчатого, д. красного (*Profenusa pygmaea* Klug), уже являются опасными вредителями на юго-востоке Казахстана. С 1976 по 1982 годы на интродуцированных растениях Главного ботанического сада было выявлено 61 вид опасных вредителей и клещей. В течение многих лет наблюдений опасными вредителями являются барбарисовая тля (*Berberidaphis lidiae* Marz.), зеленая розанная тля (*Macrosiphum rosae* L.), верхушечная жимолостная тля (*Hyadaphis tatarica* Aiz.), елово-лиственничный зеленый хермес (*Sacchiphantes viridis* Ratz.). Независимо от степени изученности вредителей и болезней в течение всего периода исследования, наблюдается пополнение вредителей и болезней новыми видами. В закрытом грунте постоянными видами (с 1976 года) являются оранжерейная белокрылка (*Trialeyrodea vaporariorum* Westw.), мягкая ложнощитовка (*Coccus hesperidum* L.), олеандровая щитовка (*Aspidiotus nerii* Bouche.), приморский мучнистый червец (*Pseudococcus maritimus* Ehrh.), паутинный клещ (*Tetranychus urticae* Koch.). Из представителей животного мира завезен испанский слизень (Arion rufus L.).

Материалы и методы исследования

Материалом исследования служили коллекции тропических и субтропических растений экспозиционной оранжереи, горшечные культуры, содержащиеся в теплице Главного ботанического сада. В задачу исследования входило выявление наиболее распространенных вредителей и болезней и оценка повреждаемости растений-интродуцентов к ним. Определение повреждений проводилось визуально, уточнение патогенного гриба – в лабораторных условиях методом световой микроскопии – МСХ100, бинокулярной лупой – МБС-9. Оценка степени повреждаемости к вредителям и степени поражаемости к болезням проводились по 3 группам: 1- слабопоражаемые (поражений нет или пятнами покрыты

лишь единичные листья), 2- среднепоражаемые (поражено до 25% листьев), 3 – сильнопоражаемые (поражено более 25% листьев). Видовую идентификацию вредителей и болезней проводили по определителям и монографическим работам [4, 11, 12, 13, 14, 25].

Результаты исследования и их обсуждение

К настоящему времени количество опасных вредителей закрытого грунта, пополнилось еще 8 вредителями. В целом насчитывается 13 видов опасных вредителей закрытого грунта (рисунок 1.). К ним относятся такие вредители как:

Бромелиевая щитовка (*Diaspis bromeliae* Kern.). Вредитель впервые был отмечен на куссонии колосистой в 2010 году. Щитовка повреждает листья, стебли и междоузлии. Рядом находящиеся растения (агава американская, а. сизалевая, дазилирион) также были повреждены бромелевой щитовкой. Поврежденность составляла 2 балла. Механическая чистка растений, мытье раствором мыла, а также дополнительная обработка ядохимикатом привела к частичному или полному исчезновению данного вредителя. В настоящее время отмечен на *Abutilon hybridum*.

Виноградный мучнистый червец (*Planococcus citri* Risso.). Повреждает надземную часть растения: стебель, листья и чаще на черешках, 2-3.5мм. При сильном повреждении растение усыхает. Отмечен на четырех семействах: Apocinaceae (олеандр), *Euphorbiaceae* (молочай), *Grassulaceae* (каланхое), *Labiatae* (колеус). Поврежденность составляла 2 -3 балла.

Пальмовая щитовка (*Diaspis boisduvalii* Sign.), Щитовка повреждает листья, черешки, нераспустившиеся листья. Чаще на нижней стороне листа, покрывают полностью листовую пластинку, черешки. Поврежденные листья буреют, засыхают. Щиток самки белый или серовато-белый, плоский, круглый, полупрозрачный со светло-коричневыми личиночными шкурками, 2 мм в диаметре. Полифаг. Вредитель способен наносить серьезные повреждения многим растениям: (аспарагус, олеандр, орхидные, пальма, фикус). Широко распространенный оранжерейный вид. Поврежденность составляет 3-4 балла.

Папоротниковая щитовка (*Pinnaspis aspidistrae* Sygn.). Обычна на листьях. Щиток самки коричневый, удлиненный, грушевидной формы, 2-2,5 мм длины. Полифаг. Образует плотные колонии. Вредитель повреждает *Dracaeneae* (драцен), *Liliaceae* (аспидистра), Polypodiophyta (папаротники). Вредитель занесен с посадочным материалом. Поврежденность составляет – 2 балла.

Персиковая тля (*Myzodes persicae* Sulz.). Вредит молодым побегам, листьям, цветкам. Листья желтеют, цветы опадают, бутоны не распускаются. Тли мелкие насекомые, бледно-зеленого цвета, длиной 1.4-2.5мм. Повреждение – 4 балла.

Цитрусовый мучнистый червец (*Pseudococcus gahani* Green.), 2-4 мм длиной. Повреждает растения семейства *Araceae* (монстера, диффенбахия), *Araliaceae* (фатсия), *Cactaceae* (кактус), *Lauraceae* (лавр), *Onagracae* (фуксия), *Palmae* (пальмы), *Rutaceae* (цитрусовые). Поврежденность составляет 3-4 балла.

Цитрусовая восковая ложнощитовка (*Ceroplestes sinensis* Guer.). Повреждения были обнаружены на 3 семействах: Lauraceae (лавр), *Myrtaceae* (мирт), *Rutaceae* (цитрусовые). Поврежденность – 1 балл.

Щетинистый мучнистый червец (*Pseudococcus gahani* Green.). Взрослая самка и личинки повреждают листья и стебли. Взрослая самка удлиненноовальная, по краю тела расположено 17 пар тонких белых восковых нитей, из которых, задняя пара самая длинная и часто превосходит длину тела самки. Длина тела самки без восковых нитей до 3,5 мм. Самки живородящи; выделяют очень тонкие белые восковые нити, образующие ватообразную сеточку, где держатся личинки до начала питания. Вред от мучнистого червеца отмечен на следующих видах растений закрытого грунта: *Acanthaceae* (афеландра, санхеция, якобиния), *Agavaceae* (агава), *Amaryllidaceae* (кливия), *Apocynaceae* (олеандр), *Araceae* (антуриум, монстера, филодендрон, спатифиллум), *Araliaceae* (куссония), *Araucariaceae* (араукария), *Asclepiadaceae* (хойя), *Begoniaceae* (бегония), *Bromelliaceae* (бромелевые), *Cactaceae* (цереус), *Caprifoliaceae* (калина длиннолистная), *Cornaceae* (аукуба), *Dracaennea* (драцена), *Euphorbiaceae* (кодиеум), *Gesneraceae* (ахименес), *Grassulaceae* (каланхое), *Liliaceae* (аспарагус), *Malvaceae* (абутилон, гибискус), *Marantaceae* (маранта, калантея), *Moraceae* (инжир, фикус), *Musaceae* (банан), *Myrtaceae* (мирт, фейхуа), *Nictaginaceae* (бугенвиллия), *Orchidae* (циперус), *Palmae* (пальмы), *Passifloraceae* (пассифлора), *Piperaceae* (пеперония), *Pnicaceae* (гранат), *Polipodiophyta* (папоротник), *Rubiaceae* (гардения), *Rutaceae* (лимон, мандарин), *Urticaceae* (бемерия), *Vitaceae* (циссус). Поврежденность 2-3 балла.

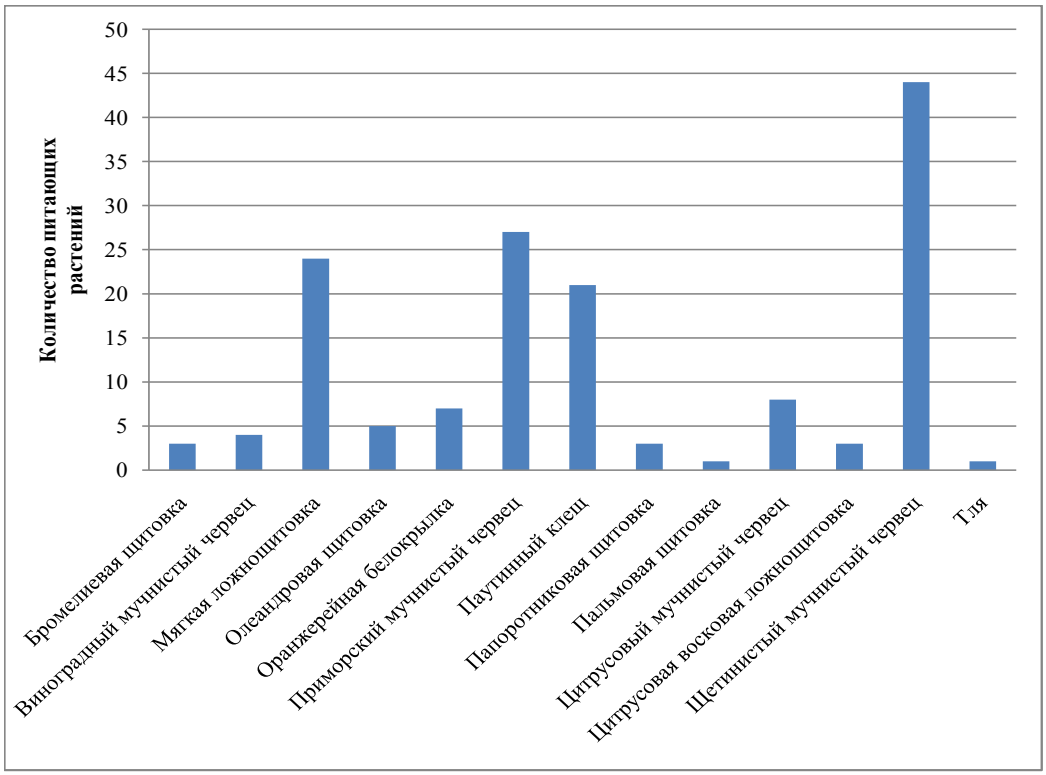


Рисунок 1 – Основные вредители тропических и субтропических растений закрытого грунта в течение 2010-2019 гг.

В открытом грунте, с 2010 по 2019 годы, видовой состав пополнился такими видами вредителей как: дубовая ложнощитовка (*Parthenolecanium rutulum* CkU.), еловая шишковая огневка (*Dioryctria abietella* Schiff), жуки-семяеды гледичии трехколючковой и бундук двудомный (*Megabruchidius dorsalis* Fahreus), аморфы кустарниковой (*Acanthoscelides pallidipennis* Motschulsky), минирующая моль или охридский минер (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimic), можжевельниковая щитовка (*Insulaspis juniper* Lindgr.), кленовый почковый клещ (*Aceria vermicularis* Nal.).

Дубовая ложнощитовка (*Parthenolecanium rutulum* CkU). В течение пяти лет (с 2011 года) на дубе черешчатом (*Quercus robur* L.) и д. красном (*Q. rubra* L.) наблюдается развитие дубовой ложнощитовки. Ранее этот вид не отмечался на территории ГБС.

Дубовый минирующий пилильщик (*Profenusa pygmaea* Klug.). В последние годы вредитель широко распространился на территории бывшего СССР, также отмечен в Киргизии с 2009 года [15]. Впервые на юго-востоке Казахстана насекомое-вредитель выявлен на дубе черешчатом (*Quercus robur* L.) и дубе красном *Quercus rubra* L.) на территории ботанического сада (г.Алматы) весной 2016 года. По характеру повреждения листьев не отличается от минирующей моли каштана. Личинки очень похожи по внешнему строению. Развивающаяся личинка находится внутри мины, поедает паренхиму, в результате, которого образуется полость. При резком повышении температуры личинки погибают. Вредоносность насекомого очень высокая: 70-80% листьев на одном дереве практически полностью буреют и усыхают. Меры борьбы не разработаны.

Еловая шишковая огневка (*Dioryctria abietella* Schiff.) повреждает основание чешуек и семена. Вредитель обнаружен на шишках ели обыкновенной змеевидной (*Picea abies* Karst. virgate Fries). На поверхности шишек появляются экскременты в виде отдельных скоплений. Поврежденные шишки усыхают и опадают или остаются висеть на растении. Вредитель отмечен в 2012-2013 годы на территории ГБС.

Жук-семяед (*Acanthoscelides pallidipennis* Motschulsky), повреждает семена аморфы кустарниковой (*Amorpha fruticosa* L.). Впервые был обнаружен в семенах сбора 2016 года. Жук-семяед – (*Megabruchidius dorsalis* Fahreus), най-

ден в семенах бундука канадского (*Gymnocladus dioicus* (L.) C.Koch, гледичии обыкновенной (*Gleditschia triacanthos* L.). Вредитель выявлен в хранившихся семенах 2009 года. В дополнительных сборах бобов в 2015 году данный вредитель также был обнаружен. Ранее вредитель на территории ГБС и городских посадках не отмечался.

Каштановая минирующая моль или охридский минер (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimic). В сентябре 2015года в ГБС и городских посадках г. Алматы на листьях конского каштана обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) была обнаружена минирующая моль или охридский минер. Вредитель описан в 1986 году в районе Охридского озера (Македония) [16, 17, 21]. В настоящее время минирующая моль отмечена на территории 35 европейских странах. В России вредитель встречается в 10 областях (материал из Википедии). На листьях образуются мины, в которых развивается личинка моли. Они находятся в начальной стадии развития, 2 мм, светло-зеленые, с расширенной головкой, сужающиеся к хвостовой части. По мере развития внутри листа, развивающиеся личинки поедают мягкую ткань (паренхиму), оставляя много экскрементов. Имаго вылетают позже на 1.5 месяца позже и скапливаются у стволовой части дерева, спариваются и откладывают яйца в расщелине дерева. Для активного развития благоприятными условиями являются относительно высокая влажность (60-80%) воздуха и относительно низкая температура (18^0 С). Такие благоприятные условия наблюдались весной 2015- 2017 гг. Повреждаемость кроны деревьев может достигать 70-90%. Распространённость до 70-80%. Вредитель в настоящее время распространен практически везде, где произрастают эти растения. Они отмечены в Киргизии, относится к опасному карантинному объекту. Возможно, насекомое мог «залететь» с ближнего государства Киргизии. Пока неясно. В 2015 году в результате реконструкции некоторых улиц и озеленения сквер и площадей г. Алматы, одним из декоративных растений стал конский каштан обыкновенный. Возникает предположение, что вредитель завезен с посадочным материалом. По нашим наблюдениям насекомое нуждается в высокой относительной влажности воздуха и относительно низкой температуры. Этому способствовали ранее не отмечавшиеся сильные дожди в апреле-июне 2016 года в г.Алматы. Повышение температуры воздуха вызывает усыхание поврежденных листьев и гибель личинок. Обработка инсектицидом не снижает степень вредоносности вредителя. Меры борьбы не разработаны.

Орехотворка листьев дуба (*Cynips quercusfolii* – Syn: *Diplolepis quercusfolii* L.). Орехотворки дубовой (яблоковидной) – вызывают один из самых крупных наростов на листьях, на черешках. При разрезе орешка можно было обнаружить разные стадии развития насекомого – от стадии яйца до личинок. Галлы мясистые, шарообразные, однокамерные, до 10-20 мм в диаметре, гладкие или с маленькими бугорками, желтовато-зеленые с красным окрасом; отпадают или падают вместе с листьями. Был обнаружен на дубах в августе-октябре, завезенные для озеленения дома отдыха.

Сосновый рыжий пилильщик (*Neodiprion sertifer* Geoffr.) Впервые в весенне-летний период 2019 года (май- начало июня) наблюдали сильное развитие вредителя, за всю историю существования ботанического сада. Сильное развитие (4 балла) наблюдали на сосне горной и с. обыкновенной. Ложногусеницы грязно-зелёного цвета с узкой светлой полоской вдоль спины и черной блестящей головой. Повреждают хвою молодых побегов. Остатки хвоинок желтеют и сворачиваются, придавая поврежденным деревьям заметную издали курчавость. Подросшие личинки съедают хвою целиком, оставляя пенёчки. Иногда обгладывают и кору. Держатся гнездами. Уничтожив хвою, переползают на другие ветви сообща. Ложногусеницы поедают хвою дважды: в мае и в июне. Зимует куколка.

Мучнисторосяной гриб (*Uncinula flexuosa* Peck.). В октябре 2015 года на листьях каштана конского обыкновенного были обнаружены серые пятна мучнисто-росяного гриба. Пятна хорошо заметны на верхней стороне листа, округлые, вытянутые, сливающиеся. Плодовые тела многочисленные, в основном расположены на нижней стороне листа (Сбор 26.10.2015). Клейстотеции округлые, буро-коричневые, поздно созревают (Сбор 5.11.2015), 120-150 мкм, длина придатков 120-164 мкм, узорчатые, в отличие от других известных видов рода *Uncinula*, сумки 30-80 мкм, яйцевидной формы, количество сумок 6-7, ножка 10-60 мкм, споры овально-округлые, сероватым оттенком, 10-30 мкм. Широко распространенный гриб, где произрастает каштан [18, 19, 20, 22, 23, 24]. В Казахстане мучнисторосяной гриб каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) выявлен впервые на юго-востоке (Алматы), где в основном растение встречается в озеленении. Гриб *Uncinula flexuous*

– является новым специализированным видом, впервые обнаруженный в условиях юго-востока Казахстана.

По данным выше названных авторов [2, 3, 4, 6, 7, 8, 9] из стран СНГ и дальнего зарубежья обстановка по проникновению и выявлению новых опасных вредителей растений-интродуцентов остается не радужной. В перспективе могут быть занесены такие опасные насекомые как самшитовая огневка, белоакациевый пальчатый минер, белоакациевая листовая галлица и др.

Испанский слизень (*Arion rufus* L.). В результате создания японского сада, в 2013 году, растениями – интродуцентами был завезен испанский слизень, родиной которого является Южная Европа. Этот вид считается самым опасным и представляет реальную угрозу садам и огородам в Европе. Вредитель размножается яйцами, оставляя до 4-х кладок, в каждой из которых может быть до 60 яиц. Через 2-3 недели из яиц развиваются маленькие слизнячки, которые в таком виде уходят зимовать (рисунок 2).

Отложенные яйца испанского слизня

Вылупившиеся слизняки

Взрослая особь испанского слизняка – Arion rufus

Рисунок 2 – Испанский слизень, завезенный на территорию ботанического сада в 2013 году

Заключение

Таким образом, результаты многолетних (2010-2019 гг.) обследований тропических и субтропических растений, количественный анализ вредителей, выявленных на растениях закрытого грунта, представлены на рисунке 1. По количественному соотношению щетинистый мучнистый червец, приморский мучнистый червец, паутинный клещ и мягкая ложнощитоака являются наиболее распространенными видами в закрытом грунте. Круг повреждаемых растений обширен и они были выявленны соответственно на 44 и 27 видах питающих растений. Мягкая ложнощитовка является полифагом и он был выявлен на 20 семействах и 24 видах растений. Паутинный клещ выявлен на 21 семействе и на 22 видах растений. Оранжерейная белокрылка является также одним из вредоносных вредителей закрытого грунта. Она повреждает многие виды горшечных культур, произрастающие в закрытом грунте. Была выявлена на 9 семействах. Бромелиевая щитовка и другие виды были обнаружены на 3-9 семействах.

Все выявленные вредители относятся к вредоносным и опасным видам растений закрытого грунта. В оранжерее и теплице развитие кокцид, паутинного клеща, оранжерейной белокрылки, тли наблюдается ежегодно. В период обследования выявлены и дополнены еще 8 видов вредителей, повреждающие 40 родов и видов, состоящих из тропических, субтропических и горшечных растений. Определены относительно устойчивые (18 видов) и сильно повреждаемые виды растений (20 видов). За этот период с посадочным материалом были занесены такие вредители как бромелиевая щитовка, цитрусовая восковая щитовка, черная выпуклая щитовка. Своевременное выявление этих вредителей дали возможность снизить их численность, распространение на другие растения и практически уничтожить некоторые виды (черная выпуклая щитовка). Нужно отметить, что одни и те же виды растений одного семейства могут повреждаться несколькими видами вредителей.

Обязательным условием сохранения жизнеспособности и высокой декоративности, конских каштанов, дубов и других крупномерных деревьев, является тщательная уборка листвы во время листопада не менее 3-4 раз. Это позволяет существенно уменьшить численность куколок перед зимовкой. Правильная борьба с пилильщиком в саду позволяет уничтожать всех вредителей из этой группы, но для этого должна также применяться и правильная агротехника, одним из которых является ежегодная глубокая перекопка приствольных кругов.

Для снижения численности испанского слизня были использованы различные способы борьбы с ними: горячая вода (t-40^{0}C), которой наполняли пластиковые бутылки, и затем собранный слизень опускали в неё. Эффект положительный. Использовали поваренную соль, которую подсыпали в места их скопления. Рекомендованные специальные препараты «Мета», «Гроза» также оказывают смертельное действие на слизни. Но борьба затруднена тем, что взрослая особь откладывает большое количество яиц и периодически появляются новые слизни.

Меры борьбы. Меры борьбы включают следующие мероприятия: агротехнические мероприятия, обеспечивающие нормальное развитие растений, удаление и сжигание осенью поражённых листьев, побегов, на которых перезимовывает вредитель; использование химических средств борьбы для снижения их численности, степени вредоносности и распространения на другие близкостоящие растения [23]. Все ниже перечисленные препараты разрешены для использования против вредителей растений:

1. Актелик (мучнистый червец, клещи, щитовка, тля, паутинный клещ).

2. Кельтан, очищенный, 18 к.э. (дикофол). Ром и Хаас, США. Опрыскивание в период вегетации. (Клещи, паутинный клещ, почковый смородинный клещ, белокрылка).

3. Омайт, 30% с.п.; 57% к.э. Юнироял, США. Опрыскивание в период вегетации. (Клещи, паутинный клещ).

4. Необходимым условием для эффективного действия препаратов является их чередование и использование их в комплексе с другими препаратами. Такие смеси сокращают кратность обработок, и повышается эффективность действия препаратов. Особое внимание должно быть уделено борьбе с сосущими вредителями (тлями и паутинными клещами), которые высасывая соки, сильно ослабляют растения.

5. Почти все химические средства борьбы с вредителями и болезнями растений ядовиты для людей и теплокровных животных. Работы, связанные с использованием химических средств, должны проводиться под непосредственным

руководством агрономов и других специалистов, хорошо знающих правила обращения с ядохимикатами и отвечающих за соблюдение необходимых мер, предотвращающих несчастные случаи.

Сокращения и обозначения

ГБС – Главный ботанический сад; к.э. – концентрат эмульсии; с.п. – смачивающийся порошок; конц.- концентрация

Литература

1 Бондаренко–Борисова И.В. Наиболее распространенные болезни декоративных растений в Донецкой области и методы их контроля//Промышленная ботаника. – 2009.-вып.9.- С. 204-212.

2 Лепешкина Л.А., Клевцова М.А. Влияние охридского минёра (Cameraria ohridella Deschka et Dimic) на жизненное состояние конского каштана обыкновенного (Aesculus hippocastanum L.) в насаждениях города Воронежа. Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике. //Материалы Всероссийской конф. с международным участием, Москва, 2016, 18-22 апреля – Красноярск, 2016. – С. 121-122.

3 Glavendekic M.M. Allien insects and their natural enemies in urban ecosystems of Serbia//Monitoring and biological control methods of woody plant pests and pathogens: from theory to practice: proceedings of International Conference. Moscow, 2016, 18-22, April. -Krasnoyarsk, 2016. – P.65-66.

4 Тимофеева В.А., Дишук Н.Г. и др. Болезни и вредители декоративных растений в насаждениях Беларуси. // Минск: Беларуская навука, – 2014. – 185с.

5 Козаржевская Э.Ф., Каштанова О.А. Инвазии чужеземных видов насекомых при интродукции древесных растений// Проблемы современной дендрологии. ен-корреспондента АН СССР П.И. Лапина (30 июня 2009 г. Москва): Товарищество научных изданий КМК. 2009. – С. 763 – 767.

6 Машковская С.П., Шумик Н.И., Ильенко А.А. Мониторинг повреждений деревьев и семян каштана конского обыкновенного (Aesculus hippocastanum L.) патогенными организмами в условиях г. Киева// Проблемы современной дендрологии. Материалы международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения член-корреспондента АН СССР П.И. Лапина (30 июня 2009 г. Москва): Товарищество научных изданий КМК. 2009. – С. 773-776.

7 Ширяева Н.В. Экологические особенности кокцид (Coccinea) – главнейших вредителей интродуцентов Сочинского «Дендрария» //Проблемы современной дендрологии. Материалы международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения член-корреспондента АН СССР П.И. Лапина (30 июня 2009 г. Москва): Товарищество научных изданий КМК. 2009. – С. 763 – 767.

8 Мартынов В.В., Никулина Т.В. Новые инвазивные насекомые-фитофаги в лесах и искусственных лесонасаждениях Донбасса// Кавказский энтомологический бюллетень. – 2016. – Том 12 (вып. 1). – С. 41-51.

9 Ткаченко О.Б., Келдыш М.А. Основные направления фитосанитарной оптимизации экосистем растений-интродуцентов в ГБС РАН//Бюллетень Главного ботанического сада. – 2015. – № 2 (201). – С. 49- 57.

10 Синадский Ю.В., Корнеева И.Т., Доброчинская И.Б. и др. Вредители и болезни цветочно-декоративных растений// М.: Наука. – 1985. – 592 с.

11 Синадский Ю.В., Козаржевская Э.Ф., Мухина Л.Н. и др. Болезни и вредители растений-интродуцентов.// М.: Наука. – 1990. – 272 с.

12 Braun U, 7& Takamatsu, S. Phylogeny of Erysiphe, Microsphaera, Uncinula (Erysiphaceae) and Cystotheca, Podosphaera, Sphaerotheca (Cystotheceae) interfered from rDNA ITS sequences – some taxonomic consequences. Schlechtendalia, Halle, Februar.- 2000. – № 4. – P. 1-33.

13 Chinery Michael Collins complete guide to British Insects/ Harper Collins Publishers Ltd, London, 2005. ¬384 p.

14 Токторалиев Б.А., Сагитов А.О., Темиркул кызы К. Биоэкологические особенности дубового минирующего пилильщика (Profenusa pygmaea, Klug, 1814) в условиях г. Бишкек и Чуйской области Кыргызстана// Матер. Международной научной конференции: Инновационные экологически безопасные технологии защиты растений (24-25 сентября 2015 г.). – Алматы, 2015. – С.235-245.

15 Deschka, G and Dimic, N. Cameraria ohridella sp.n. (Lep., Lithocolletidae) aus Mazedonie// Acta ent. Jugosl. – Jugoslawien, 1986. – T.22. – P. 11–23.

16 Мартынов В.В., Никулина Т.В. Инвазивные дендрофильные насекомые в насаждениях Донецка// Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике. Матер. Всероссийской конф. с междунар. участием. Москва, 18-22 апреля 2016 г. Красноярск: ИЛ СО РАН, 2016. – С. 133-134.

17 Gelyuta V.P. Uncinula flexuosa Peck новий для Украіни вид інвазійного борошнисторосяного гриба (Erysiphales). // Укр.ботан.журн. – 2004. – №5 (61).С. 17-25.

18 Бондаренко-Борисова И.В., Булгаков Т.С. Современные сведения о мучнисторосяных грибах, поражающих древесные растения в условиях северного Приазовья (Донецкая и Ростовская области) // Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике. Матер. Всероссийской конф. с междунар. участием. Москва, 18-22 апреля 2016 г. Красноярск: ИЛ СО РАН, 2016. – С. 37-38.

19 Булгаков Т.С. Грибные паразиты конского каштана (Aesculus hippocastanum L.) в Ростовской области/ Т.С. Булгаков// Материалы I (IX) Междунар.конф. молодых ботаников в Санкт- Петербурге, 21-26 мая 2006 г. – СПб. 2006. – С. 288.

20 Kehrli, P. and Bacher, S. Date of leaf litter removal to prevent emergence of Cameraria ohridella in the following spring// Entomologia experimentalis et applicata. – The Netherlands Entomological Society, 2003. – Vol. 107. – P.159 –162.

21 Kiss L. Occurence of Erysiphe flexuosa (syn. Uncinula flexuosa) on horse chestnut (Aesculus hyppocastanum) in Hungary/L. Kiss, L. Vajna, G. Fischl// Plant Pathology. – 2004. – 53, № 2. –P. 243–245.

22 Milevoj L. The occurence of some pests and diseases on horse chestnut, plane tree and Indian bean tree in urban areas of Slovenia / L. Milevoy // Acta agriculturae Slovenica. – 2004. – 83, № 2 (November). – P.297–300.

23 Валиева Б.Г., Нашенова Г.З., Танабаева С.А., Жумагалиева А.Ж. Практические рекомендации по борьбе с вредителями и болезнями в Ботанических садах Казахстана//Алматы: ТОО «Luxt Media Publishing», 2017. – 32 с.

24 Броун И.В. Вредители и болезни древесных насаждений дендропарка «Александрия» НАН Украины// Проблемы современной дендрологии. Материалы международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения член-корреспондента АН СССР П.И. Лапина (30 июня 2009 г. Москва): Товарищество научных изданий КМК. 2009. – С. 740 – 743.

25 Томошевич М.А. Атлас патогенных микромицетов древесных растений Сибири//Новосибирск:Академическое изд-во «Гео», 2012.- 250 с.

References

1 Bondarenko-Borisova I.V. (2009) Naibolee rasprostranennye bolesni dekorativnyh rasteny v Donezkoy oblasti I metody ich kontrolya Promyshlennaya botanika, № 9, pp. 204 – 212.

2 Bondarenko-Borisova I.V.,Bulgakov T.S. (2016) Sovremennye svedeniya o muchnistorosyanyh gribah, porazhaiushih drevesnye rasteniya v usloviyah severnogo Priazov'ya (Donetskaya i Rostovskaya oblasti). Monitoring i biologicheskie metody kontrolya vreditelei i patogenov drevecnyh rastenii: ot teorii k praktike: Mater.Vserossiiskoi konf. s mezhdunar. Uchastiem. Moskva, 18-22 aprelya 2016 g. Krasnoyarsk: IL SO RAN, pp. 37–38.

3 Braun U, 7& Takamatsu, S. (2000) Phylogeny of Erysiphe, Microsphaera, Uncinula (Erysiphaceae) and Cystotheca, Podosphaera, Sphaerotheca (Cystotheceae) interfered from rDNA ITS sequences – some taxonomic consequences. Schlechtendalia, Halle, Februar, № 4, pp. 1-33.

4 Broun I.V. (2009) Vrediteli i bolesni drevesnyh nasazhdenii dendroparka «Aleksandriya» NAN Ukrainy . Problemy sovremennoi dendrologii: Mater. Mezhdunar. nauchn. Konf., posvyashennoi 100– letiju so dnya rozhdeniya chlen – korr. AN SSSR P.I. Lapina (30 ijunya 2009 g.Moskva):Tovarishestvo nauchnyh isdanii KMK, pp. 740–743.

5 Bulgakov T.S. Gribnye parazity konskogo kashtana (Aesculus hippocastanum L.) v Rostovskoy oblasti. Materialy I (IX) Mezhdunarodnoy konf. Molodych botanikov v Sankt-Peterburge, 21-26 maya, 2006, SPt, p.288.

6 Chinery Michael (2005) Collins complete guide to British Insects/ Harper Collins Publishers Ltd, London, 384 p.

7 Deschka, G and Dimic, N. (1986) Cameraria ohridella sp.n. (Lep. Lithocolletidae) aus Mazedonie Acta ent. Jugosl. – Jugoslawien, vol.22, pp. 11–23.

8 Gelyuta V.P. Uncinula flexuosa Peck novii dlya Ukrainy vid invaziinogo boroshnistorosyanogo griba (Erysiphales). Укр. ботан.журн., 2004, №5 (61), pp. 17-25.

9 Glavendekic M.M. (2016) Allien insects and their natural enemies in urban ecosystems of Serbia. Monitoring and biological control methods of woody plant pests and pathogens: from theory to practice: proceedings of International Conference. Moscow, 2016, 18-22, April. -Krasnoyarsk, pp. 65-66.

10 Kozarzhevskaya E.F., Kashtanova O.A. (2009) Invazii chuzhezemn8h vidov nasekomyh pri introdukzii drevesnyh rastenii: Problemy sovremennoi dendrologii: Mater. Mezhdunar. nauchn. Konf., posvyashennoi 100– letiju so dnya rozhdeniya chlen – korr. AN SSSR P.I. Lapina (30 ijunya 2009 g.Moskva): Tovarishestvo nauchnyh isdanii KMK, pp. 763–767.

11 Kehrli, P. and Bacher, S. (2003) Date of leaf litter removal to prevent emergence of Cameraria ohridella in the following spring. Entomologia experimentalis et applicata. The Netherlands Entomological Society, Vol. 107, pp. 159 –162.

12 Kiss L. (2004) Occurence of Erysiphe flexuosa (syn. Uncinula flexuosa) on horse chestnut (Aesculus hyppocastanum) in Hungary. Plant Pathology, vol. 53, № 2. –P. 243–245.

13 Lepeshkina L.A., Klevtsova M.A. (2016) Vliyanie ochridskogo minera (Cameraria ohridella Deschka et Dimic) na zhiznennoe sostoyanie konskogo kashtana obyknovennogo (Aesculus hippocastanum L.) v nasazhdeniyah goroda Voronezha. Monitoring i biologicheskie metody kontrolya vreditelei i patogenov drevesnyh rastenii: ot teorii k praktike: Materialy Vserossiiskoi konf. s mezhdunar. Uchastiem, Moskva, 2016, 18-22 aprelya, Krasnoyarsk, pp. 121-122.

14 Martynov V.V., Nikulina T.V. (2016) Invasivnye dendrofil'nye nasekomye v nasazhdeniyah Donetska. Materialy Vserossiiskoi konf. s mezhdunar. Uchastiem, Moskva, 2016, 18-22 aprelya, Krasnoyarsk, pp.133-134.

15 Martynov V.V., Nikulina T.V. (2016) Novye invasivnye nasekomye – fitophagi v leash i iskustvennyh lesonasazhdeniyah Donbassa. Kavkazskii entomologicheskii bjulleten', vol. 12, № 1, pp.41–51.

16 Milevoj L. (2004) The occurence of some pests and diseases on horse chestnut, plane tree and Indian bean tree in urban areas of Slovenia. Acta agriculturae Slovenica, Vol. 83, № 2 (November), pp. 297–300.

17 Mashkovskaya S.P., Shumik N.I., Il'enko A.A. Monitoring povrezhdenii derev'ev i semyan kashtana rjnskogo obyknovennogo (Aesculus hippocastanum L.) patogennymi organismam v usloviyah g. Kieva. Problemy sovremennoi dendrologii: Mater.

Mezhdunar. nauchn. Konf., posvyashennoi 100– letiju so dnya rozhdeniya chlen – korr. AN SSSR P.I. Lapina (30-ijunya 2009 g.Moskva): Tovarishestvo nauchnyh isdanii KMK, pp.773–776.

18 Sinadsky Y.V., Korneeva I.T., Dobrochinskaya I.B. i dr. (1985) Vrediteli i bolesni zvetochno-dekorativnyh rastenii. M.: Nauka, 592p.

19 Sinadsky Y.V., Kozarzhevskaya E.F., Mukhina L.N. i dr. (1990) Bolesni i vrediteli rasteni introduzentov.M.: Nauka, 272p.

20 Shiryaeva N.V. Ecologicheskie osobennosti kokzid (Coccinea) – glavneishih vrediteley introduzentov Sochinskogo «Dendrariya». Problemy sovremennoy dendrologii: Mater. Mezhdunar. nauchn. Konf., posvyashennoi 100– letiju so dnya rozhdeniya chlen – korr. AN SSSR P.I. Lapina (30-ijunya 2009 g.Moskva): Tovarishestvo nauchnyh isdanii KMK, pp.763-767.

21 Timofeeva V.A., Dichuk N.G. i dr. Bolesni i vrediteli dekorativnyh rastenii v nasazhdeniyah Belarusi. Minsk: Belarusskaya nauka, 185p.

22 Tkachenko O.B., Keldysh M.A. (2015) Osnovnye napravleniya fitosanitarnoy optimizazii ekosistem rastenii-introduzentov v GBS RAN. Byulleten Glavnogo Botanicheskogo sada,vol. 2, № 201, p. 49–57.

23 Toktoraliev B.A., Sagitov A.O., Temircul kyzy K. (2015) Bioecologicheskie osobennosti dubovogo miniruyushego pilil'shika (Profenusa pygmaea, Klug, 1814) v usloviyach g. Bishkeka i Chuiskoi oblasti Kyrgyzstana. Mater. Mezhdunarodnoi nauchnoi ronf.: Innovazionnye ecologicheski bezopasnye technologii zachity rastenii (24-25 sentyabrya 2015 g.), pp. 235-245.

24 Tomashevich M.A. (2012) Atlas patogennyh micromyzetov drevesnyh rastenii Sibiri. Novosibirsk: Akademicheskoe izd-vo «Geo», 250p.

25 Valieva B.G., Nashenova G.Z., Tanabaeva S.A., Zhumagalieva A.Zh. (2017) Prakticheskie rekomendazii po bor'be s vreditelyami i boleznyami v botanicheskich sadah Kazahstana. Almaty: TOO «Luxe Media Publishing», 32p.

МРНТИ 34.33.23 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b14

Тарасовская Н.Е., Жумадилов Б.З.*

Павлодарский государственный педагогический университет,
Казахстан, г. Павлодар, *e-mail: zhumadilov_bulat@mail.ru

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕМАТОД *OSWALDOCRUZIA FILIFORMIS* ОТ ОСТРОМОРДОЙ ЛЯГУШКИ В СЕВЕРНЫХ РЕГИОНАХ КАЗАХСТАНА КАК ИНДИКАТОР СОСТОЯНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА

Нематода Oswaldocruzia filiformis, паразитирующая у широкого круга наземных холоднокровных позвоночных, развивается с облигатными личиночными стадиями во внешней среде, нуждающимися в травянистой растительности, в этой связи может стать индикатором состояния околоводных биотопов и растительного покрова.

В бесснежный период 2005-2017 гг. в припойменных биотопах Павлодарской области было отловлено и подвергнуто гельминтологическому вскрытию 2084 экз. остромордой лягушки. Материал за 1984-1987 гг. включал 593 экз. остромордой лягушки.

Годовая динамика абсолютных размеров нематоды O.filiformis с 2005 по 2017 гг. показала почти двукратную разницу линейных размеров. Минимальные размеры в припойменных биотопах р. Иртыш зафиксированы летом 2005 г. (средняя длина самца – 5,7493±0,1477, ширина – 0,1456±0,0042: размеры самок – 8,3506±0,2556 и 0,1851±0,0045 мм, соответственно). Самки достигали максимальных размеров в 2015 г. (14,4915±0,1431 длины и 0,21024±0,00192 мм ширины). Максимальная средняя длина самцов – 7,77096±0,0975 мм – наблюдалась в 2017 г., максимальные значения ширины самца отмечены в 2015-2016 гг. (0,1719 и 0,1715 мм). Наибольшие размеры самки освальдокруции от остромордой лягушки отмечались в 2006 г. (20,6 мм длины и 0,3 мм ширины), при небольших средних размерах нематод. Наибольшая длина самца (12,35 мм) наблюдалась в 2013 г., максимальная ширина (0,25 мм) – в 2012 г.

В популяции крупных взрослых лягушек в 2004-2005 гг. на озере Биржанколь (Казахский Мелкосопочник) самки освальдокруций достигали до 21 мм длины и 0,35 мм ширины, самцы – до 13,0 и 0,25 мм, соответственно. В низине возле дач «Яблонька» наблюдалась тугорослость молодых лягушек и сравнительно малая длина и значительная ширина O.filiformis (средняя длина самца – 6.25625±0.4257, ширина – 0.1781±0.0074; средняя длина самки – 8,83±0,2791, ширина – 0,27±0,0255 мм), что обусловлено органическим загрязнением, приводившим к угнетению как хозяев, так и гельминтов. Среди факторов формирования линейных размеров гельминтов можно назвать размеры хозяев, межвидовой и внутривидовой антагонизм гельминтов.

Ключевые слова: остромордая лягушка, нематода Oswaldocruzia filiformis, размеры тела, пойма, режим реки.

Tarasovskaya N.E., Zhumadilov B.Z.

Pavlodar State Pedagogical University,
Kazakhstan, Pavlodar, *e-mail: zhumadilov_bulat@mail.ru

Morphological peculiarities of nematodes *Oswaldocruzia filiformis* quantity in moor frog in Northern regions of Kazakhstan as the indicator of herbal cover

Nematode Oswaldocruzia filiformis occurring in wide circle of cold-blooded tetrapods develops with obligate larval stages in environment, needing grass plants, and in this connection this parasite may be the indicator of near-water areas and plant cover.

During snowless period of 2005-2017 years in flood-plain landscapes of Irtysh river in Pavlodar region 2084 exemplars of moor frog were caught and subjected to helminthological autopsy. Material from 1984-1987 years included 593 exemplars of moor frog.

Long-year dynamics of absolute sizes of nematodes O.filiformis from 2005 till 2017 years showed almost two-fold diversity of linear sizes. Minimal sizes in flood-plain landscapes of Irtysh river was fixed in summer 2005 (middle male length was 5,7493±0,1477 mm, width 0,1456±0,0042mm; sizes of females was 8,3506±0,2556 and 0,1851±0,0045 mm correspondently). Nematode females reached

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

to maximal sizes in 2015 (14,4915 ± 0,1431 mm of length and 0,21024 ± 0,00192 mm of width). Maximal middle males' length 7,77096 ± 0,0975 mm was observed in 2017, maximal means of males' body width were recorded in 2015-2016 years(0,1719 и 0,1715 mm). Highest females' sizes of O.filiformis from moor frog was registered in 2006 (20,6 mm of length and 0,3 mm of width), with small middle nematodes sizes. Maximal male's length (12,35 mm) was observed in 2013, maximal width (0,25 mm) – in 2012.

In the population of large adult moor frogs from Birzhankol' lake in 2004-2005 years (Kazakh Melkosopochnik) O.filiformis females reached till 21 mm of length and 0,35 mm of width, males – till 13,0 and 0,25 mm correspondently. In the low ground near «Yablon'ka» garden the slow growth of young frogs and comparatively small length and large width of O.filiformis (medium male's length was 6,25625 ± 0,4257, width 0,1781 ± 0,0074 mm; medium female's length 8,83 ± 0,2791, width – 0,27 ± 0,0255 mm) were observed, which were caused by organic pollution leading to the depression as hosts as helminthes. Among the factors limiting the linear sizes of helminthes we can call hosts' sizes, interspecific and intraspecific competition between helminthes.

Key words: moor frog, nematode Oswaldocruzia filiformis, seasonal dynamics of infection indicators, flood plain, regime of river.

Тарасовская Н.Е., Жұмаділов Б.З.*

Павлодар мемлекеттік педагогикалық университеті,
Қазақстан, Павлодар қ., *e-mail: zhumadilov_bulat@mail.ru

Қазақстанның солтүстік аймақтарындағы өсімдік жабындысының көрсеткіші ретінде сүйіртұмсық бақа *Oswaldocruzia filiformis* нематодасының морфологиялық ерекшеліктері

Oswaldocruzia filiformis нематоды, суық қанды омыртқалылардың кең спектрінде паразиттенеді, шөптесін өсімдіктерді қажет ететін сыртқы ортада міндетті түрде личинкалық сатылармен дамиды, осыған байланысты ол жақын су биотоптары мен өсімдік жамылғысы күйлерінің көрсеткіші бола алады.

2005-2017 жылдардағы қарсыз кезеңде Павлодар облысының жайылмалы биотоптарында 2084 дана сүйіртұмсық бақалар ұсталып, гельминтологиялық ашылды. 1984-1987 жылдарға арналған материал сүйіртұмсықты бақалардың 593 данасынан тұрды.

2005 жылдан бастап 2017 жылға дейін O. filiformis нематодасының абсолюттік мөлшерінің жылдық динамикасы сызықтық өлшемдердің екі есе айырмашылығын көрсетті. 2005 жылдың жазында тіркелген Ертіс өзенінің биотоптарында ең аз мөлшері бекітілген (аталықтарының орташа ұзындығы 5.7493 ± 0.1477, ені 0.1456 ± 0.0042: аналықтары сәйкесінше 8.3506 ± 0.2556 және 0.1851 ± 0.0045 мм). 2015 жылы аналықтары ең үлкен мөлшеріне жетті (ұзындығы 14,4915 ± 0,1431 және ені 0,21024 ± 0,00192 мм). Аталықтардың орташа ұзындығы 7,77096 ± 0,0975 мм 2017 жылы, аталықтар енінің максималды мәні (0,1719 және 0,1715 мм) 2015-2016 жж. байқалды. Сүйіртұмсықты бақалардан алынған освалдокруций аналықтарының ең үлкен мөлшері 2006 жылы тіркелді (ұзындығы 20,6 мм және ені 0,3 мм). Ең ұзын аталықтарының ұзындығы (12,35 мм) 2013 жылы, ал максималды ені (0,25 мм) 2012 жылы байқалды.

2004-2005 жж. ірі ересек бақалар популяциясында Біржанкөл көлінде (Қазақтың Ұсақ Шоқысы) аналықтарының ұзындығы 21 мм-ге дейін және ені 0,35 мм-ге дейін, аталықтары сәйкесінше 13,0 және 0,25 мм-ге дейін жетті. "Яблонька" саяжайының маңында O.filiformis жас бақалардың бұдырлығы және салыстырмалы кіші ұзындығы мен едәуір ені (еркегінің орташа ұзындығы 6.25625 ± 0.4257, ені 0.1781 ± 0.0074; ұрғашысының орташа ұзындығы 8,83 ± 0,2791, ені 0,27 ± 0,0255 мм) байқалды, бұл иелердің де, гельминттердің де тежелуіне алып келген органикалық ластанумен байланысты. Гельминттердің сызықтық өлшемдерінің қалыптасу факторларының арасында гельминттердің тураралық және түрішілік бәсекелестік өлшемдерін атауға болады.

Түйін сөздер: сүйіртұмсықты бақа, Oswaldocruzia filiformis нематодасы, дене мөлшері, өзеннің жайылуы, өзен режимі.

Введение

Oswaldocruzia filiformis (Goeze, 1782) Travassos, 1917 (Nematoda: Trichostrongylidae) широко распространена у наземных холоднокровных позвоночных в Палеарктике и является полигостальным гельминтом: в республиках бывшего СССР в числе ее хозяев К.М. Рыжиков, В.П. Шарпило, Н.Н. Шевченко [1] называют 12 видов амфибий, а В.П. Шарпило [2] – 13 видов рептилий. Полигостальные виды паразитов, как правило, отличаются морфологической измен-

чивостью, сложной внутривидовой и внутрипопуляционной структурой. Поэтому морфология и экологические особенности *O.filiformis* требует основательного изучения у разных видов хозяев в различных регионах, и предпочтительно, если есть возможность получить данные по размерам и численности гельминтов в многолетней динамике. Бесхвостые амфибии и их гельминты являются удобными модельными видами для изучения влияния биотических и абиотических факторов, связанных с сезоном, а также индикаторами благоприятных или неблагоприятных изменений в природных и антропогенных биотопах.

Находки *O.filiformis* на территории бывших советских республик и в Средней и Восточной Европе зафиксированы в Чехии у 14 видов амфибий (Prokopič, Křivanec [3]), травяной лягушки и 3 видов рептилий (Moraveč, Vojtkova [4]), В.Н. Курановой [5] у остромордой лягушки в пойме Средней Оби, В.А. Однокурцевым и В.Т. Седалищевым [6] в Якутии у сибирской, остромордой и дальневосточной лягушек, В.И. Борисовой [7] у прудовой и остромордой лягушек, М.А. Кудиновой с соавт. [8] у травяной лягушки, К.Ф. Носовой с соавт. [9] у прудовой лягушки, Т.М.Будаловой с соавт. [10] у озерной и прудовой лягушек в Горьковской (ныне Нижегородской) области, М.В. Резванцевой [11, 12, 13] у озерной лягушки в окрестностях Тамбова, W.Hendrix [14] у обыкновенной жабы в Нидерландах, C.Griffin [15] у травяной лягушки в Ирландии.

Экологические особенности *O.filiformis* ранее исследовались в Западной Европе и России (Марков, Рогоза [16, 17]; Будалова и др. [10]; Кудинова и др. [8]; Носова [9]; Moraveč, Vojtkova [4]; Hendrix, van Moppes [18], Hendrix [14]). В Северной Америке были изучены биологические особенности другого вида – *O.pipiens* от лягушек *Rana sylvatica* (Baker [19]).

Работ по морфологии половозрелых гельминтов были единицы. F. Moraveč и L. Vojtkova [4] в Чехии изучили морфологию *O.filiformis* от разных видов хозяев на количественном и качественном уровне и провели ревизию европейских видов рода *Oswaldocruzia*. К.М. Рыжиков с соавт. в своей монографии по гельминтам амфибий [1] приводят данные по размерам освальдокруций от травяной лягушки с Украины.

В Казахстане Т.Н. Соболева [20] в середине 70-х гг. констатировала наличие *O.filiformis* у озерной и травяной лягушек в западных и южных районах республики. В Павлодарской области В.Г. Ваккер [21] обнаружил этот вид у прыткой ящерицы, В.Г. Ваккер и Н.Е. Тарасовская [22, 23], Н.Е. Тарасовская [24] – у остромордой лягушки в пойменных ландшафтах, степных озерах, различных биотопах Казахского Мелкосопочника и водоемах антропогенного происхождения в окрестностях г. Павлодара.

В середине 80-х гг. изучение морфологии *O.filiformis* в Среднем Прииртышье проводилось В.Г. Ваккером [21] на основе материала от прыткой ящерицы и В.Г. Ваккером и Н.Е. Тарасовской [25] – в отношении нематод от остромордой лягушки. Исследования многолетней динамики размеров этой нематоды ранее не осуществлялось.

Мы располагали данными по гельминтам остромордой лягушки из припойменных биотопов р. Иртыш в Павлодарской области за 13 лет, с 2005 по 2017 гг., с ежемесячными отловами амфибий (по 100-200 экз. за бесснежный период) и измерением сотен экземпляров нематод.

Материал и методика

В бесснежный период 2005-2012 гг. в нескольких биотопах Павлодарской области было отловлено 1241 экз. остромордой лягушки, в том числе в 2005 г. – 170, 2006 г. – 250, 2007 г. – 200, 2008 г. – 152, 2009 г. – 201, 2010 г. – 116, 2011 г. – 142 экз., в 2012 г. – 136 экз., 2013 г. – 86, 2014 г. – 92, 2015 г. – 224, 2016 г. – 152, 2017 г. – 163 экз. Базовым биотопом, в которой проводились ежемесячные исследования, была пойма р. Усолка – небольшого правобережного притока р. Иртыш, протекающего в пределах ее поймы. В отдельные годы эпизодические отловы лягушек проводились в водоемах не пойменного происхождения в Павлодарской области и сопредельных регионов.

Кроме того, мы сопоставляли данные по размерам *O.filiformis* за последние 13 лет с данными за 80-е годы, ранее полученные автором и опубликованные (депонированные) (Ваккер, Тарасовская [25], Тарасовская [26]).

Материал за 1984-1987 гг. был собран в пойме р. Усолка (припойменный биотоп р. Иртыш), в таком же припойменном ландшафте, и включал результаты полных гельминтологических вскрытий остромордой лягушки общей численностью 593 экз. Сборы проводились в течение

бесснежного периода ежемесячно, с интервалом в 20-30 дней; всего за каждый летний сезон было сделано 4-6 выборок.

Добытых амфибий подвергали полному гельминтологическому вскрытию по общепринятым методикам [27]. При установлении видового статуса гельминтов мы придерживались систематики и определительных ключей, изложенных в монографии К.М. Рыжикова с соавт. [1], К.И. Скрябина с соавт. [28].

Половозрелые экземпляры нематод для морфологического анализа измеряли с помощью окуляр-микрометра с известной ценой деления на микроскопе МБС-10 (Лыткаринский завод оптического стекла, Московская область, РФ (ныне ОАО «ЛЗОС»), 1980 г., серия 090096). Измерялась общая длина, максимальная ширина, длина пищевода, у самок – длина хвоста и расстояние от заднего конца до вульвы, у самцов – длина спикулы. Количественные данные обрабатывали статистическими методами [29].

Данные по растительному покрову поймы р. Иртыш были отчасти получены путем собственных полевых наблюдений, а также взяты в материалах региональной статистической отчетности и ранее опубликованных эколого-географических исследованиях региона [30, 31, 32, 33, 34].

Результаты и их обсуждение

Морфометрический анализ нематоды Oswaldocruzia filiformis.

У короткоживущих гельминтов с быстрой сменой поколений (у *O.filiformis* мы ранее отмечали 2 генерации в год (Ваккер, Тарасовская [25]) с течением времени может происходить изменение генофонда популяций, что неизбежно отразится на количественных морфологических показателях. Мы располагали материалом от остромордой лягушки из Среднего Прииртышья за 13 лет, на основании которого можно проследить многолетнюю динамику размеров самцов и самок *O.filiformis* и хотя бы предположительно выявить определяющие ее факторы.

Ранее проведенный морфометрический анализ освальдокруций на основе собственных и литературных данных показал, что размеры *O.filiformis* от разных видов хозяев сильно варьируют. Выделить какой-либо определенный фактор, однозначно влияющий на размеры гельминтов, не удается. Возможно, определенную роль играют размеры амфибий и их образ жизни, биотоп, географическое положение и т.д. По данным В.Г. Ваккера и Н.Е. Тарасовской [25] за 1984-1988 гг., *O.filiformis* от остромордой лягушки имеют сравнительно мелкие размеры тела (таблица 1, 2). При этом длина спикулы освальдокруций от остромордой лягушки часто превышала размеры спикул от нематод из других видов хозяев и других регионов. Размеры самцов *O.filiformis* от остромордой лягушки, по данным В.Г. Ваккера и Н.Е. Тарасовской [25] за 80-е годы, наиболее сходны с размерами нематод от *Rana temporaria* и *Nartix natrix* (таблица 1). Размеры самок были близки к размерам освальдокруций от *Lacerta agilis* и *L.vivipara* (Moraveč, Vojtkova [4]) (таблица 2).

При сопоставлении размеров освальдокруций от остромордой лягушки и прыткой ящерицы из тех же биотопов Среднего Прииртышья (по ранее полученным данным В.Г. Ваккера [21]), можно заметить, что длина самок *O.filiformis* от прыткой ящерицы (7,7-14,5 мм) несколько меньше, чем от остромордой лягушки. Обращает на себя внимание также большой размах вариации длины пищевода у *O.filiformis* от остромордой лягушки из Среднего Прииртышья.

По данным авторов за 2005 г. (таблицы 3-4), существенных различий длины и ширины самок освальдокруций из разных биотопов в окрестностях города не отмечалось; в низине возле дач «Яблонька» самцы были несколько крупнее, чем в других точках сбора. В окрестностях озера Биржанколь, где были отловлены преимущественно крупные лягушки старших возрастов, длина и ширина самок *O.filiformis* существенно и статистически достоверно отличались от промеров самок освальдокруций во всех точках окрестностей города. Более того, в мелких лягушках освальдокруции, и особенно самки, становились половозрелыми при гораздо более мелких размерах, нежели в Мелкосопочнике: при длине тела 4-7 мм многие нематоды в окрестностях Павлодара уже активно продуцировали яйца, тогда как в окрестностях озера Биржанколь самки *O.filiformis* 8-11 мм длины были еще довольно молодыми, без зрелых яиц (большое количество зрелых яиц мы обычно находили в самках 13-20 мм длиной).

Таблица 1 – Размеры самцов *Oswaldocruzia filiformis* от разных хозяев

Морфометрические признаки	Размеры нематод (мм)				
	По Моравеку и Войтковой, 1975				В.Г. Ваккер, Н.Е. Тарасовская, 1988
	Rana temporaria	*Lacerta agilis*	*Lacerta vivipara*	*Natrix natrix*	*Rana arvalis*
Длина тела	5,47-11,78	8,30-8,75	7,32-8,64	7,68-11,29	6,00-10,36
Средняя длина тела	8,9	8,5	8,1	9,8	--
Ширина тела	0,109-0,231	0,136-0,163	0,109-0,177	0,177-0,218	0,14-0,26
Общая длина везикулы	0,060-0,117	0,090-0,096	0,066-0,084	0,060-0,111	0,040-0,112
Длина передней части везикулы	0,033-0,039	0,033-0,039	0,030-0,036	0,018-0,039	0,036-0,048
Ширина везикулы	--	--	--	--	0,040-0,060
Расстояние от переднего конца тела до:					
нервного кольца	0,216-0,285	0,258-0,276	0,233-0,255	0,272-0,286	--
экскреторной поры	0,285-0,480	0,354	0,285-0,339	0,314-0,449	--
цервикальных папилл	0,357-0,516	0,367-0,408	0,315-0,360	0,435-0,490	--
Длина пищевода	0,420-0,598	0,422-0,449	0,435-0,490	0,422-0,558	0,22-0,52
Ширина цервикальных крыльев	0,009-0,015	0,009-0,012	0,015-0,021	0,003-0,018	--
Длина спикулы	0,201-0,240	0,225-0,228	0,168-0,228	0,210-0,231	0,184-0,232

Таблица 2 – Размеры самок *Oswaldocruzia filiformis* от разных хозяев

Морфометрические признаки	Размеры нематод (мм)			
	По Моравеку и Войтковой, 1975			Ваккер, Н.Е. Тарасовская, 1988
	Rana temporaria	*Lacerta agilis*	*Lacerta vivipara*	*Rana arvalis*
Длина тела	9,75-24,20	8,95-15,76	10,61-15,64	8,38-15,92
Средняя длина тела	17,9	13,5	13,7	--
Ширина тела	0,177-0,408	0,122-0,258	0,136-0,245	0,16-0,36
Общая длина везикулы	0,090-0,105	0,084-0,117	0,075-0,090	0,040-0,116
Длина передней части везикулы	0,033-0,045	0,036-0,045	0,030-0,039	0,032-0,060
Ширина везикулы	--	--	--	0,048-0,064
Расстояние от переднего конца тела до:				
нервного кольца	0,270-0,345	0,219-0,286	0,243-0,309	--
экскреторной поры	0,369-0,480	0,313-0,435	0,354-0,367	--
цервикальных папилл	0,490-0,558	0,340-0,462	0,354-0,394	--
Длина пищевода	0,516-0,612	0,435-0,517	0,462-0,544	0,32-0,54
Ширина цервикальных крыльев	0.012-0.018	0.006-0.012	0.018-0.021	--
Длина хвоста	0,267-0,367	0,258-0,299	0,225	0,14-0,32
Расстояние от вульвы до терминуса	3,47-8,50	3,40-5,85	4,28-6,19	3,36-6,52
Размеры яиц	0,096-0,117* *0,057-0,060	0,087-0,108* *0,054-0,060	0,090-0,096* *0,051-0,057	0,068-0,100* *0,036-0,056

Длина пищевода у самцов и самок в окрестностях озера Биржанколь и окрестностях города Павлодара существенно не различались; самки освальдокруций в Мелкосопочнике имели несколько большую абсолютную длину хвоста. Длина спикулы у самцов нематод в разных точках существенно не отличалась, хотя несколько более крупные спикулы имели место в окрестностях озера Биржанколь (но они там были достаточно тонкие) и в пойме р. Иртыш.

Таблица 3 – Размеры самок нематоды *Oswaldocruzia filiformis* в различных биотопах Павлодарской области в 2005 г.

Популяция лягушек, время сбора	Морфологические параметры нематоды	Минимальное значение	Максимальное значение	Среднее значение	Дисперсия
Усолка, начало июля 2005 г.	Длина тела	4,25	13,9	8,4646±0,3392	4,717575
	Максимальная ширина	0,1	0,275	0,1944±0,0061	0,0015394
	Длина пищевода	0,224	0,91	0,4819±0,0202	0,0168027
	Длина хвоста	0,07	0,275	0,1931±0,00745	0,0022771
	Расстояние от вульвы до заднего конца	1,15	8,45	3,0956±0,2136	1,8712855
	Длина яиц	0,014	0,112	0,0599±0,0040	0,000615
	Ширина яиц	0,014	0,056	0,0322±0,0021	0,0001656
Усолка, конец июля 2005 г.	Длина тела	4,7	11,6	8,42±1,33955	8,972
	Максимальная ширина	0,125	0,2	0,1552±0,0145	0,0010477
	Длина пищевода	0,392	0,6	0,4568±0,0412	0,0084992
	Длина хвоста	0,07	0,3	0,199±0,0411	0,0084425
	Расстояние от вульвы до заднего конца	1,904	4,6	3,3208±0,4559	1,0391635
	Длина яиц	0,07	0,098	0,084±0,0057	0,0001306
	Ширина яиц	0,035	0,042	0,04025±0,0017	0,0000122
Усолка, август 2005 г.	Длина тела	4,2	13,5	8,1985±0,4092	5,5250781
	Максимальная ширина	0,125	0,275	0,1781±0,0068	0,001529
	Длина пищевода	0,1	0,65	0,3964±0,0219	0,0157668
	Длина хвоста	0,098	0,58	0,1809±0,0141	0,006579
	Расстояние от вульвы до заднего конца	1,2	5,0	2,9564±0,1878	1,1287409
	Длина яиц	0,021	0,084	0,05725±0,0044	0,0005421
	Ширина яиц	0,014	0,056	0,0335±0,00205	0,0001183
Усолка в целом	Длина тела	4,2	13,9	8,3506±0,2556	5,1627884
	Максимальная ширина	0,1	0,275	0,1851±0,0045	0,0015945
	Длина пищевода	0,1	0,91	0,4446±0,0148	0,0172464
	Длина хвоста	0,07	0,58	0,1884±0,0074	0,0043424
	Расстояние от вульвы до заднего конца	1,15	8,45	3,0529±0,1382	1,4900081
	Длина яиц	0,014	0,112	0,0602±0,0029	0,000584
	Ширина яиц	0,014	0,056	0,03319±0,0014	0,000139

Продолжение таблицы 3

Популяция лягушек, время сбора	Морфологические параметры нематоды	Минимальное значение	Максимальное значение	Среднее значение	Дисперсия
Пойма Иртыша	Длина тела	5,1	11,3	8,7537±0,0552	0,0578166
	Максимальная ширина	0,1	0,252	0,1943±0,0054	0,000551
	Длина пищевода	0,35	0,7	0,4956±0,0221	0,009247
	Длина хвоста	0,098	0,43	0,1912±0,0178	0,0060386
	Расстояние от вульвы до заднего конца	1,806	4,35	3,09505±0,1871	0,6649877
	Длина яиц	0,028	0,112	0,061±0,00702	0,000937
	Ширина яиц	0,021	0,05	0,03305±0,0026	0,0001291
Низина возле дач «Яблонька»	Длина тела	8,3	9,75	8,83±0,2791	0,3895
	Максимальная ширина	0,2	0,35	0,27±0.0255	0,00325
	Длина пищевода	0,35	0,85	0,65±0,0962	0,04625
	Длина хвоста	0,25	0,45	0,31±0,0367	0,00675
	Расстояние от вульвы до заднего конца	2,25	5,5	4,07±0,6202	1,92325
	Длина яиц	0,036	0,084	0,0564±0,0094	0,0004448
	Ширина яиц	0,014	0,021	0,0182±0,0017	0,0000147
Окрестности озера Биржанколь	Длина тела	4,25	21,0	10,8386±0,2434	5,2154482
	Максимальная ширина	0,15	0,35	0,2254±0,0042	0,001552
	Длина пищевода	0,265	0,98	0,4746±0,0090	0,0071191
	Длина хвоста	0,11	0,39	0,2109±0,0055	0,0026854
	Расстояние от вульвы до заднего конца	0,9	6,8	4,1912±0,1343	1,5881344
	Длина яиц	0,021	0,126	0,0715±0,0024	0,000433
	Ширина яиц	0,014	0,070	0,0466±0,0056	0,0022973

Таблица 4 – Размеры самцов нематоды *Oswaldocruzia filiformis* в различных биотопах Павлодарской области в 2005 г.

Популяция лягушек, время сбора	Морфологические параметры нематоды	Минимальное значение	Максимальное значение	Среднее значение	Дисперсия
Усолка, начало июля 2005 г.	Длина тела	3,5	9,1	5,9286±0,1867	1,46417
	Максимальная ширина	0,084	0,27	0,1539±0,0052	0,001123
	Длина пищевода	0,21	0,588	0,3991±0,0124	0,0065178
	Длина спикулы	0,126	0,252	0,1956±0,0042	0,0007491
Усолка, конец июля 2005 г.	Длина тела	3,8	8,4	5,9±0,3821	1,606
	Максимальная ширина	0,09	0,15	0,1089±0,0057	0,0003627
	Длина пищевода	0,336	0,5	0,4087±0,0156	0,0026788
	Длина спикулы	0,168	0,224	0,2062±0,0080	0,0007091
Усолка, август 2005 г.	Длина тела	2,9	9,2	5,35±0,2915	1,954547
	Максимальная ширина	0,079	0,275	0,1481±0,0083	0,0015877
	Длина пищевода	0,252	0,47	0,3603±0,0136	0,0042435
	Длина спикулы	0,112	0,294	0,2085±0,0091	0,0018959

Продолжение таблицы 4

Популяция лягушек, время сбора	Морфологические параметры нематоды	Минимальное значение	Максимальное значение	Среднее значение	Дисперсия
Усолка в целом	Длина тела	2,9	9,2	5,7493±0,1477	1,6581
	Максимальная ширина	0,079	0,275	0,1456±0,0042	0,0013658
	Длина пищевода	0,21	0,588	0,3887±0,0085	0,0055324
	Длина спикулы	0,112	0,294	0,20104±0,0038	0,0010975
Пойма р. Иртыш	Длина тела	4,1	8,05	5,3727±0,6571	4,750182
	Максимальная ширина	0,112	0,25	0,1449±0,0190	0,0039667
	Длина пищевода	0,252	0,475	0,36845±0.0397	0,017333
	Длина спикулы	0,14	0,252	0,21±0,0105	0,001215
Низина возле дач «Яблонька»	Длина тела	4,3	7,8	6,25625±0,4257	1,4495985
	Максимальная ширина	0,15	0,2	0,1781±0,0074	0,0004352
	Длина пищевода	0,35	0,6	0,4844±0,0254	0,0051674
	Длина спикулы	0,168	0,225	0,2056±0,0095	0,0007294
Окрестности озера Биржанколь	Длина тела	4,55	13,0	6,8084±0,2153	3,848099
	Максимальная ширина	0,1	0,25	0,1699±0,0048	0,001941
	Длина пищевода	0,22	0,5	0,3888±0,0112	0,0103626
	Длина спикулы	0,112	0,266	0,2114±0,0040	0,0013101

С позиций целесообразности расходования гемипопуляциями гельминтов трофических ресурсов организма хозяина результаты морфометрического анализа показывают, что даже при достаточном ресурсе увеличение размеров самцов, видимо, нецелесообразно. Увеличение размеров самок, отмеченное у крупных лягушек на озере Биржанколь, приводит к увеличению потенциальной плодовитости. При возрастании размеров самок происходит увеличение не пищевода и хвостового конца, а средней части тела нематоды (где расположены матки с яйцами), то есть органы, ответственные за жизнеобеспечение нематоды, увеличиваются в каких-то определенных пределах, а максимум доступного вещества и энергии идет на функционирование репродуктивных структур.

Обращает на себя внимание варьирующее положение вульвы у самок освальдокруций. В литературе указано, что обычно отверстие вульвы находится на границе задней трети тела. По нашим результатам морфометрического анализа, вульва часто находилась в середине длины тела или чуть позади нее, в некоторых случаях – ближе к заднему концу, к границе средней и задней трети тела. Освальдокруция – амфидельфная нематода, у нее развиты обе матки, причем, по нашим наблюдениям, задняя по размерам и вместимости яиц не меньше, чем передняя, и нередко продукция яиц у молодых самок начиналась в задней матке. Возможно, именно этим фактором (а также генетическими особенностями) обусловлено смещение отверстия вульвы ближе к середине длины тела.

Хотелось бы отметить, что в низине возле дач «Яблонька» в условиях органического загрязнения мелких стоячих водоемов, где наблюдалось отставание в росте молодых лягушек и значительное угнетение кишечных трематод *Opisthioglyphe ranae*, освальдокруции обоего пола (особенно самки) несколько отставали от пойменных в длине, но выигрывали в ширине. Можно предположить, что компактное строение тела в неблагоприятных условиях является адаптивным, уменьшая относительную площадь поверхности.

Минимальных размеров как самцы, так и самки освальдокруций в пойменных биотопах р. Иртыш достигали летом 2005 г. Анализ динамики размеров нематод *O.filiformis* с 2006 по 2012 гг. показал, что размеры самцов и самок изменялись синхронно (таблицы 5, 6). Причем, наряду с длиной тела, пропорционально уменьшались и другие параметры (ширина, длина пищевода и хвоста, расстояние от вульвы до хвостового конца у самок).

Таблица 5 – Динамика линейных размеров самок нематод *Oswaldocruzia filiformis* в припойменных биотопах р. Иртыш в 2006-2017 г.

Объем и характер выборки	Параметр	Среднее значение	Дисперсия	Лимиты	
				минимум	максимум
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2006 г.; n = 493	Длина	9,1913±0,1036	5,2796087	4,0	20,6
	Ширина	0,1825±0,0016	0,00133344	0,1	0,3
	Длина пищевода	0,4335±0,0030	0,0045737	0,275	0,65
	Длина хвоста	0,1458±0,0015	0,001203	0,075	0,35
	Расстояние до вульвы	3,5406±0,0414	0,84410039	1,4	8,0
	Длина яйца	0,0863±0,0006	0,000237	0,042	0,140
	Ширина яйца	0,0515±0,0003	0,00090677	0,028	0,084
Окрестности г. Павлодара в целом в 2007 г., n = 301	Длина	9,8351±0,1448	6,3097053	4,6	18,0
	Ширина	0,2068±0,0019	0,00115346	0,125	0,3
	Длина пищевода	0,4679±0,0039	0,0044863	0,3	0,75
	Длина хвоста	0,1470±0,0013	0,000531	0,1	0,25
	Расстояние до вульвы	3,8751±0,0534	0,85912708	2,0	8,2
	Длина яйца	0,08507±0,00071	0,000162	0,056	0,112
	Ширина яйца	0,050±0,00045	0,00007364	0,028	0,07
Пойма реки Усолка в 2007 г., n = 232	Длина	9,6176±0,1582	5,8078422	4,6	18,0
	Ширина	0,2060±0,0021	0,00108897	0,125	0,3
	Длина пищевода	0,4745±0,0045	0,0047264	0,35	0,75
	Длина хвоста	0,1481±0,0014	0,000484	0,1	0,25
	Расстояние до вульвы	3,8101±0,0591	0,81133635	2,25	8,2
	Длина яйца	0,0849±0,00084	0,000166329	0,056	0,112
	Ширина яйца	0,05006±0,00055	0,000075456	0,028	0,07
Карьер на окраине г. Павлодара в 2007 г., n = 69	Длина	10,5667±0,3275	7,4028431	5,8	16,8
	Ширина	0,2094±0,0045	0,00138054	0,125	0,3
	Длина пищевода	0,4456±0,0067	0,0030874	0,3	0,55
	Длина хвоста	0,1431±0,0031	0,000678	0,1	0,25
	Расстояние до вульвы	4,0935±0,1186	0,97131714	2,0	6,0
	Длина яйца	0,0856±0,00145	0,000147209	0,07	0,112
	Ширина яйца	0,0498±0,00095	0,000068508	0,035	0,07
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2008 г.; n = 134	Длина	10,0608±0,1679	3,7511038	6,0	15,1
	Ширина	0,2196±0,0025	0,00082107	0,15	0,3
	Длина пищевода	0,4948±0,0044	0,0026323	0,375	0,6
	Длина хвоста	0,1474±0,0021	0,000604	0,1	0,225
	Расстояние до вульвы	3,7901±0,0602	0,48263175	2,4	5,55
	Длина яйца	0,09403±0,0014	0,000272962	0,056	0,140
	Ширина яйца	0,05035±0,0008	0,000094668	0,028	0,07
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2009 г.; n = 219	Длина	9,6245±0,1364	4,0579441	5,5	15,45
	Ширина	0,2041±0,0022	0,00089473	0,125	0,275
	Длина пищевода	0,4709±0,0037	0,0029245	0,35	0,625
	Длина хвоста	0,1455±0,0021	0,000958	0,1	0,25
	Расстояние до вульвы	3,6903±0,0548	0,65446104	1,95	6,9
	Длина яйца	0,0924±0,0008	0,000147844	0,07	0,126
	Ширина яйца	0,0459±0,00045	0,000055302	0,035	0,07

Продолжение таблицы 5

Объем и характер выборки	Параметр	Среднее значение	Дисперсия	Лимиты	
				минимум	максимум
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2010 г.; n = 118	Длина	9,7288±0,2113	5,2242054	6,2	16,9
	Ширина	0,2064±0,0025	0,00076054	0,15	0,275
	Длина пищевода	0,4866±0,0061	0,0043235	0,375	0,675
	Длина хвоста	0,1339±0,0023	0,000604	0,075	0,2
	Расстояние до вульвы	3,4907±0,08205	0,7876474	2,4	5,8
	Длина яйца	0,0985±0,0013	0,000187397	0,07	0,140
	Ширина яйца	0,0452±0,00077	0,000072574	0,028	0,07
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2011 г.; n = 192	Длина	9,99932±0,15603	4,6500063	6,2	15,5
	Ширина	0,2017±0,0022	0,00095589	0,125	0,25
	Длина пищевода	0,4965±0,0043	0,0034987	0,375	0,65
	Длина хвоста	0,13099±0,0016	0,000494	0,1	0,2
	Расстояние до вульвы	3,7172±0,0566	0,61179728	2,4	5,9
	Длина яйца	0,099±0,001	0,000200209	0,07	0,140
	Ширина яйца	0,0454±0,00045	0,000048731	0,035	0,07
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2012 г.; n = 218	Длина	11,26399±0,1727	6,4695845	6,4	17,3
	Ширина	0,2209±0,0024	0,00125504	0,126	0,325
	Длина пищевода	0,5045±0,0034	0,0025634	0,4	0,65
	Длина хвоста	0,14599±0,0014	0,000436	0,1	0,2
	Расстояние до вульвы	3,9687±0,0602	0,7860113	2,2	6,1
	Длина яйца	0,10545±0,001	0,000231474	0,07	0,140
	Ширина яйца	0,04576±0,00055	0,000068692	0,035	0,07
Пойменные биотопы (Усолка) в 2013 г., n = 109	Длина	11,8294±0,2236	5,3990838	7,9	19,7
	Ширина	0,2142±0,0030	0,00098804	0,125	0,30
	Длина пищевода	0,5087±0,0043	0,0019604	0,4	0,625
	Длина хвоста	0,1619±0,0036	0,001431	0,1	0,3
	Расстояние до вульвы	4,2642±0,0862	0,80264314	2,6	7,25
	Длина яйца	0,10994±0,00146	0,000231664	0,084	0,140
	Ширина яйца	0,04579±0,000775	0,000064909	0,035	0,070
Усолка, 2014 г., n = 119	Длина	10,6097±0,1895	4,2383168	7,3	18,2
	Ширина	0,2036±0,0028	0,00095642	0,125	0,25
	Длина пищевода	0,4588±0,0041	0,0020083	0,375	0,575
	Длина хвоста	0,1326±0,0017	0,000355	0,075	0,2
	Расстояние до вульвы	3,6529±0,06203	0,45399551	2,45	6,2
	Длина яйца	0,10365±0,00136	0,000216993	0,056	0,140
	Ширина яйца	0,04371±0,00062	0,00004565	0,035	0,056
Усолка, 2015, n = 283	Длина	14,4915±0,1431	5,7713453	8,0	18,8
	Ширина	0,21024±0,00192	0,0010337	0,15	0,275
	Длина пищевода	0,46201±0,00238	0,0015927	0,375	0,6
	Длина хвоста	0,12721±0,001005	0,000285	0,1	0,175
	Расстояние до вульвы	3,8703±0,0476	0,63835344	2,7	6,3
	Длина яйца	0,10512±0,00093	0,000243768	0,07	0,140
	Ширина яйца	0,04381±0,00042	0,000050072	0,035	0,07

Продолжение таблицы 5

Объем и характер выборки	Параметр	Среднее значение	Дисперсия	Лимиты	
				минимум	максимум
Усолка, 2016, n = 143	Длина	12,3143±0,2041	5,9149163	8,0	18,8
	Ширина	0,2147±0,0029	0,00117367	0,125	0,325
	Длина пищевода	0,48601±0,0029	0,0012203	0,4	0,6
	Длина хвоста	0,1409±0,0017	0,000401	0,1	0,2
	Расстояние до вульвы	4,1416±0,0687	0,66957697	2,65	6,3
	Длина яйца	0,10573±0,00118	0,000208915	0,07	0,140
	Ширина яйца	0,04313±0,00045	0,00041167	0,028	0,056
Усолка, 1917 г.; n = 188	Длина	11,8729±0,1503	4,2260516	8,1	18,5
	Ширина	0,2029±0,002302	0,00100075	0,15	0,3
	Длина пищевода	0,4637±0,00212	0,0008441	0,4	0,55
	Длина хвоста	0,1622±0,00141	0,000384	0,125	0,225
	Расстояние до вульвы	3,99096±0,05045	0,47598731	2,7	6,2
	Длина яйца	0,09964±0,00089	0,000158713	0,07	0,140
	Ширина яйца	0,04293±0,00032	0,000033979	0,035	0,056

Как видно из таблиц 5 и 6, минимальные размеры нематод обоего пола наблюдались в 2006 г., затем в 2007 и 2008 гг. шел прогрессивный подъем размеров, в 2009 г. отмечен некоторый спад (до уровня 2007 года). В 2010 г. произошло небольшое увеличение всех линейных размеров у самок, тогда как у самцов количественные параметры оставались на уровне 2009 года. В 2011 г. отмечался дальнейший подъем размеров у самок и значительное увеличение – у самцов. В итоге в бесснежный период 2011 г. у нематод обоего пола размеры тела достигли уровня 2008 г. (когда отмечался максимум по сравнению с 2005-2006 годами).

Возможно, одной из причин такой динамики линейных размеров освальдокруций на указанном временном промежутке стала динамика возрастного состава лягушек. Со второй половины лета 2007 и по 2009 гг. отмечалась массовая инвазия пойменных популяций остромордой лягушки легочной трематодой *Haplometra cylindracea* – крупным, достаточно патогенным гельминтом-гематофагом. Гаплометра поражала в основном сеголеток и годовиков – видимо, за счет использования головастиков и лягушат сначала в качестве вторых промежуточных, затем – дефинитивных хозяев (как это известно для другой трематоды семейства *Plagiorchidae* – *Opisthioglyphe ranae* (Grabda-Kazubska [35]). В итоге молодые лягушки были заражены десятками экземпляров трематод (до 50 в обоих легких), отставали в росте, не накапливали необходимого жирового запаса, и, видимо, не переживали зиму. В течение 2007-2009 гг. численность лягушек самых младших возрастных групп сократилась, за счет чего в 2010-2011 г. отлавливались преимущественно взрослые крупные особи-мигранты.

В 2012 г. *O.filiformis* от остромордой лягушки из припойменных биотопов имели наибольшую длину и ширину по сравнению с другими годами исследования. Возможно, это было связано с особенностями экологии и состава популяции хозяина в этот летний сезон. Весной 2012 г. на р. Иртыш не было ни естественного паводка, ни компенсаторного попуска воды, пойменные биотопы были сухими, до июня лягушек не отмечалось. Подавляющее большинство отловленных лягушек были крупными половозрелыми экземплярами, и, видимо, мигрантами. Возможно, значительное пространство в кишечнике крупных амфибий, а также большое количество потребляемой ими пищи (как трофический ресурс для гастроинтестинальных гельминтов) позволило нематодам достичь значительной величины. Не исключено также и то, что популяция гельминтов в лягушках-мигрантах могла отличаться генотипически и фенотипически от тех освальдокруций, которые паразитировали в постоянно обитающих на Усолке лягушках. В пользу второго предположения свидетельствует в первую очередь тот факт, что в 2012 г. в незрелых (и, соответственно, более мелких по размеру лягушках) как самцы, так и самки освальдокруций достигали более крупных размеров, чем

в крупных лягушках старше 3-4 лет.

В окрестностях заброшенного песчаного карьера на восточной окраине г. Павлодара уже много лет существует малочисленная популяция остромордой лягушки. Сделать выборку из нее удается далеко не ежегодно (как это удалось в 2007 г.). Вероятная причина малочисленности – солоноватая вода в карьерах. Поэтому в данном биотопе преобладают крупные взрослые амфибии, а головастики могут выжить не каждый год (и то лишь благодаря снижению солености весенней воды). У крупных взрослых лягушек в кишечнике находились сравнительно крупные нематоды (такая же ситуация наблюдалась в 2004-2005 гг. в Мелкосопочнике, где в сборах были исключительно взрослые большие лягушки).

Следует отметить, что дисперсия линейных размеров тела нематод обоего пола в пойменных биотопах не испытывала в разные годы существенных колебаний. В то же время она была значительной у освальдокруций в озера Биржанколь и песчаного карьера, и минимальной – в низине возле дач (где, видимо, все особи гельминтов, как и хозяев, были одинаково угнетены неблагоприятными условиями существования).

Таблица 6 – Годовая динамика линейных размеров самцов нематод *Oswaldocruzia filiformis* в припойменных биотопах р. Иртыш в 2006-2017 г.

Объем и характер выборки	Параметр	Среднее значение	Дисперсия	Лимиты	
				минимум	максимум
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2006 г.; n = 446	Длина	6,07405±0,0621	1,7165117	2,85	10,5
	Ширина	0,1449±0,0015	0,00102348	0,098	0,225
	Длина пищевода	0,3766±0,0026	0,002957	0,2	0,575
	Длина спикулы	0,2052±0,0006	0,000208	0,140	0,252
Окрестности г. Павлодара в целом в 2007 г., n = 260	Длина	6,3680±0,0744	1,4406431	4,1	10,0
	Ширина	0,1711±0,0016	0,00067697	0,075	0,25
	Длина пищевода	0,4211±0,0029	0,002239	0,3	0,525
	Длина спикулы	0,2062±0,00095	0,000258	0,154	0,256
Пойма реки Усолка в 2007 г., n = 210	Длина	6,1889±0,0736	1,132643	4,1	9,1
	Ширина	0,1690±0,0016	0,00058641	0,075	0,225
	Длина пищевода	0,4199±0,0033	0,0022494	0,3	0,525
	Длина спикулы	0,2057±0,0011	0,00026865	0,154	0,256
Карьер на окраине г. Павлодара в 2007 г., n = 50	Длина	7,12±0,2034	2,0692857	4,4	10,0
	Ширина	0,1795±0,0044	0,00098699	0,125	0,25
	Длина пищевода	0,4265±0,0067	0,002243	0,35	0,525
	Длина спикулы	0,20804±0,0021	0,000216	0,182	0,238
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2008 г.; n = 136	Длина	6,4721±0,0927	1,1598802	4,25	9,8
	Ширина	0,1733±0,0018	0,00046484	0,125	0,225
	Длина пищевода	0,4395±0,0037	0,0018755	0,375	0,55
	Длина спикулы	0,2034±0,0013	0,00023793	0,168	0,252
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2009 г.; n = 173	Длина	6,2656±0,0942	1,5253945	3,75	10,2
	Ширина	0,16604±0,0018	0,00058786	0,125	0,225
	Длина пищевода	0,4267±0,0035	0,0021191	0,3	0,575
	Длина спикулы	0,2061±0,0009	0,00016259	0,168	0,238
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2010 г.; n = 90	Длина	6,2044±0,1354	1,6323958	4,2	9,0
	Ширина	0,1692±0,0023	0,00049228	0,125	0,225
	Длина пищевода	0,445±0,0069	0,0043006	0,325	0,65
	Длина спикулы	0,1929±0,0014	0,00019282	0,168	0,224

Продолжение таблицы 6

Объем и характер выборки	Параметр	Среднее значение	Дисперсия	Лимиты	
				минимум	максимум
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2011 г.; n = 151	Длина	6,4685±0,0862	1,1155205	4,55	9,15
	Ширина	0,1694±0,0022	0,00070977	0,1	0,225
	Длина пищевода	0,4419±0,0033	0,0016212	0,35	0,6
	Длина спикулы	0,2072±0,0011	0,00020128	0,182	0,252
Пойменные биотопы Павлодарской области в 2012 г.; n = 189	Длина	7,3132±0,0983	1,818122	4,8	11,2
	Ширина	0,1705±0,0019	0,00066451	0,1	0,25
	Длина пищевода	0,4516±0,003	0,0016996	0,375	0,55
	Длина спикулы	0,19133±0,0011	0,000243957	0,14	0,224
Пойменные биотопы (Усолка) 2013 г.; n = 90	Длина	7,5017±0,1552	2,1427781	4,85	12,35
	Ширина	0,1661±0,0029	0,00073471	0,1	0,225
	Длина пищевода	0,45805±0,0043	0,0016549	0,35	0,575
	Длина спикулы	0,2013±0,0013	0,000143489	0,168	0,224
Усолка; 2014 г., n = 71	Длина	7,1366±0,1421	1,4144256	5,1	10,0
	Ширина	0,1574±0,0026	0,00048919	0,1	0,2
	Длина пищевода	0,4183±0,0037	0,0009814	0,35	0,5
	Длина спикулы	0,1968±0,00141	0,000139369	0,168	0,224
Иртышский район; 2014 г., n = 24	Длина	6,9125±0,1695	0,6611413	5,0	8,4
	Ширина	0,17604±0,0047	0,00051517	0,125	0,2
	Длина пищевода	0,4219±0,0056	0,0007235	0,375	0,475
	Длина спикулы	0,1983±0,00222	0,000113623	0,182	0,224
Остромордая лягушка, Усолка, 2015 год в целом; n = 255	Длина	7,6661±0,0764	1,4840121	5,25	11,0
	Ширина	0,17186±0,00162	0,00066433	0,1	0,25
	Длина пищевода	0,422745±0,002185	0,0012129	0,35	0,525
	Длина спикулы	0,20013±0,000736	0,000137573	0,168	0,224
Усолка, 2016 г.; n = 107	Длина	7,6631±0,1184	1,4853932	5,0	10,6
	Ширина	0,1715±0,0024	0,00063029	0,1	0,225
	Длина пищевода	0,44135±0,0029	0,0008856	0,375	0,525
	Длина спикулы	0,2015±0,00095	0,000102649	0,182	0,224
Усолка, 2017 г.; n = 136	Длина	7,77096±0,0975	1,2836502	5,35	10,85
	Ширина	0,16596±0,0021	0,00059649	0,07	0,225
	Длина пищевода	0,4243±0,0026	0,0009346	0,35	0,5
	Длина спикулы	0,19911±0,00089	0,000113244	0,154	0,210

В 2013 г. самки освальдокруций увеличили свою длину и снизили ширину тела, у самцов произошло уменьшение всех линейных размеров. Летом 2014 г. размеры нематод обоего пола снизились, а в 2015 г. длина значительно увеличилась (у самок – до максимальных величин за все годы наблюдений). Размеры самцов *O.filiformis* (длина тела и пищевода) в 2016 и особенно в 2017 гг. продолжали увеличиваться (лишь несколько снизив свою ширину летом 2017 г.). У самок с 2014 по 2017 гг. происходило постепенное пропорциональное уменьшение всех размеров тела. Но все же в период с 2012 по 2017 гг. размеры нематод обоего пола были достоверно выше, чем в 2006-2011 гг.

Среди причин отмеченной динамики линейных размеров мы можем выдвинуть несколько равновероятных и не противоречащих друг другу гипотез. Во-первых, размеры хозяина, обеспечивающие трофический ресурс и пространство

для локализации гельминта, являются наиболее существенным фактором, предопределяющим величину нематод. В пользу этого предположения свидетельствуют значительные размеры нематод из биотопов, где были отловлены исключительно взрослые лягушки крупных размеров. В пойменной популяции в 2005-2006 гг. лягушки были представлены в основном незрелыми особями, со значительной долей сеголеток. Затем с 2007 по 2011 г. прогрессивно увеличивалась доля амфибий старше 3 лет (и особенно – крупных, старых лягушек, в связи с отмеченной гибелью молодняка от патогенной легочной трематоды *Haplometra cylindracea*). С 2012 по 2017 гг. большинство отловленных в припойменных биотопах лягушек были крупными, зрелыми особями – видимо, в связи с миграцией, обусловленной нестабильным гидрологическим режимом.

Во-вторых, можно не без оснований предположить, что размеры тела фоновых видов паразитов могут отражать трофо-энергетическое благополучие популяции хозяина. После снижения численности лягушек (в результате гибели молодняка от патогенной легочной трематоды или нарушения размножения в связи с изменениями гидрологического режима р. Иртыш) неизбежно освобождается трофический ресурс, потребляемый оставшимися особями, а также мигрантами. Достаточное питание лягушек может привести к увеличению линейных размеров гельминтов, особенно гастроинтестинальных, напрямую зависящих от питания и энергетического обмена хозяина.

В-третьих, определенную роль может играть межвидовой и внутривидовой антагонизм гельминтов. В частности, в 2005-2006 и 2009 гг. была высокой зараженность лягушек кишечной трематодой *Opisthioglyphe ranae*, которая могла быть трофическим и пространственным конкурентом освальдокруции. Значительный уровень зараженности лягушек освальдокруцией в 2009 г. (особенно интенсивности инвазии) также мог оказать негативное влияние на размеры гельминтов. В наших ранее опубликованных работах мы неоднократно использовали линейные размеры гельминтов остромордой лягушки как показатели межвидового и внутривидового антагонизма [36, 37, 38].

В-четвертых, норма реакции размеров нематод могла быть детерминирована генетически, и ее динамика может быть обусловлена как кумуляцией определенных генов и генотипов внутри популяции, так и потоком генов или эффектом гетерозиса в популяциях нематод, связанным с миграциями самих хозяев. В пользу этого свидетельствуют факты существенного изменения размеров и пропорций тела нематод после снижения численности пойменной популяции лягушек и притока особей-мигрантов.

Размеры нематод Oswaldocruzia filiformis как индикатор увлажнения поймы и растительного покрова

С учетом того, что *O.filiformis* для развития свободноживущих личиночных стадий и инвазии хозяев нуждается, с одной стороны, в достаточных сухих площадях, с другой – в травянистой растительности, эта нематода может служить индикатором оптимального гидрологического режима поймы и растительного покрова.

Для подтверждения этой гипотезы мы сопоставили уровень весенних паводков (компенсаторных попусков) на р. Иртыш со средними размерами нематод.

Существенные нарушения гидрологического режима в пойме р. Иртыш наблюдаются с 2012 г. Весной 2012 г. на р. Иртыш не было ни паводка, ни компенсаторного попуска воды, межень наступил рано, со значительным падением уровня воды в реке. При отсутствии разлива наблюдалась значительная доля ксероморфных растений.

Быстрый – ранний и кратковременный – паводок 2014 г. привел к нарушению размножения остромордой лягушки – вследствие того, что вода сошла раньше сроков икрометания. Пойма была достаточно сухой, с преобладанием на многих возвышенных участках ксероморфных растений. Период с 2015 по 2017 гг. отличался летними техногенными попусками воды в р. Иртыш, причем высокий уровень воды чаще всего неблагоприятно сказывался на состоянии пойменной растительности.

Сопоставляя имеющиеся данные по увлажненности и растительному покрову поймы р. Иртыш с динамикой линейного роста и показателей зараженности остромордой лягушки *O.filiformis*, можно отметить, что годы нарушения гидрологического режима реки не всегда приводили к снижению показателей инвазии лягушек, а размеры нематод в неблагоприятные периоды даже статистически достоверно возрастали. Начало и середина 80-х гг. характеризовались, как указывалось выше, относительной сухостью поймы и недостаточностью природоохранных компенсаторных попусков. Но все же в этот период зараженность лягушек была достаточно высокой – не ниже, чем в 2005-2017 гг. Сравнительно мелкие размеры нематод были обусловлены

преобладанием в популяции лягушек мелких незрелых экземпляров, со сравнительно малым пространством в желудочно-кишечном тракте и небольшим объемом потребляемой пищи. В достаточно многоводные 2005-2006 гг. основу популяции *Rana arvalis* также составляли мелкие лягушки (сеголетки, годовики, реже – двухлетние экземпляры), что обусловливало высокие показатели инвазии и мелкие размеры гельминтов (таблица 7).

Таблица 7 – Гидрологическая характеристика паводков (компенсаторных попусков) на р. Иртыш в 2001-2017 гг. и ее взаимосвязь с размерами и показателями зараженности остромордой лягушки нематодой *Oswaldocruzia filiformis*

Год	Продолжительность основной фазы, сутки	Средние размеры нематод				Площадь затопления поймы	
		Длина тела самцов	Ширина самцов	Длина тела самок	Ширина самок	тыс.га	%
2005	19	5,7493±0,1477	0,1456±0,0042	8,3506±0,2556	0,1851±0,0045	255,1	75,3
2006	19	6,0741±0,0621	0,1449±0,0015	9,1913±0,1036	0,1825±0,0016	261,1	77,1
2007	18	6,3680±0,0744	0,1690±0,0016	9,6176±0,1582	0,2060±0,0021	262,8	77,65
2008	16	6,4721±0,0927	0,1733±0,0018	10,0608±0,1679	0,2196±0,0025	213,2	62,9
2009	16	6,2656±0,0942	0,16604±0,0018	9,6245±0,1364	0,2041±0,0022	195,6	57,7
2010	21	6,2044±0,1354	0,1692±0,0023	9,7288±0,2113	0,2064±0,0025	298,8	88,2
2011	17	6,4685±0,0862	0,1694±0,0022	9,9993±0,15603	0,2017±0,0022	263,5	77,8
2012	13	7,3132±0,0983	0,1705±0,0019	11,264±0,1727	0,2209±0,0024	17,8	5
2013	17	7,5017±0,1552	0,1661±0,0029	11,8294±0,2236	0,2142±0,0030	303,4	89,6
2014	19	7,1366±0,1421	0,1574±0,0026	10,6097±0,1895	0,2036±0,0028	274,6	81,1
2015	21	7,6661±0,0764	0,17186±0,00162	14,4915±0,1431	0,21024±0,00192	305,3	90,1
2016	27	7,6631±0,1184	0,1715±0,0024	12,3143±0,2041	0,2147±0,0029	282,8	83,5
2017	24	7,771±0,0975	0,16596±0,0021	11,8729±0,1503	0,2029±0,002302	307,2	90,7

В 2007-2009 гг. снижение численности остромордой лягушки, особенно молодых экземпляров, наступило не по причине неблагоприятных условий, а за счет патогенного воздействия многочисленной легочной трематоды *H.cylindracea*. В 2010 г. в пойменных биотопах отлавливались преимущественно крупные половозрелые лягушки, по-видимому, мигранты. Но при этом показатели зараженности лягушек освальдокруцией и абсолютные размеры нематод существенно не изменились, поскольку биотопические условия для развития личиночных стадий *O.filiformis* оставались удовлетворительными.

С 2012 по 2017 гг. при грубых нарушениях гидрологического режима р. Иртыш (отсутствие компенсаторного попуска в 2012 г., нарушение сроков паводка, избыточные техногенные попуски воды летом и осенью) показатели зараженности лягушек *O.filiformis* снизились, тогда как размеры нематод, напротив, увеличились. В сборах за эти годы увеличилось количество лягушек старше 2-3 лет, в кишечнике которых обычно находились крупные нематоды. Но эти амфибии, вероятно, были мигрантами, которые приходили уже инвазированными освальдокруцией, тогда как для развития личиночных стадий в пойменных биотопах складывались неблагоприятные условия. К числу таких неблагоприятных условий можно причислить: сухую почву, длительное затопление больших участков поймы, бедную растительность (причиной которой были как сухость при отсутствии попуска или кратковременном паводке, так и длительный залив лугов, приводящий к гибели растений).

Следует отметить, что по нашим ранее полученным данным, освальдокруция практически отсутствовала у лягушек в ряде водоемов не пойменного (техногенного) происхождения, вокруг которых не было травянистой растительности или растительный покров был слишком беден [24, 25, 26]. Однако слишком высокая и грубая трава на отдельных возвышенных участ-

ках поймы в годы ее длительного залива также неблагоприятна для развития личиночных стадий *O.filiformis* и возможности их попадания в кишечник лягушек.

Заключение

Сопоставление годовой динамики абсолютных размеров нематоды *O.filiformis* с 2005 по 2017 гг. показало почти двукратную разницу линейных размеров нематод, особенно самок. Минимальные размеры у нематод обоего пола в припойменных биотопах р. Иртыш зафиксированы летом 2005 г. (средняя длина самца 5,7493±0,1477, ширина 0,1456±0,0042: размеры самок – 8,3506±0,2556 и 0,1851±0,0045 мм соответственно). Самки достигали максимальных размеров в 2015 г. (14,4915±0,1431 длины и 0,21024±0,00192 мм ширины). Максимальная длина средняя самцов 7,77096±0,0975 мм – наблюдалась в 2017 г., тогда как максимальные значения ширины самца отмечены в 2015-2016 гг. (0,1719 и 0,1715 мм). Наибольшие размеры самки освальдокруции от остромордой лягушки отмечались в 2006 г. (20,6 мм длины и 0,3 мм ширины), хотя в этом году средние размеры нематод были небольшими – при значительном размахе вариации линейных размеров. Максимальная длина самки свыше 18 мм отмечалась во многие годы исследований. Наибольшая длина самца (12,35 мм) наблюдалась в 2013 г., максимальная ширина (0,25 мм) – в 2012 г.

Минимальных размеров как самцы, так и самки освальдокруций в пойменных биотопах р. Иртыш достигали летом 2005-2006 гг., затем в 2007 и 2008 гг. шел прогрессивный подъем размеров, в 2009 г. отмечен некоторый спад (до уровня 2007 года). В 2010 г. произошло небольшое увеличение всех линейных размеров у самок, тогда как у самцов количественные параметры оставались на уровне 2009 года. В 2011 г. отмечался дальнейший подъем размеров у самок и значительное увеличение – у самцов. В 2012 г. *O.filiformis* от остромордой лягушки из припойменных биотопов имели наибольшую длину и ширину по сравнению с другими годами исследования. В 2013 г. самки освальдокруций увеличили свою длину и снизили ширину тела, у самцов произошло уменьшение всех линейных размеров. Летом 2014 г. размеры нематод обоего пола снизились, а в 2015 г. длина значительно увеличилась (у самок – до максимальных величин за все годы наблюдений). Размеры самцов *O.filiformis* (длина тела и пищевода) в 2016 и особенно в 2017 гг. продолжали увеличиваться (лишь несколько снизив свою ширину летом 2017 г.). У самок с 2014 по 2017 гг. происходило постепенное пропорциональное уменьшение всех размеров тела. Но все же в период с 2012 по 2017 гг. размеры нематод обоего пола были достоверно выше, чем в 2006-2011 гг.

В окрестностях заброшенного песчаного карьера с солоноватой водой на восточной окраине г. Павлодара уже много лет существует малочисленная популяция остромордой лягушки, представленная в основном взрослыми особями. У крупных взрослых лягушек в кишечнике находились сравнительно крупные нематоды (самки 10,5667±0,3275 длины и 0,2094±0,0045 ширины, самцы размерами 7,12±0,2034 и 0,1795±0,0044 мм соответственно). Такая же ситуация наблюдалась в 2004-2005 гг. на озере Биржанколь (Казахский Мелкосопочник), где в сборах были исключительно взрослые большие лягушки, а самки освальдокруций достигали до 21 мм длины и 0,35 мм ширины, самцы – до 13,0 и 0,25 мм соответственно. В низине возле дач «Яблонька» наблюдалась тугорослость молодых лягушек и сравнительно малая длина, но значительная ширина *O.filiformis* (средняя длина самца 6.25625±0.4257, ширина 0.1781±0.0074; средняя длина самки 8.83±0.2791, ширина 0.27±0.0255 мм), что, видимо, было обусловлено органическим загрязнением мелких водоемов, приводивших к угнетению как хозяев, так и гельминтов, а компактная форма червей может рассматриваться как адаптация к неблагоприятным условиям (уменьшая относительную площадь поверхности тела).

Среди факторов формирования линейных размеров гельминтов можно назвать размеры самих хозяев, определяющие трофический ресурс и пространство обитания. Размеры фоновых видов паразитов могут отражать энергетическое благополучие хозяина и увеличиваться при освобождении трофического ресурса для лягушек (например, при снижении численности популяции), а также зависеть от внутривидового антагонизма, прямой или косвенной конкуренции с другими видами гельминтов (особенно с одинаковой локализацией). В 2005-2006 и 2009 гг. была высокой зараженность лягушек кишечной трематодой *Opisthioglyphe ranae*, которая могла быть трофическим и пространственным кон-

курентом освальдокруции. Значительный уровень зараженности лягушек освальдокруцией в 2009 г. (особенно интенсивности инвазии) также мог оказать негативное влияние на размеры гельминтов.

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

Работа носила инициативно-поисковый характер.

Литература

1 Рыжиков К.М., Шарпило В.П., Шевченко Н.Н. Гельминты амфибий фауны СССР. – М.: Наука, 1980. – 279 с.

2 Шарпило В.П. Паразитические черви пресмыкающихся фауны СССР: систематика, хронология, биология. – Киев: Наукова думка, 1976. – 287 с.: ил.

3 Prokopič J., Křivanec K. Helminths of amphibians, their interaction and host-parasite relationship //Prirodovėd. pr. Ustavu CSAV Brne'. – 1975 – 9, № 3. – P.48.

4 Moraveč F., Vojtkova L. Variabilität von zwei Nematodenarten: Oswaldocruzia filiformis (Goeze, 1782) und Oxysomatium brevicaudatum (Zeder, 1800) gemeinsamen Parasiten der Europäischen Amphibien und Reptilien. – Scripta fac. Nat. Sci. UJEP, Brun., Biologia, 1975, № 5. – S.61-76.

5 Куранова В.Н. Гельминтофауна бесхвостых амфибий поймы Средней Оби, ее половозрастная и сезонная динамика //В сб.: Вопросы экологии беспозвоночных, – Томск, 1988. – С. 134-154.

6 Однокурцев В.А., Седалищев В.Т. К гельминтофауне бурых лягушек Якутии (предварительное сообщение) // Паразитологические исследования в Сибири и на Дальнем Востоке. Материалы II межрегиональной научной конференции, Новосибирск, 15-20 сентября 2005 г. – Новосибирск, 2005. – С. 151-152.

7 Борисова В.И. Исследование географического распределения гельминтов у амфибий //Паразитология. – 1988. – 22, № 6. – С. 471-475.

8 Кудинова М.А., Жерихова Г.В., Петрова О.Е. Гельминтофауна лягушки травяной Южной Карелии. – В сб.: Гельминты и их промежуточные хозяева, Петрозаводск, 1985. – С. 24-27.

9 Носова К.Ф. Изучение влияния происхождения озер и зональности на гельминтофауну прудовой лягушки. – В сб.: Гельминты и их промежуточные хозяева, Петрозаводск, 1985. – С. 42-45.

10 Будалова Т.М., Радченко Н.М., Марков Г.С. Влияние антропогенных факторов на состав гельминтоценоза и зараженность озерной и прудовой лягушек гельминтами. – Фауна и экология амфибий и рептилий. Межвузовский сборник научных трудов. – Горький, 1984. – С. 74-84.

11 Rezvantseva M.V., Chikhlyaev I.V. On Helminthes of Green Frogs in Tambov Region // Urgent Problems of Herpetology and Toxinology: Coll. of Scient. Works. Tolyatti, 2005. Iss. 8. P. 164–168.

12 Резванцева М.В. Материалы по гельминтофауне озерной лягушки (Rana ridibunda) в окрестностях Тамбова // Вестник ТГУ, 2008, т. 13, вып. 28. – С. 330-332.

13 Резванцева М.В. Сезонная и многолетняя динамика численности гельминтов озерной лягушки (Rana ridibunda) в окрестностях Тамбова //Вестник ТГУ, 2008, т. 14, вып. 2. – С. 389-393.

14 Hendrix W.M.L. Epidemiological Aspects the Infection with Oswaldocruzia filiformis (Goeze, 1782) Travassos, 1917 (Nematoda: Trichostrongylidae) in the Common Toad (Bufo bufo L., 1785) in the Netherlands. – Netherlands Journal of Zoology, 1983, 33 (2). – 99-124.

15 Griffin C. Oswaldocruzia filiformis (Nematoda: Trichostrongylidae) in frogs (Rana temporaria) from three locations in Ireland //J.Helminthol. – 1989 – 63, № 1. – P.53-62.

16 Марков Г.С., Рогоза М.Л. Сезонные и микрозональные различия в паразитофауне травяной лягушки. – Доклады Академии Наук СССР, 1953а, т. XCI, № 1.

17 Марков Г.С., Рогоза М.Л. Возрастная динамика паразитофауны травяной лягушки. – Доклады Академии Наук СССР, 1953б, т. XCIII, № 3.

18 Hendrix W.M.L., van Moppes M.C. Oswaldocruzia filiformis (Nematoda: Trichostrongylidae): Morphology of Developmental Stages, Parasitic Development and Some Pathological Aspects of the Infection in Amphibians. – Z. Parasitenkd., 1983, 69. – S. 523-537.

19 Baker M.R. Development and transmission of Oswaldocruzia pipiens Walton, 1929 (Nematoda: Trichostrongylidae) in amphibians. – Parasitology, 1978, 4.

20 Соболева Т.Н. К гельминтофауне водных амфибий и рептилий Казахстана. – В сб.: Экология паразитов водных животных. – Алма-Ата, 1975. – С. 186-192.

21 Ваккер В.Г. Популяционные особенности гельминтов прыткой ящерицы в Среднем Прииртышье. – Тез. докл. 8 Всесоюз. сов. зоологов пединститутов, Витебск, 1984. – С. 56-58.

22 Ваккер В.Г., Тарасовская Н.Е. 1993 а. Зараженность гельминтами остромордой лягушки Rana arvalis в Казахском Мелкосопочнике. – Деп. в КазгосИНТИ 12.08.93 г., № 3971-Ка93.

23 Ваккер В.Г., Тарасовская Н.Е. 1993 б. Гельминты амфибий в степной и лесостепной зонах Казахстана. – Деп. в КазгосИНТИ 12.08.93 г., № 3969-Ка93.

24 Тарасовская Н.Е. Гельминтофауна остромордой лягушки в естественных и антропогенных биоценозах Павлодарского Прииртышья //Материалы международной научно-практической конференции «Паразитоценология: современное состояние

изученности, актуальные проблемы и пути решения», Семипалатинск, 16-17 ноября 2006 г. – Семипалатинск, 2006. – С. 77-81.

25 Ваккер В.Г., Тарасовская Н.Е. Биология Oswaldocruzia filiformis в Среднем Прииртышье. - Деп. в ВИНИТИ, 1988 а, № 4147-В88. - 27 с.

26 Тарасовская Н.Е. Популяционная экология гельминтов теплокровных и холоднокровных позвоночных в экосистемах и агроценозах некоторых регионов Казахстана. Дис. … докт. биол. наук: 03.00.19. – Алматы: НИВИ АО «КазАгроИнновация», 2007. – 281 с.

27 Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды. – М.: Колос, 1983. – 208 с.

28 Беклемишев В.Н. Биоценологические основы сравнительной паразитологии. - М.: Наука, 1970. – 502 с.

29 Скрябин К.И., Шихобалова Н.П., Шульц Р.С., Попова Т.И., Боев С.Н., Делямуре С.Л. Стронгиляты. - Определитель паразитических нематод. Т. III. - М.: изд-во АН СССР, 1952. – 890 с.

30 Лакин Г.Ф. Биометрия [Учеб. пособие для биол. спец. вузов]. - М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.

31 Схема комплексного использования и охраны водных ресурсов бассейна реки Иртыш на территории Республики Казахстан: в 5 т. / Казгипроводхоз. – Алматы, 2011. – Т. 3. – 300 с.

32 Бейсембаева М.А., Мазбаев О.Б., Базарбеков К.У. Проблемы качества воды реки Иртыш в пределах Казахстана // Современные проблемы географии и геологии: матер. III междунар. науч.-практ. конф. с элементами школы-семинара для студентов, аспирантов и молодых ученых. – Томск, 2014. – С. 513-518.

33 Бейсембаева М.А., Базарбеков К.У. Влияние природоохранных попусков на гидрологический режим реки Иртыш в пределах территории Павлодарской области Республики Казахстан // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т. 17, №4(5). – С. 781-787.

34 Beisembayeva M.A., Kamkin V., Mazbayev O., Bazarbekov K. Effect of environmental water release on the state of flora and vegetation of the steppe plain segment of the Irtysh river floodplain // Thomson Reuters. Oxidation Communications. – Sofia, 2016. – Vol. 39, №1. – P. 357-367.

35 Zemtsov V.A., Kamkin V.A., Bazarbekov K.U. Dynamics of the Irtysh River Floodplain Hydrology and Vegetation in the Pavlodar Region of the Republic of Kazakhstan // In: Riparian Zones: Characteristics, Management Practices and Ecological Impacts. – New York: NOVA SCIENCE PUBLISHERS INC, 2016. – Ch. 9. – P. 211-230.

36 Grabda-Kazubska B. Studies of abbreviation of the life-cycle in Opisthioglyphe ranae (Frölich, 1791) and O.rastellus (Olsson, 1876) (Trematoda: Plagiorchidae). – Acta Parasitol. Pol., 1968-1969, 16. – P. 20-27.

37 Tarassovskaja N.E. The using of measurement analysis in the study of interspecific interactions between the helminthes of moor frog (Rana arvalis) in Pavlodar region //Kazakhstan biological sciences. – Pavlodar: Pavlodar State Pedagogical Institute [Biogogicheskije nauki Kazakhstana. Pavlodar: Pavlodarskiy gosudarstvennyj pedagogicheskyj institute], Pavlodar, 2013. № 3: 49-66. (In English)

38 Tarassovskaya N.E., Zhumabekova B.K., Syzdykova G.K. Stages of interspecific and interspecific interactions between helminthes //Materials of XI European Multicolloquium of Parasitology. - Cluj-Napoca, Romania, 2012. – P. 464-465. (In English)

39 Тарасовская Н.Е. Межвидовые отношения гельминтов остромордой лягушки в Павлодарской области по данным морфометрического анализа //Материалы Международной научно-практической конференции «Роль ветеринарной науки и практики в эффективном развитии животноводства». – Алматы: ТОО «КазНИВИ», 2012. – С. 521-527.

40 Ваккер В.Г., Тарасовская Н.Е. Биология Rhabdias bufonis в Среднем Прииртышье. - Деп. в ВИНИТИ, 1988 b, № 4147-В88. - 17 с.

References

1 Baker M.R. (1978) Development and transmission of Oswaldocruzia pipiens Walton, 1929 (Nematoda: Trichostrongylidae) in amphibians. – Parasitology, 4. (In English)

2 Beisembayeva M.A., Kamkin V., Mazbayev O., Bazarbekov K. (2016) Effect of environmentalwater release on the state of flora and vegetation of the steppe plain segment of the Irtysh river floodplain . Thomson Reuters. Oxidation Communications. – Sofia. – Vol. 39, №1. – P. 357-367. (In English)

3 Beisembayeva M.A., Mazbayev O., Bazarbekov K.U. (2014) Problems of water quality in Irtysh river within Kazakhstan . Modern problems of geography and geology: proceeding of III International scientific-practical conference with elements of seminar school for the students, postgraduate students and young scientists. [Problemy kachestva vody reki Irtysh v predelah Kazakhstana . Sovremennye problemy geographii I geologii: materialy III mezhdunarodnoi nuachno-prakticheskoi konferentsii s elementami shkoly-seminara dlja studentov, aspirantov I molodyh uchenyh] – Tomsk. – 513-518. (In Russian)

4 Beisembayeva M.A.Bazarbekov K.U. (2015) Influence of natural-preserving artificial spring-floods to hydrology regime of Irtysh river within territory of Pavlodar region of Kazakhstan Republic . Bulletin of Samara scientific center of Russian Academy of Science. 2015. V. 17, №4(5). – P.781-787. [Vlijanie prirodoohrannyh popuskov na gidrologicheskij rezhim peki Irtysh v predelah Pavlodarskoi oblasti Respubliki Kazakhstan . Izvestija Samarskogo nauchnogo tsentra Rossijskoi Akademii Nauk. 2015. Tom 17, №4(5). – 781-787]. (In Russian)

5 Beklemishev V.N. (1970) Biocenological grounds of comparative parasitology. M.: Science. – 502 p. [Biotsenologicheskije osnovy sravnitel'noj parazitologii. – M.: Nauka. - 502]. (In Russian)

6 Borisova V.I. (1988) Study of geographical distribution of helminthes in amphibian . Parasitology. 22, № 6. – P. 471-475. [Issledovanije geograficheskogo raspredelenija gel'mintov u amfibij. – Parasitologija, 1988. 22, № 6. – P. 471-475]. (In Russian)

7 Budalova T.M., Radchenko N.M., Markov G.S. (1984) Influence of anthropogenic factors to the helminthes asso-

ciation composition and infection of lake and pond frogs by helminthes/ Fauna and ecology of amphibians and reptilians. Inter-university anthology of scientific works [Vlijanie antropogennyh factorov na sostav gelmintostenosa and zarazhennnost' ozernoi I prudovoi ljagushek gelmintami /Fauna I ecologia amfibij I reptilij. Mezhvuzovskij sbornik nauchnyh trudov] Gorky: 74-84. (In Russian)

8 Grabda-Kazubska B. (1968-1969) Studies of abbreviation of the life-cycle in Opisthioglyphe ranae (Frölich, 1791) and O.rastellus (Olsson, 1876) (Trematoda: Plagiorchidae). – Acta Parasitol. Pol., 16. – P. 20-27. (In English)

9 Griffin C. (1989) Oswaldocruzia filiformis (Nematoda: Trichostrongylidae) in frogs (Rana temporaria) from three locations in Ireland . J.Helminthol. 63, № 1. – P.53-62. (In English)

10 Hendrix W.M.L., van Moppes M.C. (1983) Oswaldocruzia filiformis (Nematoda: Trichostrongylidae): Morphology of Developmental Stages, Parasitic Development and Some Pathological Aspects of the Infection in Amphibians. – Z. Parasitenkd., 69. – S. 523-537. (In English)

11 Hendrix W.M.L. (1983) Epidemiological Aspects the Infection with Oswaldocruzia filiformis (Goeze, 1782) Travassos, 1917 (Nematoda: Trichostrongylidae) in the Common Toad (Bufo bufo L., 1785) in the Netherlands. – Netherlands Journal of Zoology, 33 (2). – 99-124. (In English)

12 Kotelnikov G.A. (1983) Helminthological research of animals and environment. – Moscow: Spike. – 208 p. [Gelmintologicheskije issledovanija zhivotnykh i okruzhajuschey sredy. – Moskva: Kolos]. M. – 208. (In Russian)

13 Kudinova M.A., Zherichova G.V., Petrova O.E. (1985) Helminthes fauna of grass frog in Southern Karelia. . Helminthes and their intermediate hosts. [Gel'mintofauna ljagushki travjanoi Juzhnoi Karelii. V sbornike: Gel'minty i ih promezhutochnyje hozjaeva] Petrozavodsk: 24-27. (In Russian)

14 Kuranova V.N. (1988) Helminthes fauna of anural amphibians of Middle Ob flood-land, it's sex, age and seasonal dynamics . Problems of invertebrate ecology [Gel'mintofauna beshvostyh anfibij poimy Srednei Obi, ee polovozrastnaja i sezonnaja dinamica . V sbornike: Voprosy ekologii bespozvonochnyh]. – Tomsk: 134-154. (In Russian)

15 Lakin G.F. (1980) Biometry [Educative text-book for biological specialties of higher school]. – Moscow: Higher School. – 293 p. [Biometrija. Uchebnoje posobije dlja biologicheskikh special'nostey vuzov. Moskva: Vysshaja shkola]. M.: 293. (In Russian)

16 Markov G.S., Rogoza M.L. (1953a) Seasonal and-micro-zonal diversities in parasites fauna of grass frog . Report of USSR Academy of Sciences. [Sesonnyje i mikrozonal'nyje razlichija v parasitofaune travjanoi ljagushki . Doklady Akademii Nauk SSSR]. V. XCI, № 1.(In Russian)

17 Markov G.S., Rogoza M.L. (1953b) Age dynamics of parasites fauna of grass frog . Report of USSR Academy of Sciences. [Doklady Akademii Nauk SSSR]. V. XCIII, № 3. (In Russian)

18 Moraveč F., Vojtkova L. (1975) Variabilität von zwei Nematodenarten: Oswaldocruzia filiformis (Goeze, 1782) und Oxysomatium brevicaudatum (Zeder, 1800) gemeinsamen Parasiten der Europäischen Amphibien und Reptilien. – Scripta fac. Nat. Sci. UJEP, Brun., Biologia, № 5. – S.61-76. (In German)

19 Nosova K.F. Study on influence of lakes' origin and zonal position to the helminthes fauna of pod frog /In anthology: Helminthes and their intermediate hosts. [Izuchenije proishozhdenija ozer i zonal'nosti na gel'mintofaunu prudovoi ljagushki. V sbornike: Gel'minty i ih promezhutochnyje hozjaeva] Petrozavodsk, 1985: 42-45. (In Russian)

20 Odnokurtsev V.A., Sedalischev V.T.(2005) To the helminthes fauna of brown frogs of Yakut (preliminary report) . Parasitological studies in Siberia and Far East. Proceeding of II Interregional scientific conference, Novosibirsk, 15-20 of September 2005 [K gel'mintofaune buryh ljagushek Yakutii (predvaritel'noe soobschenie) . Parasitologicheskije issledovanija v Sibiri i na Dal'nem Vostoke. Materialy II mezhregional'noi nauchnoi konferentsii, Novosibirsk, 15-20 sentjabrja 2005] Novosibirsk: 151-152. (In Russian)

21 Prokopič J., Křivanec K. (1975) Helminths of amphibians, their interaction and host-parasite relationship . Prirodovėd. pr. Ustavu CSAV Brne'. 9, № 3. – P.48. (In English)

22 Rezvantseva M.V. (2008) Materials on helminthes fauna of lake frog (Rana ridibunda) in the neighborhoods of Tambov . TSU Bulletin, vol. 14, issue 28: 330-332 [Materialy po hel'mintofaune ozernoi ljagushki (Rana ridibunda) v okrestnostjah Tambova . Vestnik TGU, t. 14, vyp. 28: 330-332]. (In Russian)

23 Rezvantseva M.V. (2008) Seasonal and long-year dynamics of helminthes' quantity in lake frog (Rana ridibunda) in the neighborhoods of Tambov . TSU Bulletin, vol. 14, issue 2: 389-393 [Materialy po hel'mintofaune ozernoi ljagushki (Rana ridibunda) v okrestnostjah Tambova . Vestnik TGU, t. 14, vyp. 2: 389-393]. (In Russian)

24 Rezvantseva M.V., Chikhlyaev I.V. (2005) On Helminthes of Green Frogs in Tambov Region . Urgent Problems of Herpetology and Toxinology: Coll. of Scient. Works. Tolyatti. Iss. 8. P. 164–168. (In English)

25 Ryzhykov K.M., Sharpilo V.P., Shevchenko N.N. (1980) Helminthes of amphibian of USSR fauna. – Moscow: Science, 1980. – 279 p. [Gel'minty amfibiy fauny SSSR. M.: Nauka]. M. – 279. (In Russian)

26 Skrjabin K.I., Schikhobalova N.P., Schulz R.S., Popova T.I., Bojev S.N., Delamure S.L. (1952) Strongylata. – Reference book on parasitic nematodes. V. III [Strongylaty. Opredelitel' parasiticheskich nematode. T. III]. Moskva: izdatelstvo AN SSSR. – 890. (In Russian)

27 Soboleva T.N. (1975) To the helminthes fauna of water amphibians and reptilians of Kazakhstan /Ecology of parasites of water animals. [K gel'mintofaune vodnyh amfibij i reptilij Kazakhstana /V sbornike: Ekologija parazitov vodnyh zhivotnyh] Alma-Ata: 186-192. (In Russian)

28 Scheme of complex using and preservation of water resources of Irtysh river basin on the territory of Kazakhstan Republic: in 5 vol. (2011) /Kazgiprovodhoz [Shema kompleksnogo ispolzovanija i ohrahy volnyh resursos basseina reki Irtysh na territorii Respubliki Kazakhsran: v 5 t. /Kazgiprovodhoz] Almaty. V. 3: 300. (In Russian)

29 Tarassovskaya N.E. (2006) Helminthes fauna of moor frog in the natural and anthropogenic ecosystems of Pavlodar Irtysh

basin . Proceeding of International scientific-practice conference «Parasitocoenology: today research status, actual problems and ways of solution, Semipalatinsk, 16-17 of November 2006 [Gel'nimtofauna ostromordoi ljagushki v estestvennyh i antropogennyh biocenozah Pavlodarskogo Priirtyshja / Materialy II mezhregional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Pasazitotsenologia: sovremennoje sostojanije izuchennosti, aktualnyje problem i puti reshenija», Semipalatinsk, 16-17 nojabrja 2006] Semipalatinsk: 77-81.(In Russian)

30 Tarassovskaya N.E. (2007) Population ecology of helminthes in warm-blooded and cold-blooded vertebrates in ecosystems and agrocoenosis of several regions of Kazakhstan. Thesis … doctor of biological sciences: 03.00.19 [Populatsionnaja ekologija gel'mintov teplokrovnyh i holodnokrovnyh pozvonochnyh v ekosistemah i agrotsenozah nekotoryh regionov Kazakhstana. Dis. … dokt.biol.nauk: 03.00.19] Almaty: NIVI (Kazakh Research scientific Veterinary Institute) AO (Joint-stock company) «KazAgroInnovation»: 281. (In Russian)

31 Tarassovskaya N.E. (2012) Interspecific interactions of helminthes in moor frog in Pavlodar region on morphological measurement data . Proceeding of International scientific practical conference «Role of veterinary science and practice in effective stock-breeding development». – Almaty: TOO (Association with limited responsibility) «KazNIVI» (Kazakh Research scientific Veterinary Institute). – P. 521-527. (In Russian)

32 Sharpilo V.P. (1976) Parasitic worms of reptilians of USSR fauna: systematics, chronology, biology [Parasiticheskije chervil presmykajuschihcja fauny SSSR: sistematica, chronologija, biologija] Kiev: Naukova dumka: 287. (In Russian)

33 Tarassovskaja N.E. (2013) The using of measurement analysis in the study of interspecific interactions between the helminthes of moor frog (Rana arvalis) in Pavlodar region . Kazakhstan biological sciences. – Pavlodar: Pavlodar State Pedagogical Institute [Biogogicheskije nauki Kazakhstana. Pavlodar: Pavlodarskiy gosudarstvennyj pedagogicheskyj institute], Pavlodar. № 3: 49-66. (In English)

34 Tarassovskaya N.E., Zhumabekova B.K., Syzdykova G.K. (2012) Stages of interspecific and interspecific interactions between helminthes . Materials of XI European Multicolloquium of Parasitology. - Cluj-Napoca, Romania. – P. 464-465. (In English)

35 Vakker V.G. (1984) Population peculiarities of sand lizard helminthes in Middle Irtysh basin. Thesis of reports of 8 Soviet Union Conference of zoologist of pedagogical Institutes [Populatsionnyje osobennosti gel'mintov prytkoi jascheritsy v Srednem Priirtyshje. Tezisy dokladov 8 Vsesojuznogo soveschanija zoologov pedinstitutov] Vitebsk: 56-58. (In Russian)

36 Vakker V.G., Tarassovskaya N.E. (1988a) Biology of Oswaldocruzia filiformis in Middle Irtysh basin. Deponent in VINITI (Soviet Union Institute of Scientific and Technical Information) [Biologija Oswaldocruzia filiformis v Srednem Priirtyshje. Dep. v VINITI, № 4147-B88]: 27. (In Russian)

37 Vakker V.G., Tarassovskaya N.E. (1988b) Biology of Rhabdias bufonis in Middle Irtysh basin. Deponent in VINITI (Soviet Union Institute of Scientific and Technical Information) [Biologija Rhabdias bufonis v Srednem Priirtyshje. Dep. v VINITI, № 4147-B88]: 17. (In Russian)

38 Vakker V.G., Tarassovskaya N.E. (1993a) Infection of moor frog Rana arvalis by helminthes in Kazakh Melkosopochnik Deponent in KazGosINITI (Kazakhstan State Institute of Scientific and Technical Information) [Zarazhennost' gelmintami ostromordoi ljagushki Rana arvalis v Kazakhkom Melkosopochnike Dep. v KazGosINITI 12.08.93, №3971-Ka93]. (In Russian)

39 Vakker V.G., Tarassovskaya N.E. (1993b) Helminthes of amphibians in steppe and forest-steppe zones of Kazakhstan. Deponent in KazGosINITI (Kazakhstan State Institute of Scientific and Technical Information) [Gelminty amfibij v stepnoi i lesostepnoi zonah Kazakhstana. Dep. v KazGosINITI, 12.08.93, №3969-Ka93]. (In Russian)

40 Zemtsov V.A., Kamkin V.A., Bazarbekov K.U. (2016) Dynamics of the Irtysh River Floodplain Hydrology and Vegetation in the Pavlodar Region of the Republic of Kazakhstan . In: Riparian Zones: Characteristics, Management Practices and Ecological Impacts. – New York: NOVA SCIENCE PUBLISHERS INC. – Ch. 9. – P. 211-230. (In English)

8-бөлім
ПАРАЗИТОЛОГИЯ

Section 8
PARAZITOLOGY

Раздел 8
ПАРАЗИТОЛОГИЯ

МРНТИ 34.27.29 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b15

Киян В.С.[1*], Смагулова А.М.[1], Катохин А.В.[2]

[1]Научно-исследовательская платформа сельскохозяйственной биотехнологии
АО «Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина»,
Казахстан, г. Нур-Султан, e-mail: vskiyan@gmail.com
[2]ФБГНУ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, г. Новосибирск

МЕТОРХОЗ В СЕВЕРНОМ КАЗАХСТАНЕ: СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ

В настоящей статье авторами было проведенно исследование состояния изученности и распространенности меторхоза на территории Северного Казахстана. Проанализирована отечественная и зарубежная литература, где отмечено наличие в Казахстане возбудителя меторхоза, но исследования на должном уровне не проводились. Авторами статьи проведены исследования промежуточных и окончательных хозяев возбудителей семейства Opisthorchiidae. Молекулярно-генетические исследования показали у одного из промежуточных хозяев – рыбы семейства карповых, наличие смешанной инфекции основными видами Opisthorchis felineus и Metorchis bilis. Полученные нуклеотидные последовательности были зарегистрированы в международной базе данных NCBI GenBank. Кроме этого, доказано наличие смешанной инфекции у одного из окончательных хозяев представителей диких плотоядных (лис). Выделены из печени мариты, проведена их морфологическая и молекулярная идентификация, в результате чего доказана их принадлежность к видам O. felineus и M. bilis. В заключительном исследовании авторами проведены биохимические и молекулярно-генентические исследования сывороток крови пациентов с диагнозом «описторхоз». Проведенное исследование показало, что уровень заболеваемости составил 6,2 % и эти показатели согласуются с официальной статистикой открытых источников. Исследование биологического материала, отобранного у пациентов с подтвержденным методом ИФА диагнозом «описторхоз», позволило также доказать микст-инвазию у людей в изучаемом регионе.

Ключевые слова: ПЦР, меторхоз, описторхоз, микст-инвазия.

Kiyan V.S.[1*], Smagulova A.M.[1], Katokhin A.V.[2]

[1]Research Platform of Agricultural Biotechnology S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University,
Kazakhstan, Nur-Sultan, e-mail: vskiyan@gmail.com
[2]Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Russian Federation, Novosibirsk

Methorchosis in North Kazakhstan: state of study and distribution

In this article, the authors conducted a study of the state of knowledge and prevalence of methorchosis in the territory of Northern Kazakhstan. The domestic and foreign literature was analyzed, where the presence of the pathogen of methorchosis in Kazakhstan was noted, but studies were not conducted at the proper level. The authors of the article conducted studies of the intermediate and final hosts of the pathogens of the family Opisthorchiidae. Molecular genetic studies have shown in one of the intermediate hosts, fish of the cyprinid family, the presence of a mixed infection with the main species Opisthorchis felineus and Metorchis bilis. The obtained nucleotide sequences were registered in the international NCBI GenBank database. In addition, the presence of a mixed infection in one of the final hosts of representatives of wild carnivores (foxes) was proved. Marita were isolated from the liver, their morphological and molecular identification was carried out, as a result of which they belong to the species O. felineus and M. bilis. In the final study, the authors conducted biochemical and molecular-genetic studies of the blood serum of patients with a diagnosis of opisthorchiasis. The study showed that the incidence rate was 6.2% and these indicators are consistent with official statistics from open sources. The study of biological material selected from patients with a confirmed ELISA diagnosis of «opisthorchiasis», also allowed to prove mixed invasion in people in the study region.

Key words: PCR, methorchosis, opisthorchiasis, mixed invasion.

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Киян В.С.[1*], Смагулова А.М.[1], Катохин А.В.[2]
[1]С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Ауылшаруашылық биотехнология ғылыми зерттеу платформа, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ., e-mail: vskiyan@gmail.com
[2]РҒА СФ Цитология және генетика институтының ФМБҒМ, РФ, Новосибирск қ.

Солтүстік Қазақстандағы меторхоз: зерттелу және таралу жағдайы

Бұл мақалада авторлар Солтүстік Қазақстан территориясындағы меторхоздың осы уақытқа дейін қаншалықты зерттелгені мен таралуы туралы зерттеу жүргізді. Отандық және шетелдік әдебиеттерге талдау жасалды, онда Қазақстанда меторхоз қоздырғышының болуы атап өтілді, бірақ зерттеулер тиісті деңгейде жүргізілмегені анықталды. Мақала авторлары Opisthorchiidae тұқымдасының қоздырғыштарының аралық және соңғы иелерін зерттеді. Молекулярлы-генетикалық зерттеулер аралық иесінде – тұқылар тұқымдасының балығы, Opisthorchis felineus және Metorchis bilis негізгі түрлерімен аралас инфекцияның болуын көрсетті. Алынған нуклеотидтер тізбегі NCBI GenBank халықаралық деректер базасында тіркелді. Сонымен қатар, жабайы етқоректілердің (түлкілердің) соңғы қожайындарының бірінде аралас инфекцияның болғаны дәлелденді. Марита бауырдан бөлініп алынды, олардың морфологиялық және молекулалық идентификациясы жүргізілді, нәтижесінде олар O. felineus және M. bilis түрлеріне жататындығы анықталды. Қорытынды зерттеуде авторлар описторхоз диагнозы бар пациенттердің қан сарысуларына биохимиялық және молекулярлы-генетикалық зерттеулер жүргізді. Зерттеу көрсеткендей, сырқаттанушылық деңгейі 6,2% құрайды және бұл көрсеткіштер ашық дереккөздердің ресми статистикасына сәйкес келеді. ИФТ расталған «описторхоз» диагнозы бар пациенттерден алынған биологиялық материалдары зерттеу аймағындағы адамдарда аралас инвазияның бар екендігін дәлелдеуге мүмкіндік берді.

Түйін сөздер: ПТР, меторхоз, описторхоз, аралас инвазия.

Введение

Меторхи (лат. *Metorchis spp.*) являются гельминтами группы дигенетических трематод, относящихся к семейству *Opisthorchiidae*. Первоначально эта трематода была выделена из образцов желчных протоков красной лисицы, которая погибла в садах Британского зоологического общества в Лондоне. В роде *Metorchis* зарегистрировано 26 видов, из которых 8 видов паразитируют у млекопитающих и 18 видов у птиц [1]. *Cameron* в 1944 году исследовал таксономию рода *Metorchis* и предположил, что существует только три вида данного рода: *Metorchis conjunctus* в Северной Америке, *Metorchis albidus* в Европе и вокруг Средиземноморья и *Metorchis felis*, в Азии [2]. На сегодняшний день, крупными представителями данного вида являются *Metorchis bilis* (Braun, 1893, син. *Metorchis albidus*), обитающий в Сибири, *Metorchis conjunctus* (Cobbold,1960), обитающий в Канаде, и *Metorchis orientalis* (Tanabe, 1919, син. *Metorchis felis*), обитающий в Восточной Азии [3, 4].

Как типичный представитель семейства *Opisthorchiidae*, *Metorchis bilis* имеет сложный жизненный цикл, который протекает в трех разных хозяевах: двух промежуточных и одном окончательном. Первым промежуточным хозяином *M.bilis* являются пресноводные улитки *Bithynia tentaculata* на Европейской территории России, в Западной Сибири и Казахстане. Второй промежуточный хозяин – рыба семейства карповые (язь, плотва, елец, уклейка, карась, карп и др.). В качестве окончательного хозяина выступают плотоядные животные (волки, собаки, лисы, кошки, ондатры, выдры и норки) и человек, а также отдельные рыбоядные птицы (коршуны, луни) [5].

Сеть озер и рек Северного Казахстана относятся к Обь-Иртышскому байссейну, который дальше простирается по территории Российской Федерации. Имеется достаточное количество исследований российских ученых показывающих, что основными представителями семейства *Opisthorchiidae* на территории РФ являются виды *Opisthorchis felineus* и *Metorchis bilis* [6]. При этом имеются сообщения о смешанной инфекции, когда заражение происходит двумя вышеуказанными возбудителями [7-9].

О том, что на территории Казахстана фиксируется возбудитель меторхоза, сомневаться не приходится. Ряд исследователей периодически указывают, что *Metorchis bilis* встречается на территории Республики [10, 11, 12], но исследований на должном уровне не проводилось. Ранее проведенные нами исследования позволили доказать наличие возбудителя меторхоза в Коргалджинском районе Акмолинской области у одного из промежуточных хозяев – рыб се-

мейства карповые [13]. Эти данные также подтверждаются рядом исследователей, доказавших наличие этого возбудителя в изучаемом регионе [14, 15].

Если рассматривать окончательных хозяев, то имеются, лишь незначительные ссылки на смешанную инфекцию (*O. felineus* и *M. bilis*). Например, исследования вскрытия трупа деревенских собак в эндемичном регионе выявили 37 из 51 (72%) деревенских собак, зараженных либо *O. felineus*, либо *M. bilis*. Две собаки были заражены единичными образцами *M. bilis*. Однако авторы не предоставили точных (генетических) данных о наличии 2 видов паразитов и подчеркнули, что невозможно подтвердить, был ли вызван описторхидоз человека *O. felineus* или *M. bilis* [16].

При этом следует заметить, что среди населения, проживающего в бассейне Нура-Сарысу, который является одним из 8 бассейнов Казахстана, описторхоз широко распространен, но смешанные инфекции еще не зарегистрированы. Предполагается, что клинические признаки инфекции *M. bilis* аналогичны клиническим признакам инфекции *O. felineus* [17, 18], и практически невозможно провести различие между этими двумя инфекциями с помощью рутинных медицинских и паразитологических методов.

Цель настоящего исследования – провести анализ распространенности возбудителя *M. bilis* на территории Северного Казахстана и доказать наличие смешанной инфекции в данном регионе.

Материалы и методы исследования

При проведении работы использовали следующие объекты исследования: рыба язь (*Leuciscus idus*) семейства карповых, отловленная в озере Шолак Коргалжынского района Акмолинской области; лиса обыкновенная (*Vulpes vulpes*) семейства псовых, добытая около села Малиновка Акмолинской области; дуоденальная жидкость (желчь человека) с подтвержденным диагнозом «описторхоз», предоставленная от ГККП «Городская инфекционная больница» акимата г. Нур-Султан.

Для обнаружения метацеркарий в тканях рыбы использовали компрессионный метод. Для этой цели исследовали по 5 проб мышц с подкожной клетчаткой с обеих сторон рыбы: по 3 пробы из спинной и 2 из брюшной части. Каждая проба мышц бралась с площади 1-2 см^2 на глубине 2-3 мм. Мышечную ткань измельчали и порциями по 1-1,5 г раскладывали в компрессорий МИС-7М («Лаборкомплект», РФ). Готовые компрессионные препараты просматривали под микроскопом при увеличении в 20 раз на микроскоп BX 43 («Olympus», Япония).

Полное гельминтологическое вскрытие окончательных хозяев (лис) проводили по методу К.И. Скрябина [19]. Особое внимание уделяли печени и желчному пузырю животных. Желчный пузырь вскрывали и промывали его оболочку физиологическим раствором. Делали соскоб со стенок желчного пузыря и наносили на предметное стекло. Печень осматривали снаружи, после чего измельчали паренхиму и проводили отмывку водой. С помощью микроскопа исследовали желчь и печень на наличие паразитов.

Метод выделения ДНК из желчи человека с предварительной гомогенизацией. Осадок инкубировали в 1 мл 1N NaOH в течение 30 мин при 95°С. Полученную суспензию центрифугировали в течение 10 мин при 4000 об/мин. Супернатант переносили в микроцентрифужную пробирку, доводили pH до 6-7. Далее к смеси добавляли 50 мкл 5M NaCl и 5 мг CTAB, инкубировали при 65ºС в течение 1 часа. Из полученной смеси ДНК выделяли фенол-хлороформной экстракцией: первая экстракция – равным объемом фенол-хлороформ-изоамиловый спирта (25:24:1), вторая – равным объемом хлороформ-изоамилового спирта (24:1). ДНК осаждали добавлением 0,6 объема изопропанола (30 мин при +4ºС) и центрифугировали в течение 3 мин при 12 000 об/мин. Полученный осадок ДНК промывали 70% этанолом, высушивали, после чего растворяли в 50 мкл 1$^{\times}$ TE буфера [20].

Амплификацию маркерных генов проводили в конечном реакционном объеме 25 мкл, содержащем 1$^{\times}$ Phusion HF-буфер, 2,5 мМ $MgCl_2$, 1U Phusion ДНК-полимеразу и 200 мкМ dNTP (*New England BioLabs Inc*.), 25 пмоль каждого праймера и 20 нг экстрагированной ДНК из одного образца. ПЦР проводили при следующих условиях термоциклирования: 95°С в течение 50 с, 65°С в течение 50 с, 68°С в течение 7 мин, и окончательная элонгация 5 мин при 72°С. Амплифицированные продукты ДНК анализировали на горизонтальном электрофорезе в 1% агарозном геле с использованием 1$^{\times}$TAE буферного раствора и EtBr. Параметры протекания электрофореза – 120V, 250 мА, 50W.

Непрямой вариант ИФА. Ячейки 96-луночного планшета для иммунологических реакций сенсибилизировали антигеном в разных концен-

трациях (0,0005 – 0,020 мг/мл), при 4ºС в течение ночи. Для удаления несвязавшегося антигена планшет отмывали 3 раза ФСБ и 3 раза ФСБ с ФСБ-ТВ. После этого вносили антителосодержащую жидкость в количестве 0,1 мл и инкубировали при 37ºС в течение 60 минут. После инкубации планшет отмывали описанным способом для удаления неспецифически связавшихся антител. Затем в лунки планшета вносили антивидовой коньюгат в объеме 0,1 мл и инкубировали при 37ºС в течение 1 часа. Повторяли процедуру отмывки для удаления несвязанных продуктов реакции и в лунки вносили по 0,1 мл раствора субстрата фермента. Субстрат (однокомпонентный раствор тетраметилбензидина – ТМБ) вносили по 100 мкл и инкубировали планшет 10-15 минут при комнатной температуре. Реакцию останавливали добавлением в лунки планшета раствора 0,5М серной кислоты. Результаты ИФА учитывали с помощью спектрофотометра с вертикальным потоком света (*ASYS Expert 96*, Австрия) при длине волны 450 нм.

Для подтверждения результатов ИФА использовали коммерческий набор *Описторх-IgG-ИФА-БЕСТ* (ЗАО «Вектор-БЕСТ», РФ). Постановку ИФА проводят в соответствии с инструкцией к применению данного набора. Перед выполнением теста выполняют предварительное разведение исследуемых сывороток путем внесения в лунки дополнительного планшета 90 мкл раствора для разведения сыворотки (РРС) и 10 мкл сыворотки. Перемешивают путем 3-4 кратного пипетирования. Далее контрольные и опытные образцы вносят в лунки планшета по 100 мкл в следующей последовательности: в лунку А1 вносится положительный контроль (К+); в лунки В1 и С1 отрицательный контроль (К-). Далее в последующие лунки иммунологического планшета вносят 10 мкл разведенной сыворотки и 90 мкл раствора для разведения образца (РРО) и тщательно перемешивают 3 – 4 кратным пипетированием. Далее следовали строго по инструкции.

Результаты исследования и их обсуждение

Первым этапом исследовательской работы являлось обнаружение и выделение метацеркарий описторхид из мышечной ткани рыбы семейства карповых. Отлов рыб проводили в озерах Акмолинской и Карагандинской областях, многие из которых имели сообщение с рекой Нура, являющейся одним из очагов развития трематод семейства *Opisthorchiidae*. На рисунок 1 представлен основной очаг распространения описторхоза.

На карте отмечены озера, из которых была исследована рыба семейства карповых (карп, язь, плотва, плотва, лещ, окунь, карась), где красные точки означают очаг распространения описторхид – это озера Акмолинской области в Коргалжынском (Шолак, Шалкар,Есей, Садырбай) и Атбасарском (р. Колутон) районах, а также р. Куланотпес вблизи с. Ныгман в Карагандинской области. Синими точками отмечены водоемы, где наличие зараженной рыбы не наблюдалось: Целиноградского (оз. Майбалык, р. Нура), Аршаралинского (оз. Байдалы, водохранилище Бирсуат), Астраханского (оз. Камысты) и Коргалжынского (оз. Каражар Биртабан) районов.

Для обнаружения метацеркарий в тканях рыбы использовали компрессионный метод (рисунок 2).

В результате микроскопирования нами были отобраны метацеркарии по морфологическим признакам, соответствующие семейству *Opisthorchiidae* роду *Metorchis spp.* и *Opisthorchis spp.*, что характеризуется их морфологическим строением. Метацеркарии *Metorchis spp.* имеют овальную, округленную форму, длиной 0,23-0,63 мм и шириной 0,12-0,28 мм, темно желтого цвета, хорошо заметны ротовая и брюшная присоски, в задней части экскреторный пузырек округлой формы, заполненный гранулами черного цвета. Метацеркарии *Metorchis spp.* заключены в овальных, тонкостенных, двухслойных гиалиновых цистах. Циста окружена соединительной капсулой.

Зрелые метацеркарии *Opisthorchis spp.* представляют собой цисту овальной формы, внутри которой находится в согнутом состоянии личинка гельминта.

Для определения видовой идентификации метацеркарий, нами использован ПЦР-анализ со специфическими праймерами для маркеров *ITS1* и *ITS2*. Постановку реакции проводили согласно стандартной методике. В результате было доказано, что выделенные метацеркарии принадлежали к видам *O. felineus* и *M. bilis*. Нуклеотидные последовательности исследуемых видов были нами ранее депонированы в базе данных *NCBI GenBank* (изолят *O. felineus* 0827-AKKz01: *ITS1*, MG952283, *ITS2*, MG952281; изолят *M. bilis* 0829-AKKz02: *ITS1*, MG952284, *ITS2*, MG952282).

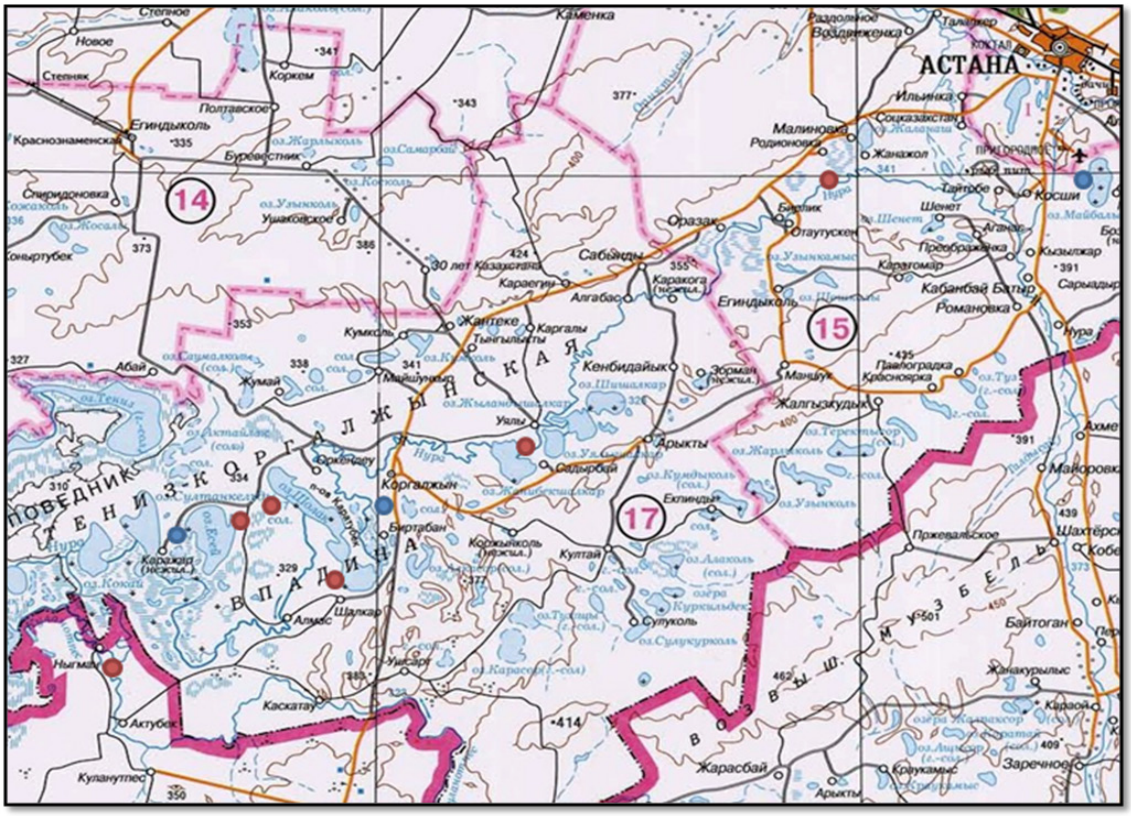
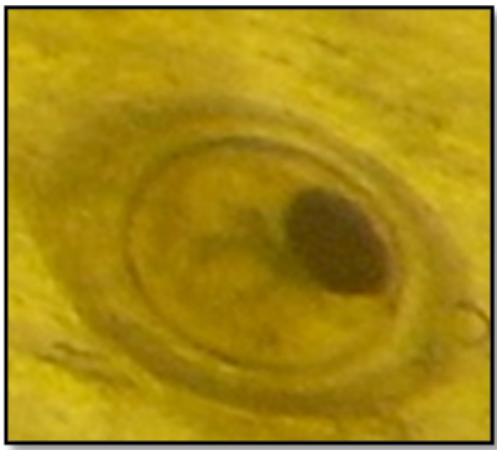
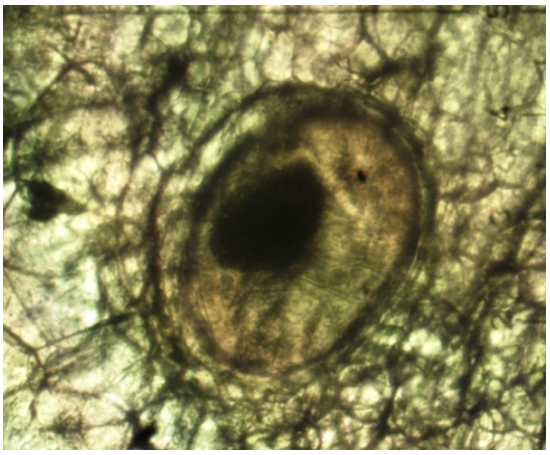


Рисунок 1 – Карта мест вылова рыбы



Metorchis spp.



Opisthorchis spp.

Рисунок 2 – Метацеркарии описторхид, выделенные из мышечной ткани рыбы (минимальная единица измерения масштаба – 10 мкм)

Для выявления распространения возбудителей семейства *Opisthorchiidae* у окончательных хозяев нами совместно с охотниками-промысловиками проведено исследование лис в основных очагах распространения возбудителей. В паразитологическую лабораторию были доставлены тушки лис для полного гельминтологического вскрытия из Акмолинской и Карагандинской области РК.

При исследовании особое внимание уделяли печени и желчному пузырю животных. Желчный пузырь вскрывали и промывали его обо-

лочку физиологическим раствором. С помощью лупы исследовали желчь на наличие паразитов. Исследование печени проводили способом последовательного промывания и сливов жидкости с осадка до полной прозрачности промывных вод. Осадок тщательно просматривали с помощь микроскопа. В результате, у двух особей лис, отстреленных в Карагандинской области, нами было обнаружены половозрелые формы марит *O. felineus* и *M. bilis* (рисунок 3).

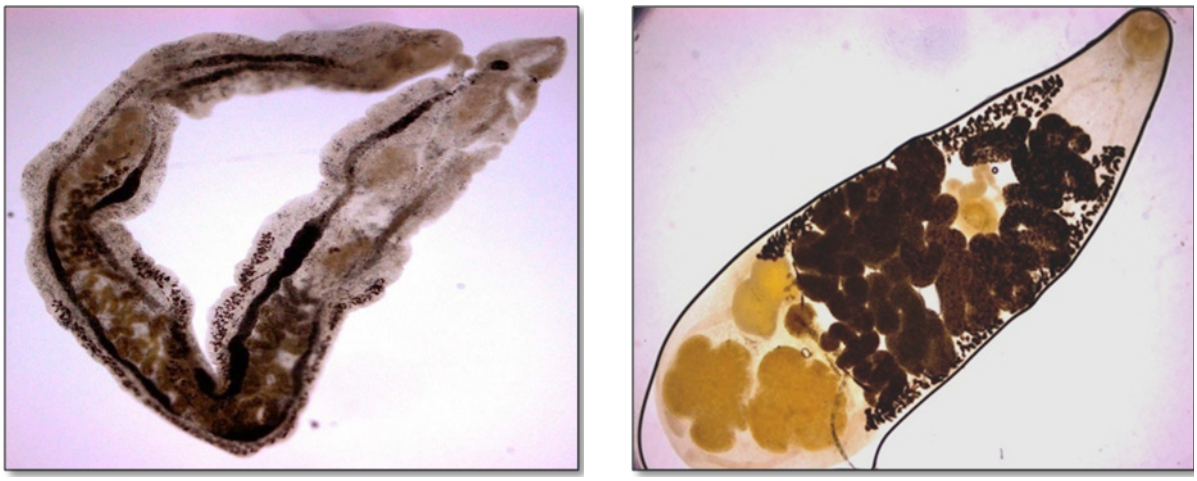


Рисунок 3 – Половозрелые формы марит рода *O. felineus* и *M. bilis*

Трематода рода *Metorchis* – грушевидной формы, размеры гельминта могут достигать 2,5-3,5 мм в длину и около 1,6 мм в ширину. Диаметр ротовой присоски 0,24-0,32 мм, брюшного – 0,3 мм. Хорошо выражены два кишечных ствола, слепо заканчиваются в заднем конце тела. Два семенники расположены в задней части тела паразита. Спереди от семенников находится округлый яичник. Матка расположена в передней части тела.

Opisthorchis – ланцетовидный паразитический червь, имеет вытянутое тело, длина которого составляет 0,8-1,3 см, ширина – 1,2-2,5 мм. Два лопастных семенника расположены в задней части тела, наискосок друг за другом. Петли матки содержатся между кишечными ветвями в средней трети тела. Половые отверстия открываются у переднего края брюшной присоски.

Таким образом, можно сделать вывод, что лисы, обитающие на территории Карагандинской области, инфицированы двумя видами возбудителей – *O. felineus* и *M. bilis* и нами впервые доказана микс инвазия у диких плотоядных в изучаемом регионе.

Как и дикие плотоядные, к окончательному хозяину возбудителей семейства *Opisthorchiidae* относится и человек. Человек заражается, употребляя в пищу недостаточно обработанную речную рыбу. Особенно опасно употреблять копченую, вяленую или соленую рыбу, приготовленную в домашних условиях, в этих случаях, как правило, не происходит уничтожения этого паразита. Также можно заразиться при использовании не обезвреженного после разделки рыбы инвентаря (ножи, посуда, оборудование) для приготовления блюд, не требующих термической обработки (салаты, холодные закуски) [21].

На сегодняшний день единственным достоверным диагностическим признаком возбудителей описторхид является наличие яиц паразита в желчи или фекалиях, однако в течение первого месяца наиболее выраженных клинических проявлений описторхид (боли в печени, тошнота и т.д.), яйца гельминтов в испражнениях, обнаружить не удается, так как возбудители семейства *Opisthorchiidae* начинают яйцепродукцию после достижения половой зрелости в течение 2-3- недель. В это время на первое место в диагностике выходят методы иммунологической и молекулярной диагностики [22].

В Астане за период 2009-2014 гг. зарегистрировано 1027 человек с установленным диагнозом «описторхоз», что составило 15,31%. В последние годы отмечалось снижение заболеваемости описторхозом, эта тенденция сохранилась и в 2018 году, о чем свидетельствует снижение цифр заболеваемости за 8 месяцев 2018 года на 6,91% [23, 24].

Для подтверждения выше представленных данных, нами было исследовано 420 сывороток крови пациентов с подозрением на «описторхоз» методом ИФА на наличие антител иммуноглобулинов класса *G*. Все материалы и образцы были любезно предоставлены ГККП «Городская инфекционная больница» акимата г. Астаны.

По результатам расчетов, из 420 исследованных сывороток 26 образцов оказались положительными на наличие антител класса *G* к антигенам описторха, что в процентном соотношении составляет 6,2%. Отрицательный результат выявили у 393 пациента (93,6%) и у 1 пациента (0,2%) были сомнительные результаты. Данные представлены на рисунке 4.

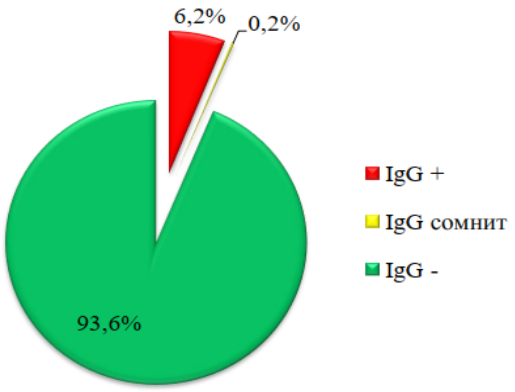


Рисунок 4 – Результаты ИФА образцов сыворотки крови на наличие IgG описторхоза

По данным РГП на ПХВ «Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга» КЗПП МНЭ РК уровень заболеваемости за 8 месяцев 2018 года составил 6,91%. Анализ заболеваемости описторхозом показывает, что в последние годы, нет тенденции к повышению показателя [25].

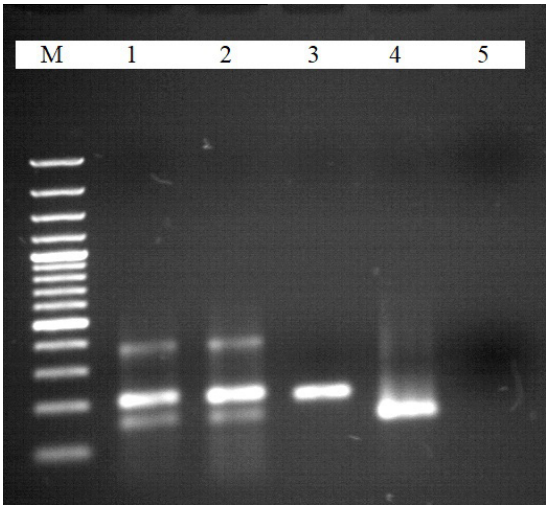
Проведенное нами исследование показало, что за неполный 2018 год, уровень заболеваемости составил 6,2 % и эти показатели соответствуют данным центра санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга.

Недостатком данного метода является, то, что методом ИФА невозможно провести дифференциальную диагностику возбудителей меторхоза и описторхоза при микст-инвазии. Для этого все чаще ученые со всего мира прибегают к молекулярно-генетическим исследованиям [26]. Учитывая ранее представленные результаты наличия микст-инвазии у рыб семейства карповые и диких плотоядных (лисы) в изучаемом регионе, нами было предположено наличие микст-инвазии и у человека, так как основной поток рыбы на рынок г. Астаны идет из основного очага распространения возбудителей семейства *Opisthorchiidae*.

Для подтверждения результатов нами были проведены молекулярно-генетические исследования биологического материала, отобранного у пациентов с подтвержденным методом ИФА диагнозом «описторхоз». Для этого нами использованы видоспецифические праймеры, разработанные для фрагмента *ITS2* между генами рибосомных РНК из ядерных геномов *Metorchis bilis* и *Opisthorchis felineus.*

Нами было исследовано два образца желчи от больных описторхозом, которые дали свое согласие на проведение исследований с учетом соблюдения всех этических вопросов.

Детекцию результатов проводили в 1% агарозном геле.



M – молекулярный маркер 100 bp Gene Ruler (Thermo Scientific, США); 1 – Желчь 1-я проба; 2 – Желчь 2-я проба; 3 – К+ ДНК O. felineus; 4 – К+ ДНК M. bilis; 5 – К-

Рисунок 5 – Результаты ПЦР-анализа

Как видно на электрофореграмме, образцы желчи, проверенные со специфическими праймерами, выявил наличие в двух образцах желчи микст-инвазии.

Заключение

Проанализировав состояние изученности и распространения меторхоза на территории Северного Казахстана, можно сделать вывод о малоизученности данной проблемы. При медицинском и паразитологическом обследовании в обычный диагноз «описторхоз» предполагается включить патологию, вызванную заражением любым из видов *Opisthorchiidae.* Проведенные нами исследования показали наличие микст-инвазии (*O. felineus* и *M. bilis*) у промежуточных и окончательных хозяев на территории Северного Казахстана.

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

Работа выполнена в рамках финансирования Комитета науки МОН РК по бюджетной программе 217 «Развитие науки», подпрограмме 102 «Грантовое финансирование научных исследований» проекту ИРН AP05131132 «ПЦР-тест для детекции и дифференциальной диагностики возбудителей описторхоза и меторхоза» и частично поддержана бюджетным проектом ФБГУН ИЦиГ СО РАН № 03242-2019-0041».

Сокращения и обозначения

ПЦР – полимеразная цепная реакция, об/мин – оборотов в минуту, мг – миллиграмм, мин – минут, нг – нанограмм, ИФА – иммуно-ферментный анализ, ФСБ – фосфатно-солевой буфер, мл – миллилитр, р. – река, оз. – озеро, с. – село

Литература

1 Lin, J.X., Cheng, Y.Z., Li, Y.S., Xu, S.L., Lin, C.X., Chen, B.J., Xiu, W.Q., Zhang, R.Y., Zhu, K., Li, L.,Pan, L.X., Yao, L.Z., Ling, G.H. The discovery of natural infection of human with Metorchis orientalis and the investigation of its focus. // Chin. J. Zoonoses. – 2001. – Vol.17. – P 19-20 [In Chinese].

2 Cameron TWM. The Morphology, Taxonomy, and Life History of Metorchis conjunctus. // Can J Res. – 1944. – Vol. 22d. – P 6-16.

3 Sherrard-Smith E., Stanton D.W.G., Cable J., Orozco-ter-Wengel P., Simpson V.R., Elmeros M., J. van Dijk, Simonnet F., Roos A., Lemarchand C., Poledník L., Heneberg P., Chadwick E.A. Distribution and molecular phylogeny of biliary trematodes (Opisthorchiidae) infecting native Lutra lutra and alien Neovison vison across Europe // Parasitol. Int. – 2016. – Vol. 65. – P. 163-170.

4 Zadesenets K.S., Polyakov A.V., Katokhin A.V., Mordvinov V.A., Rubtsov N.B. Chromosome morphometry in opisthorchiid species (Platyhelminthes, Trematoda). // Parasitology International. – 2017. – Vol. 66. – P. 396-401.

5 Mordvinov V.A., Yurlova N.I., Ogorodova L.M., Katokhin A.V. (2012) Opisthorchis felineus and Metorchis bilis are the main agents of liver fluke infection of humans in Russia. // Parasitol Int. – 2012. – Vol. 61. – P 25-31.

6 Sitko J., Bizos J., Sherrard-Smith E., Stanton D.W., Komorová P., Heneberg P. Integrative taxonomy of European parasitic flatworms of the genus Metorchis Looss, 1899 (Trematoda: Opisthorchiidae) // Parasitol. Int. – 2016. – Vol. 65. – P. 258-267.

7 Brusentsov I.I., Katokhin A.V., Sakharovskaya Z.V., Sazonov A.E., Ogorodova L.M., Fedorova O.S. et al. DNA diagnosis of mixed invasions of Opisthorchis felineus and Metorchis bilis by polymerase chain reaction. // Med. Parazitol. (Mosk). – 2010. – Vol. 2. – P. 10-13.

8 Nöckler K., Dell K., Schuster R., Voigt W.P. Indirect ELISA for the detection of antibodies against Opisthorchis felineus (Rivolta, 1884) and Metorchis bilis (Braun, 1790) in foxes. // Vet Parasitol. – 2003. – Vol. 110. – P. 207-215.

9 Iliinskih E.N., Nowisci V.V., Iliinski N.N., Lepehin A.V. Infestations Opisthorchis felineus (Rivolta, 1884) and Metorchis bilis (Braun, 1890) a person in different regions of the Ob-Irtysh river basin. // Parasitology. – 2007. – Vol. 41(1). P. 55-64.

10 Беэр С.А. Биология возбудителя описторхоза. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. – 336 с.

11 Сидоров Е.Г. Природная очаговость описторхоза. – Алма-Ата: Наука, 1983. – 240 с.

12 Yurlova N.I., Yadrenkina E.N., Rastyazhenko N.M., Serbina E.A., Glupov V.V. Opisthorchiasis in Western Siberia: Epidemiology and distribution in human, fish, snail, and animal populations // Parasitol Int. – 2017. – Vol. 66(4). – P. 355-364.

13 Kiyan V.S., Bulashev A.K., Katokhin A.V. Opisthorchis felineus and Metorchis bilis Metacercariae in Cyprinid Fish Leuciscus idus in Nura-Sarysu River, Kazakhstan. // Korean J Parasitol. – 2018. – Vol. 56 (3). – P. 267-274.

14 Михалева Е.В. Ветеринарно-санитарная оценка описторхозной рыбы и фармакологический эффект препарата Sausurea amara при описторхозе собак: автореф. … канд. биол. наук: 16.00.06. – Казань: Печатный двор, 2005. – 22 с.

15 Кошерова Б.Н., Кусаинова А.С., Сыздыков М.С., Баешева Д.А., Алишева Г.Л. Эпидемиологическая характеристика описторхоза у рыб на примере водоемов Акмолинской области // Медицина и экология. – 2009. – №3 (52). – С. 29-32.

16 Sultanov A., Abdybekova A., Abdibaeva A., Shapiyeva Z., Yeshmuratov T., Torgerson P.R. Epidemiology of fish-borne trematodiasis in Kazakhstan // Acta Trop. – 2014. – Vol. 138. – P. 60-66.

17 Федоров К.П., Наумов В.А., Кузнецова В.Г., Белов Г.Ф. О некоторых актуальных вопросах проблемы описторхидозов человека. // Мед. Паразит. и паразитар. болезни. – 2000. – № 3. – С. 7-9.

18 Kuznetsova V.G., Naumov V.A., Belov G.F. Methorchiasis in the residents of Novosibirsk area, Russia. // Cytobios. – 2000. – Vol. 102. – P. 33-44.

19 Скрябин К.И. Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека. – Г.: Изд-во 1-го Моск. гос. ун-та, 1928. – С. 43.

20 Schuster R.K. Opisthorchiidosis – a review // Infect. Disord. Drug Targets. – 2010. – Vol. 10. – P. 402-415.

21 Богдашир М. Глистные инвазии // Изд-во Litres. – Москва. – 2017. – 231 с.

22 МКБ-10: Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем. Всемирная организация здравоохранения. – Том 1: Часть 2. – 1995. – 633 с.

23 Müller B., Schmidt J., Mehlhorn H. Sensitive and species-specific detection of Clonorchis sinensis by PCR in infected snails and fishes \\ Parasitol Res. – 2007. – Vol. 100. – P. 911-914.

24 Байекеева К.Т., Садыкова А.М., Сейдулаева Л.Б., Умешова Л.А., Исмайлова Б.С. Повсеместно распространенные гельминтозы. // Вестник КазНМУ. – 2017. – №1. – С. 101-108.

25 Сборник материалов «Санитарно-эпидемиологическая ситуация в Республике Казахстан за 2015 год». Комитет по защите прав потребителей МНЭ РК, РГП на ПХВ «Научно-практический центр санитарно эпидемиологической экспертизы и мониторинга» КЗПП МНЭ РК. – Астана. – 2015. – 94 с.

26 Schuster R., Gregor B., Heidrich J., Nockler K., Kyule M. Wittstatt U. A sero-epidemiological survey on the occurrence of opisthorchiid liver flukes in red foxes (Vulpes vulpes) in Berlin, Germany // Parasitol Res. – 2003. – Vol. 90. – P. 400-404.

References

1. Bayekeeva K.T., Sadyikova A.M., Seydulaeva L.B., Umeshova L.A., Ismaylova B.S. (2017) Povsemestno rasprostranennyie gelmintozyi [Ubiquitous helminthiases]. . Vestnik KazNMU. – #1. – S. 101-108. ISBN: 2524-0684.

2. Beer S.A. (2005) Biologiya vozbuditelya opistorhoza [Biology of the pathogen opisthorchiasis]. – M.: Tovarischestvo nauchnyih izdaniy KMK. – 336 s. ISBN 5-87317-204-8.

3. Bogdashir M. (2017) Glistnyie invazii [Helminthic infestations] . Izd-vo Litres. – Moskva. – 231 s.

4. Brusentsov I.I., Katokhin A.V., Sakharovskaya Z.V., Sazonov A.E., Ogorodova L.M., Fedorova O.S. et al. (2010) DNA diagnosis of mixed invasions of Opisthorchis felineus and Metorchis bilis by polymerase chain reaction. . Med. Parazitol. (Mosk). – Vol. 2. – P. 10-13. ISBN 0025-8326.

5. Cameron T.W.M. (1944) The Morphology, Taxonomy, and Life History of Metorchis conjunctus. . Can J Res. – Vol. 22d. – P 6-16.

6. Fedorov K.P., Naumov V.A., Kuznetsova V.G., Belov G.F. (2000) O nekotoryih aktualnyih voprosah problemyi opistorhidozov cheloveka [On some topical issues of the problem of human opisthorchidiasis]. . Med. Parazit. i parazitar. bolezni. – # 3. – S. 7-9. ISBN 0025-8326.

7. Iliinskih E.N., Nowisci V.V., Iliinski N.N., Lepehin A.V. (2007) Infestations Opisthorchis felineus (Rivolta, 1884) and Metorchis bilis (Braun, 1890) a person in different regions of the Ob-Irtysh river basin. . Parasitology. – Vol. 41(1). P. 55-64. ISSN:0031-1847

8. Kiyan V.S., Bulashev A.K., Katokhin A.V. (2018) Opisthorchis felineus and Metorchis bilis Metacercariae in Cyprinid Fish Leuciscus idus in Nura-Sarysu River, Kazakhstan. . Korean J Parasitol. – Vol. 56 (3). – P. 267-274. doi: 10.3347/kjp.2018.56.3.267.

9. Kosherova B.N., Kusainova A.S., Syizdyikov M.S., Baesheva D.A., Alisheva G.L. (2009) Epidemiologicheskaya harakteristika opistorhoza u ryib na primere vodoemov Akmolinskoy oblasti [Epidemiological characteristics of opisthorchiasis in fish on the example of water bodies in Akmola region] . Meditsina i ekologiya. – #3 (52). – S. 29-32. ISBN 2305-6045.

10. Kuznetsova V.G., Naumov V.A., Belov G.F. (2000) Methorchiasis in the residents of Novosibirsk area, Russia. . Cytobios. – Vol. 102. – P. 33-44. ISBN : 0011-4529

11. Lin, J.X., Cheng, Y.Z., Li, Y.S., Xu, S.L., Lin, C.X., Chen, B.J., Xiu, W.Q., Zhang, R.Y., Zhu, K., Li, L.,Pan, L.X., Yao, L.Z., Ling, G.H. (2001) The discovery of natural infection of human with Metorchis orientalis and the investigation of its focus. . Chin. J. Zoonoses.– Vol.17. – P 19-20 [In Chinese]. ISBN 0007-4845.

12. Mihaleva E.V. (2005) Veterinarno-sanitarnaya otsenka opistorhoznoy ryibyi i farmakologicheskiy effekt preparata Sausurea amara pri opistorhoze sobak [Veterinary and sanitary assessment of opisthorchiasis fish and pharmacological effect of Sausurea amara in dogs opisthorchiasis]: avtoref. … kand. biol. nauk: 16.00.06. – Kazan: Pechatnyiy dvor. – 22 s.

13. MKB-10: Mezhdunarodnaya statisticheskaya klassifikatsiya bolezney i problem, svyazannyih so zdorovem. (1995) Vsemirnaya organizatsiya zdravoohraneniya [International Statistical Classification of Diseases and Health Problems. World Health Organization]. – Tom 1: Chast 2. – 633 c. ISBN 5225032680_2.

14. Mordvinov V.A., Yurlova N.I., Ogorodova L.M., Katokhin A.V. (2012) Opisthorchis felineus and Metorchis bilis are the main agents of liver fluke infection of humans in Russia. . Parasitol Int. – Vol. 61. – P 25-31. doi: 10.1016/j.parint.2011.07.021.

15. Müller B., Schmidt J., Mehlhorn H. (2007) Sensitive and species-specific detection of Clonorchis sinensis by PCR in infected snails and fishes \\ Parasitol Res. – Vol. 100. – P. 911-914. DOI: 10.1007/s00436-006-0322-9.

16. Nöckler K., Dell K., Schuster R., Voigt W.P. (2003) Indirect ELISA for the detection of antibodies against Opisthorchis felineus (Rivolta, 1884) and Metorchis bilis (Braun, 1790) in foxes. . Vet Parasitol. – Vol. 110. – P. 207-215.

17. Sbornik materialov «Sanitarno-epidemiologicheskaya situatsiya v Respublike Kazahstan za 2015 god». (2015) Komitet po zaschite prav potrebiteley MNE RK, RGP na PHV «Nauchno-prakticheskiy tsentr sanitarno epidemiologicheskoy ekspertizyi i monitoringa» KZPP MNE RK [Collection of materials «Sanitary and epidemiological situation in the Republic of Kazakhstan for 2015»]. – Astana. – 94 s.

18. Schuster R.K. Opisthorchiidosis – a review . Infect. Disord. Drug Targets. – 2010. – Vol. 10. – P. 402-415. ISBN: 1871-5265.

19. Schuster R., Gregor B., Heidrich J., Nockler K., Kyule M. Wittstatt U. (2003) A sero-epidemiological survey on the occurrence of opisthorchiid liver flukes in red foxes (Vulpes vulpes)
in Berlin, Germany . Parasitol Res. – Vol. 90. – P. 400-404. DOI: 10.1007/s00436-003-0868-8.

20. Sherrard-Smith E., Stanton D.W.G., Cable J., Orozco-ter-Wengel P., Simpson V.R., Elmeros M., J. van Dijk, Simonnet F., Roos A., Lemarchand C., Poledník L., Heneberg P., Chadwick E.A. (2016) Distribution and molecular phylogeny of biliary trematodes (Opisthorchiidae) infecting native Lutra lutra and alien Neovison vison across Europe . Parasitol. Int. – Vol. 65. – P. 163-170. doi: 10.1016/j.parint.2015.11.007.

21. Sitko J., Bizos J., Sherrard-Smith E., Stanton D.W., Komorová P., Heneberg P. (2016) Integrative taxonomy of European parasitic flatworms of the genus Metorchis Looss, 1899 (Trematoda: Opisthorchiidae) . Parasitol. Int. – Vol. 65. – P. 258-267. doi: 10.1016/j.parint.2016.01.011.

22. Sidorov E.G. (1983) Prirodnaya ochagovost opistorhoza [Natural foci of opisthorchiasis]. – Alma-Ata: Nauka. – 240 s. ISBN 0031-1847.

23. Skryabin K.I. (1928) Metod polnyih gelmintologicheskih vskryitiy pozvonochnyih, vklyuchaya cheloveka [Method for complete helminthological dissections of vertebrates, including humans]. – G.: Izd-vo 1-go Mosk. gos. un-ta. – S. 43.

24. Sultanov A., Abdybekova A., Abdibaeva A., Shapiyeva Z., Yeshmuratov T., Torgerson P.R. (2014) Epidemiology of fish-borne trematodiasis in Kazakhstan . Acta Trop. – Vol. 138. – P. 60-66. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.04.030.

25. Yurlova N.I., Yadrenkina E.N., Rastyazhenko N.M., Serbina E.A., Glupov V.V. (2017) Opisthorchiasis in Western Siberia: Epidemiology and distribution in human, fish, snail, and animal populations . Parasitol. Int. – Vol. 66(4). – P. 355-364. doi: 10.1016/j.parint.2016.11.017.

26. Zadesenets K.S., Polyakov A.V., Katokhin A.V., Mordvinov V.A., Rubtsov N.B. (2017) Chromosome morphometry in opisthorchiid species (Platyhelminthes, Trematoda). . Parasitology International. – Vol. 66. – P. 396-401. doi: 10.1016/j.parint.2016.07.004.

9-бөлім

АДАМ ЖӘНЕ ЖАНУАРЛАР ФИЗИОЛОГИЯСЫ

Section 9

HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY

Раздел 9

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

МРНТИ 34.39.53 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b16

Аралбаева А.Н.[1], Маматаева А.Т.[1],
Утегалиева Р.С.[1], Мурзахметова М.К.[2]

[1]Алматинский технологический университет, Казахстан, г. Алматы,
e-mail: Maira.Murzakhmetova@kaznu.kz
[2]Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Тяжелые металлы (в том числе, ртуть, свинец, кадмий) и их соединения относятся к числу распространенных и высокотоксичных веществ, способных к накоплению в живых организмах. Соли тяжелых металлов взаимодействуют с биологическими компонентами клеток, оказывая существенное влияние на функции организма. Ингибирование ферментов и необратимые конформационные изменения макромолекул могут приводить к изменению ряда метаболических процессов. Для оценки потенциальной патофизиологической роли тяжелых металлов при действии на организм и выяснения механизма изолированного и комбинированного действия токсикантов были проведены настоящие исследования влияния ацетата свинца и хлорида ртути на резистентность мембран эритроцитов в условиях in vitro.

Результаты наших исследдований показали, что ацетат свинца и хлорид ртути дозазависимо снижают осмотическую и перекисную резистентность эритроцитов. Следует отметить, что наиболее существенный эффект на гемолиз эритроцитов наблюдается при действии всех исследованных концентраций хлорида ртути. Сравнение проницаемости эритроцитарных мембран при действии возрастающих концентраций ацетата свинца и хлорида ртути показало, что оба токсиканта оказывают повреждающий эффект на состояние мембран эритроцитов, что приводит к дозазависимому повышению гемолиза эритроцитов. Высокие концентрации ацетата свинца и хлорида ртути, равные 20,0 мМ, вызывают максимальное значение гемолиза эритроцитов. Установлено, что совместное действие ионов тяжелых металлов на состояние мембран эритроцитов в условиях in vitro сопровождается снижением резистентности мембран эритроцитов. Показано, что значения эффекта комбинированного действия ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} значительно превосходят значения, полученные при их изолированном влиянии.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что ионы тяжелых металлов как при изолированном, так и при совместном действии оказывают неблагоприятное влияние на состояние мембран эритроцитов.

Ключевые слова: тяжелые металлы, резистентноть, гемолиз, эритроциты.

Aralbaeva A.N.[1], Mamataeva A.T.[1],
Utegalieva R.S.[1], Murzakhmetova M.K.[2]

[1]Almaty Technological University, Kazakhstan, Almaty,
e-mail: Maira.Murzakhmetova@kaznu.kz
[2]al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

Comparative study of heavy metals influence on erythrocyte membrane resistance *in vitro*

Heavy metals (including mercury, lead, cadmium) and their compounds are the common and highly toxic substances that can accumulate in living organisms. Salts of heavy metals interact with the biological components of cells, having a significant impact on body functions. Inhibition of enzymes and irreversible conformational changes in macromolecules can lead to changes in a range of metabolic processes. Investigations of the lead acetate and mercury chloride effects on erythrocyte membranes resistance in vitro condition were carried out to value the potential pathophysiological role of heavy metals on the body and to find out the mechanism of isolated and combined action of toxicants.

The study results have shown that lead acetate and mercury chloride dose-dependently reduce the osmotic and peroxide resistance of erythrocytes. It should be noted that the most significant effect on erythrocyte hemolysis is observed under the action of all concentrations of mercury chloride. Compari-

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

son of the erythrocyte membranes permeability under the action of lead acetate and mercury chloride increasing concentrations showed that both toxicants have a damaging effect on the state of erythrocyte membranes, which leads to a dose-dependent increase in hemolysis. High concentrations of lead acetate and mercury chloride, equal to 20.0 mm, cause the maximum hemolysis value of erythrocytes. The joint action of heavy metal ions on the state of erythrocyte membranes in vitro was accompanied by a decrease in the resistance of erythrocyte membranes. It is shown that the combined action of Pb2 + and Hg2 + ions effect significantly exceeds the values obtained with their isolated effect. The results of our studies have shown that both isolated and combined action of heavy metal ions have an adverse effect on the erythrocyte membranes state. The results of our studies have shown that both isolated and combined action of heavy metal ions have an adverse effect on the erythrocyte membranes state.

Key words: Heavy metals, resistance, hemolysis, erythrocytes.

Аралбаева А.Н.[1], Маматаева А.Т.[1],
Утегалиева Р.С.[1], Мурзахметова М.К.[2]

[1]Алматы Технологиялық Университеті, Қазақстан, Алматы қ.,
e-mail: Maira.Murzakhmetova@kaznu.kz
[2]әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

Ауыр металдардың эритроциттер мембраналарының төзімділігіне *in vitro* жағдайындағы әсерін салыстырмалы түрде зерттеу

Ауыр металдар (соның ішінде сынап, қорғасын, кадмий) мен олардың қосылыстары кең тараған тірі ағзаларда жинақталу қабілеті бар улылығы жоғары заттар қатарына жатады. Ауыр металдардың тұздары клеткалардың биологиялық компоненттерімен әрекеттесіп ағзаның қызметтеріне кері әсерін тигізеді. Ферменттердің жаншылуы және макромолекулалар конформациясының қайтымсыз түрде өзгеруі бірқатар метаболизм процестерінің ауытқуына алып келеді. Ауыр металдардың организмге әсер етуі кезінде патофизиологиялық роліне баға беру үшін және токсиканттардың жекелей және қосарлы әсерінің механизмін анықтау мақсатында қорғасын ацетаты және сынап хлоридінің эритроциттер мембранасының төзімділігіне әсері in vitro жағдайында зерттелді.

Біздің зерттеулеріміздің нәтижесінде сынап және қорғасын тұздары эритроциттердің осмостық және асқын тотықтық резистенттігін концентрацияға тәуелді түрде төмендететіні анықталды. Эритроциттер гемолизіне сынап хлоридінің барлық концентрацияларының әсері жоғары болғандығын ескеру керек. Қорғасын ацетаты мен сынап хлоридінің өспелі концентрацияларының эритроцит мембраналарының өткізгіштігіне әсерін салыстыру барысында, екі токсиканттың да эритроцит мембранасын зақымдап гемолиз дәрежесін арттыратындығы анықталды. Қорғасын мен сынап қосылыстарының 20,0 мМ тең болатын жоғары концентрацияларының әсері эритроциттердің дерліктей толық гемолизге ұшырауына алып келді. Ауыр металдардың эритроциттер мембраналарының күйіне қосарлы әсері in vitro жағдайында эритроцит мембранасының резистенттігінің төмендеуіне алып келетіні белгілі болды. Pb^{2+} және Hg^{2+} иондарының бірлескендегі зақымдаушы әсері олардың оқшаулы түрде әсер еткендегі эффектісінен жоғары болды. Сонымен, біздің зерттеулеріміз көрсеткендей, ауыр металдардың иондары оқшаулы және қосарлы әсер ету кезінде эритроцит мембраналарына зақымдаушы әсер көрсетеді.

Түйін сөздер: ауыр металдар, резистенттілік, гемолиз, эритроциттер.

Введение

Среди большого разнообразия неблагоприятных факторов, влияющих на организм в экологически неблагоприятных регионах, особое место занимают соли тяжелых металлов. Тяжелые металлы (в том числе, ртуть, свинец, кадмий) и их соединения относятся к числу распространенных и высокотоксичных веществ способных к накоплению в живых организмах [1, 2, 3]. Соли свинца, кадмия, ртути и таллия считаются высокотоксичными веществами. В окружающую среду эти соединения поступают в результате как природных процессов, так и деятельности человека.

Одним из основных источников выбросов свинца в атмосферу являются антидетонационные добавки к бензину. Другими источниками поступления свинца в атмосферу являются производство красок, полиграфическое дело, сжигание каменного угля и т.д. [4, 5, 6,7].

Введение свинца в желудок крысам в течение 8 недель приводит к значительному накоплению свинца во всех отделах мозга [8]. Перекисное окисление липидов во всех исследованных образцах после действия свинца усиливается и на-

блюдается линейная корреляция между увеличением ПОЛ и уровнем свинца в ткани. Усиление ПОЛ сопровождается значительным угнетением активности антиоксидантных ферментов: СОД, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Изучение механизмов токсического действия свинца на печень выявило, что в печени тоже наблюдается значительная аккумуляция свинца, которая приводит к усилению липидной пероксидации и ингибированию активности антиоксидантных ферментов [9]. Следовательно, свинец усиливает окислительное повреждение мембран, и таким образом нарушает клеточные функции.

Среди химических соединений, оказывающих неблагоприятное действие на человека, особое место занимает ртуть. Ртуть является одним из наиболее известных токсикантов, оказывающих ряд неблагоприятных эффектов на здоровье человека и животных [10, 11, 12]. Поскольку источников поступления ртути в окружающую среду много, население подвергается влиянию ртути в повседневной жизни, в профессиональной деятельности, и при случайных воздействиях.

Ртуть существует в широком разнообразии физических состояний и химических форм, каждое из которых имеет уникальные характеристики целевой органоспецифичности [13, 14]. Ртуть и ее соединения применяются для производства взрывчатых веществ, хлора, некоторых пестицидов, лечебных препаратов, бумаги, при синтезе пластмасс, красителей, для заполнения измерительных приборов [3, 11]. Токсикант поступает в организм с питьевой водой, пищевыми продуктами, через легкие и кожу. Попадая в организм, ртуть поражает различные системы и органы, а также накапливается в различных тканях. Пары, проникая в организм, поражают желудочно-кишечный тракт, почки, нервную систему с характерным развитием психических и двигательных расстройств [11]. Наиболее высокое накопление токсиканта происходит в почках. Кроме того, имеются данные о токсическом действии $HgCl_2$ на печень при острой и хронической интоксикации. Ртуть относится к тиоловым ядам и вступает в химическое взаимодействие с сульфгидрильными группами белков [14], которым так же принадлежит можно сказать исключительная, ключевая роль в осуществлении биохимических процессов и поддержании жизнедеятельности.

Химические элементы поступают в организм с аэрозолями через дыхательные пути и кожу, а также с пищей через желудочно-кишечный тракт. На всех этапах прохождения через организм элементы могут претерпевать химические превращения, т.е. менять свою химическую форму в результате взаимодействия с биологическими структурами. Наиболее чувствительны к интоксикации неорганическими элементами структура и функции нуклеиновых кислот и белков, мембраны клеток и субклеточных органелл [15]. Следует отметить, что под влиянием токсикантов происходит изменение многих физиологических функций вплоть до развития патологических состояний [16, 17]. Показано, что ионы некоторых тяжелых металлов обладают гемолитическим действием, однако механизмы этих явлений еще недостаточно ясны [18, 19].

Таким образом, анализ литературных данных свидетельствует, что тяжелые металлы оказывают токсическое действие на организм. Поскольку тяжелые металлы встречаются в окружающей среде в виде гетерогенных смесей, совместное воздействие тяжелых металлов на биологические системы может привести к нарушению структуры и функции клеточных мембран, ингибировании ферментов, необратимых изменений белков и нуклеиновых кислот [2, 20, 21, 22].

Следовательно, проблема изучения изолированного и комбинированного действия токсикантов на организм человека и животных приобретает в настоящее время не только общегигиеническую, но и общебиологическую значимость.

Для оценки потенциальной патофизиологической роли тяжелых металлов при действии на организм и выяснения механизма изолированного и комбинированного действия токсикантов были проведены настоящие исследования влияния ацетата свинца и хлорида ртути на резистентность мембран эритроцитов в условиях in vitro.

Материалы и методы исследований

Объект исследования. В соответствии с целью и задачами работы проведены эксперименты на 10 взрослых лабораторных крысах-самцах массой 200-280 г в условиях in vitro.

Выделение эритроцитов. После декапитации крыс, кровь собирали в мерный стакан в присутствии гепарина. Эритроциты получали, центрифугируя кровь 10 мин при 1000g. Плазму и клетки белой крови удаляли, а эритроциты дважды промывали средой инкубации (СИ), содержащей 150 мМ NaCl, 5 мМ Na_2HPO_4 (pH-7,4). Полученную суспензию эритроцитов

использовали для проведения исследований. Перед опытом эритроциты предварительно разводили в 10 раз СИ и инкубировали 5мин при 37°С.

Осмотическая резистентность эритроцитов. Состояние мембран эритроцитов изучали, инкубируя пробы в термостате при 37°С в течение 20 мин в растворах хлористого натрия различной концентрации (0,5 и 0,9 г/100мл). Оптическую плотность регистрировали при длине волны 540 нм. Уровень гемолиза клеток рассчитывали в процентах по отношению к 100%-ному гемолизу, вызванному раствором Na_2CO_3 в концентрации 0,1г/100мл.

Перекисный гемолиз эритроцитов. Интенсивность перекисного гемолиза эритроцитов (ПГЭ) определяли по методу [23] в модификации [24]. Эритроциты разводили 5 раз СИ, инкубировали 10 мин при температуре 37°С и центрифугировали в течение 10 мин при 1000 g. К осадку эритроцитов добавляли такой же объем СИ и по 100 мкл суспензии эритроцитов вносили в 2 мл среды инкубации. Перекисный гемолиз проводили с использованием 1 М раствора H2O2. Для получения полного гемолиза использовали раствор додецилсульфата натрия в концентрации 8 г/100мл. Все пробы инкубировали в течение 2 час при 37°С, затем центрифугировали при 1000 g 10 мин. Оптическую плотность супернатанта измеряли при длине волны 540 нм.

Проницаемость эритроцитарных мембран. (ПЭМ) определяли по методу Колмакова, Радченко [25]. Принцип метода определения ПЭМ гемолиз в смесях изотонических растворов мочевины и хлористого натрия, обусловленный способностью мочевины быстро диффундировать через клеточную мембрану и, создавая гиперосмолярную концентрацию внутри эритроцита, вызывать его набухание с последующим гемолизом.

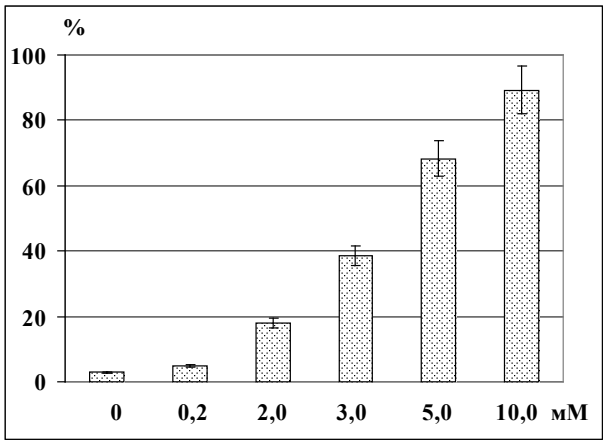
Суспензию эритроцитов добавляли в среду, содержащую растворы мочевины (18 г/л) и NaCl (0,9 г/100 мл) в соотношении 50:50. 100%-ный гемолиз вызывали, помещая суспензию эритроцитов в раствор Na_2CO_3 в концентрации 0,1г/100мл. После 3 минутной инкубации пробы центрифугировали при 1000 g 10 мин и определяли оптическую плотность надосадочной жидкости при длине волны 540 нм. Уровень гемолиза клеток рассчитывали в процентах по отношению к 100%-ному гемолизу, вызванному раствором Na_2CO_3

Статистические методы обработки полученных результатов. Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel, рассчитывая среднюю арифметическую параметра, среднее квадратическое отклонение, ошибку средней арифметической. С учетом критерия Фишера-Стьюдента зарегистрированные изменения показателей считали достоверными при $p \leq 0.05$.

Результаты исследования и обсуждение

Для изучения влияния ацетата свинца и хлорида ртути на состояние клеточных мембран нами были проведены исследования действия возрастающих концентраций токсикантов на гемолиз эритроцитов в гипотонических растворах NaCl. Известно, что в гипотоническом растворе хлорида натрия, эритроциты разрушаются вследствие «набухания» клеток и разрыва клеточной мембраны.

На рисунке 1 приведены данные по влиянию ацетата свинца на осмотическую резистентность эритроцитов в 0,5 г/100 мл NaCl. Из рисунка видно, что концентрация ацетата свинца равная 0,2 мМ оказывает незначительное влияние на степень гемолиза эритроцитов, и количество гемолизированных клеток остается на уровне контроля.



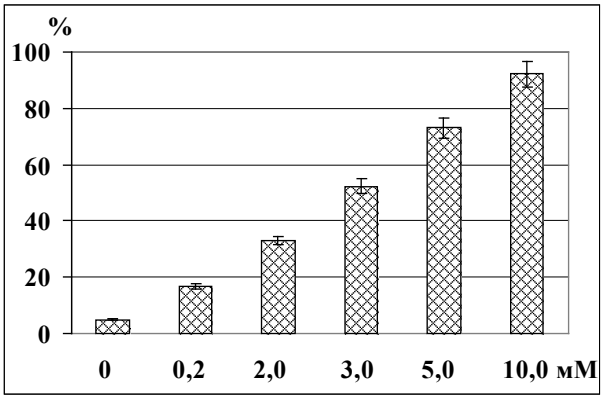
По оси абсцисс: концентрация ацетата свинца, мМ;
по оси ординат: величина гемолиза, %.

Рисунок 1 – Влияние ацетата свинца на осмотическую резистентность эритроцитов

С увеличением концентрации токсиканта с 2,0 до 5,0 мМ наблюдается резкое повышение гемолиза эритроцитов до 68,3±5%, увеличение токсиканта до 10 мМ приводит к дальнейшему

повышению гемолиза, гемолиз достигает величины равной 89,3±5% (p≤0.005).

Данные по влиянию хлорида ртути на осмотическую резистентность эритроцитов в физиологическом растворе NaCl (0,5 г/100 мл) представлены на рисунке 2. Действие токсиканта в концентрации 0,2 мМ приводит к резкому увеличению гемолиза в 4 раза по сравнению с контрольным значением гемолиза эритроцитов без добавления хлорида ртути. Дальнейшее повышение концентрации токсиканта до 2 и 3 мМ вызывает доза-зависимое увеличение гемолиза. Резкое увеличение гемолиза эритроцитов наблюдается при концентрации хлорида ртути равной 5 мМ, гемолиз достигает 73±5%. При более высоких концентрациях хлорида ртути наблюдалось дальнейшее увеличение степени гемолиза, которая достигла максимального уровня 92,2±5% при концентрации токсиканта 10,0 мМ.



По оси абсцисс: концентрация хлорида ртути, Мм;
по оси ординат: величина гемолиза, %.

Рисунок 2 – Влияние хлорида ртути на осмотическую резистентность эритроцитов

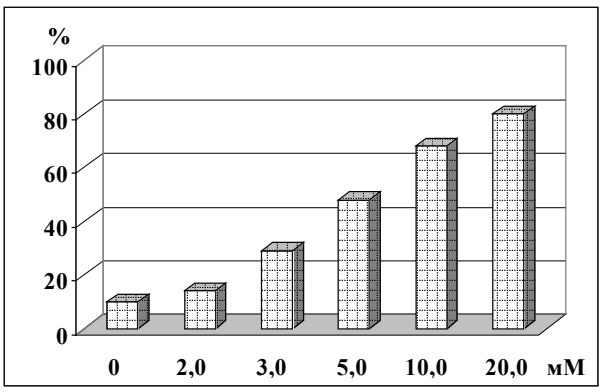
Сравнение результатов экспериментов влияния ацетата свица и хлорида ртути на осмотическую резистентность эритроцитов в физиологическом растворе NaCl показали, что тенденция доза-зависимого увеличения гемолиза наблюдается при действии обоих токсикантов. Следует отметить, что наиболее существенный эффект проявляет хлорид ртути при действии всех исследованных концентраций на осмотический гемолиз эритроцитов.

Результаты опытов по изучению эффектов хлорида ртути и ацетата свинца на перекисную резистентность эритроцитов представлены на рисунках 3 и 4.

Из рисунка 3 видно, что действие ацетата свинца в концентрации 2 мМ вызывает увеличение перекисного гемолиза эритроцитов в 1,5 раза по сравнении с контрольной величиной гемолиза в отсутствии токсиканта. Дальнейшее увеличение концентрации ацетата свинца от 2,0 до 20,0 мМ вызывает доза-зависимый рост гемолиза эритроцитов до 80 %.

Результаты экспериментов по влиянию хлорида ртути на перекисную резистентность эритроцитов показали аналогичные результаты как и при действии ацетата свинца на перекисный гемолиз эритроцитов. Как видно из рисунка 4, наличие в среде инкубации токсиканта в концентрации 2 мМ вызывает увеличивает гемолиз эритроцитов в 2 раза по сравнению с контрольным значением и количество гемолизированных клеток достигает 20,0%. С повышением концентрации хлорида ртути от 2,0 до 10,0 мМ наблюдается доза-зависимое увеличение степени гемолиза от 20,0±1,0 до 74.0±1,5 %. Увеличение количества токсиканта до 20 мМ приводит к дальнейшему подъему уровня гемолиза эритроцитов, который составляет 85,0 ±1,5 %.

Таким образом, результаты опытов по исследованию перекисной резистентности эритроцитов при действии хлорида ртути и ацетата свинца в концентрациях от2,0 до 20,0 мМ показали, что хлорид ртути вызывает усиление перекисного гемолиза по сравнению с ацетатом свинца.

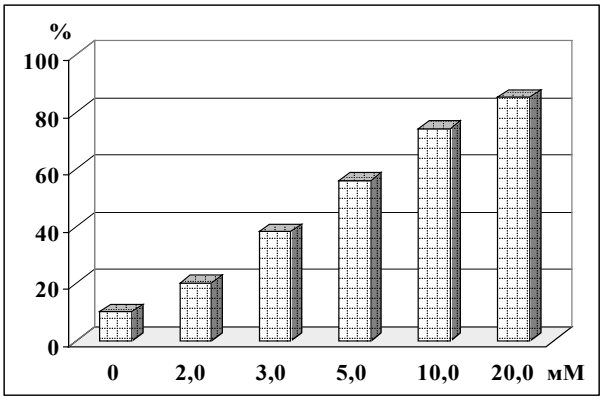


По оси абсцисс: концентрация ацетата свинца в Мм;
по оси ординат: величина гемолиза в % (p≤0,005)

Рисунок 3 – Влияние ацетата свинца на перекисную резистентность эритроцитов

Известно, что токсические соединения могут оказывать свое действие не только при изолированном влиянии на организм. В большинстве

случаев токсиканты действуют совместно или комбинированно, оказывая влияние друг на друга, усиливая или ослабляя токсический эффект. Поэтому в следующей серии экспериментов были проведены сравнительные исследования изолированного и в сочетанного действия на эритроциты Pb^{2+} и Hg^{2+}.



По оси абсцисс: концентрация хлорида ртути мМ;
по оси ординат: величина гемолиза в % % ($p \leq 0,005$)

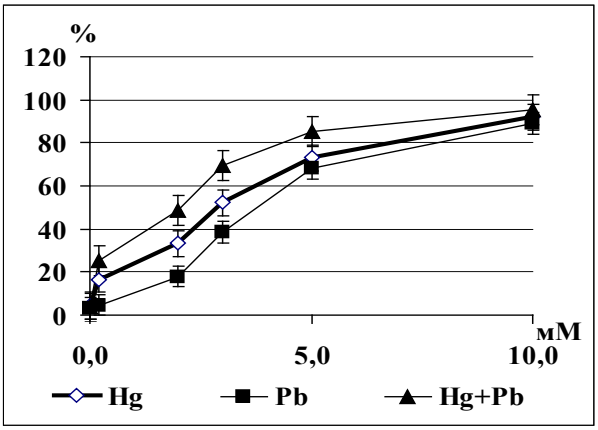
Рисунок 4 – Влияние хлорида ртути на перекисную резистентность эритроцитов

На рисунке 5 представлены результаты исследования изолированного и сочетанного действия ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} на осмотическую резистентность эритроцитов. Ацетат свинца и хлорид ртути как при изолированном, так и при совместном действии оказывают доза-зависимый эффект на осмотический гемолиз эритроцитов. По сравнению с изолированным действием совместное действие токсикантов вызывают увеличение выхода гемоглобина из эритроцитов и повышене гемолиза при всех исследованных концентрациях.

Таким образом, полученные данные выявили, что комбинированное действие Pb^{2+} и Hg^{2+} приводит к еще большему повышению гемолиза эритроцитов по сравнению с их изолированным действием.

Результаты влияния совместного действия Pb^{2+} и и Hg^{2+} на перекисный гемолиз эритроцитов приведены на рисунке 6. Из рисунка видно, что гемолиз эритроцитов увеличился по сравнению с изолированными действиями этих токсикантов при всех исследованных концентрациях. Следовательно, при комбинированном действии Pb^{2+} и Hg^{2+} увеличивают перекисный гемолиз мембран эритроцитов и тем самым увеличивают выход гемоглобина из эритроцитов.

Таким образом, результаты исследований показали, что эффект совместного действия ацетата свинца и хлорида ртути выше по сравнению с их изолированным действием. Следует отметить, что эффекты исследованных токсикантов не суммируются, так как гемолиз при их совместном действии выше на 10-15% по сравнению с их изолированным действием.



По оси абсцисс: концентрация ацетата свинца и хлорида ртути в мМ; по оси ординат: величина гемолиза в %.

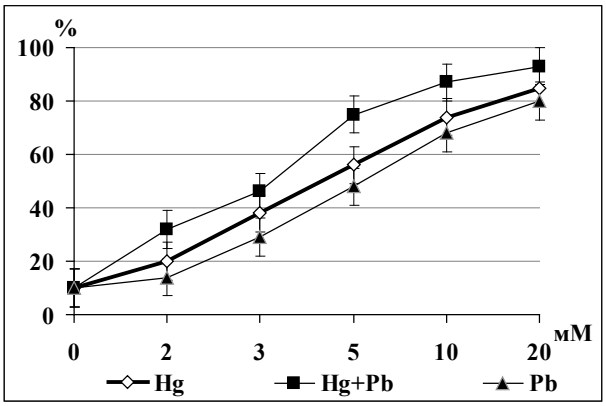
Рисунок 5 – Изолированное и сочетанное влияние ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} на осмотическую резистентность эритроцитов

Для того, чтобы проверить какое влияние оказывают ацетат свинца и хлорид ртути при совместном действии на проницаемость эритроцитарных мембран были проведены следующие исследования. Как видно из рисунка 7, сочетанное влияние ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} на проницаемость эритроцитарных мембран вызывает повышение гемолиза эритроцитов при всех исследованных концентрациях токсикантов.

Таким образом, результаты исследований по сравнению комбинированного действия ионов тяжелых металлов с их изолированным влиянием показали, что при совместном действии эффект исследованных токсикантов значительно превосходил значения, полученные при их изолированном действии.

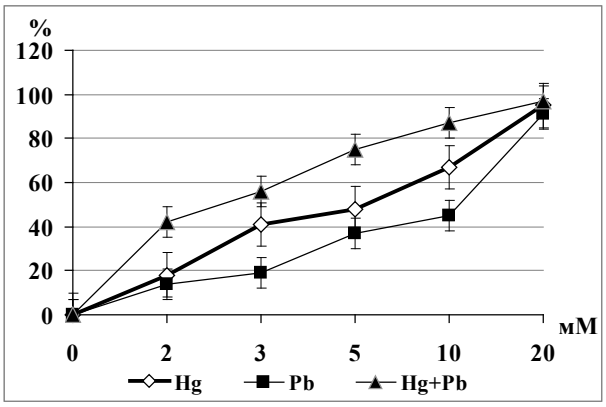
Необходимо отметить, что при сочетанном действии ацетат свинца и хлорид ртути вызывают более выраженные нарушения мембран эритроцитов, что проявляется в большем по сравнению с изолированным действием уровне гемолиза эритроцитов. Сопоставление данных по проницаемости эритроцитарных мембран и осмотической резистентности эритроцитов, по-

зволяет заключить, что наблюдается корреляция: чем больше проницаемость при совместном действии токсикантов, тем выше уровень гемолиза эритроцитов.



По оси абсцисс: концентрация ацетата свинца и хлорида ртути мМ; по оси ординат: величина гемолиза в %.

Рисунок 6 – Изолированное и сочетанное влияние ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} на перекисную резистентность эритроцитов



По оси абсцисс: концентрация ацетата свинца и хлорида ртути ММ; по оси ординат: величина гемолиза в %.

Рисунок 7 – Изолированное и сочетанное влияние ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} на проницаемость эритроцитарных мембран

Обсуждение результатов исследований

Тяжелые металлы, являясь продуктами производственной и бытовой деятельности человека, особо опасны и вредны для организма человека.

Как показали наши исследования, ацетат свинца в диапазоне концентрации от 0,2 до 10 мМ как в гипотоническом (0,5 г/100 мл), так и в физиологическом растворе NaCl доза-зависимо повышали осмотический гемолиз мембран эритроцитов. При концентрации ацетата свинца равной 10 мМ наблюдалось увеличение гемолиза до максимальных значений 89,3±5% ($p \leq 0.005$).

Аналогичные результаты получены при исследовании осмотического гемолиза эритроцитов под действием хлорида ртути. Исследование влияния ионов Hg^{2+} на состояние мембран эритроцитов показало, что при низких концентрациях (0,2 мМ) ионы резко повышали гемолиз эритроцитов, увеличивая уровень гемолиза в 4 раза по сравнению с контрольной величиной. Дальнейшее увеличение концентрации токсиканта дозазависимо снижало резистентность эритроцитов и при концентрации хлорида ртути равной 5-10 мМ наблюдается практически полный гемолиз эритроцитов.

При повышении концентрации токсикантов доза-зависимо увеличивается проницаемость мембран и перекисный гемолиз эритроцитов.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что гемолиз эритроцитов повышается с увеличением концентраций исследуемых токсических соединений. Ранее было показано, что Pb^{2+} повышает проницаемость мембран эритроцитов для катионов, снижает деформируемость эритроцитов, непосредственно взаимодействуя с гемоглобином, способен вызывать образование супероксидных радикалов [26]. В литературе имеются сведения, что гемолиз эритроцитов под действием тяжелых металлов связан с развитием перекисных процессов в мембране эритроцитов [18, 19, 26, 27]. Ранее было также предположено, что активация перекисного окисления липидов может вносить вклад в токсическое действие ионов Pb^{2+} у человека [28]. Кроме того, имеются данные, что перекисное окисление предшествует гемолизу. Активные формы кислорода, генерируемые металл-индуцированным автоокислением гемоглобина, способны к инициации процессов перекисного окисления липидов мембран, в результате чего изменяется физико-химическое состояние мембран

К настоящему времени большое значение приобретают исследования комбинированного действия токсикантов на организм. Изучение комбинированного действия химических веществ особо важно потому, что в окружающей среде содержатся тысячи видов вредных химических веществ и человек подвергается воздействию не одного какого-то соединения, а комплекса токсикантов. Кроме того, при комбинированном действии токсических соединений

эффекты могут отличаться от их изолированного воздействия [29]. Помимо самостоятельного влияния на различные функции организма многие чужеродные для человека вещества при комбинированном воздействии оказывают влияние друг на друга, усиливая или ослабляя токсическое действие [29]..

Комбинированное влияние ионов свинца и ртути приводит к увеличению уровня гемолиза эритроцитов по сравнению с их изолированным действием. Изменение проницаемости мембраны эритроцитов под действием исследованных токсических соединений, по-видимому, происходит в результате изменения физико-химического состояния липидного бислоя мембран, что и способствует выходу гемоглобина из эритроцитов. Как показали наши исследования, совместное действие ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} приводит к резкому увеличению выхода гемоглобина из эритроцитов. Необходимо отметить, что при сочетанном действии токсикантов гемолиз значительно выше, чем сумма показателей гемолиза при их изолированном действии. Можно предположить, что при комбинированном действии происходит взаимная активация гемолитических эффектов ионов тяжелых металлов.

Заключение

Результаты наших исследдований показали, что ацетат свинца и хлорид ртути доза-зависимо снижают осмотическую резистентность эритроцитов. Следует отметить, что наиболее существенный эффект на осмотический гемолиз эритроцитов наблюдается при действии всех исследованных концентраций хлорида ртути.

Результаты опытов по исследованию перекисной резистентности эритроцитов показали, что действие хлорида ртути и ацетата свинца при концентрации токсикантов до 20,0 мМ показали, что хлорид ртути вызывает усиление перекисного гемолиза по сравнению с ацетатом свинца.

Сравнение проницаемости эритроцитарных мембран при действии возрастающих концентраций ацетата свинца и хлорида ртути показали, что оба токсиканта оказывают повреждающий эффект на состояние мембран эритроцитов, что приводит к дозазависимому повышению гемолиза эритроцитов. Высокие концентрации ацетата свинца и хлорида ртути, равные 20,0 мМ вызывают максимальное значение гемолиза эритроцитов.

Установлено, что совместное действие ионов тяжелых металлов на состояние мембран эритроцитов в условиях in vitro сопровождается снижением резистентности мембран эритроцитов. Показано, что эффект комбинированного действия ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} значительно превосходят значения, полученные при их изолированном влиянии.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что ионы тяжелых металлов как при изолированном, так и при совместном действии оказывают неблагоприятное влияние на состояние мембран эритроцитов.

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

Литература

1 Ершов Ю.А., Плетенева Т.В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. – М.: Медицина, 1989 – 272 с.

2 Wu X., Cobbina S. J., Mao G., Xu H., Zhang Z., Yang L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2016. – Vol. 23. – P. 8244–8259.

3 Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K. N.Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals // Interdiscip. Toxicol. – 2014. – Vol. 7, No 2. – P. 60–72.

4 Jomova K., Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease // Toxicology. – 2011 – Vol. 283. – P. 65–87.

5 Flora G., Gupta D. and Tiwari A. Toxicity of lead: A review with recent updates // Interdiscip Toxicol. – 2012. – Vol. 5, No 2. – P. 47–58.

6 Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K.N.. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals // Interdiscip. Toxicol.- 2014. – Vol. 7, No 2. – P.60-72.

7 Wani A.L., Ara A., and Usmani J.A. Lead toxicity: a reviewInterdiscip. // Toxicol. – 2015. – Vol. 8, No 2.- P. 55–64.

8 Sandhir R., Julka D., Gill K.D. Lipoperoxidative damage on lead exposure in rat brain and its implications on membrane bound enzymes // Pharmacol.Toxicol. – 1994. – Vol.74, No 2. – P.66-71.

9 Sandhir R., Gill K.D. Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats // Biol..Trace Elem. Res. – 1995. – Vol.48, No 1. – P. 91-97.

10 Kazantzis G. Mercury exposure and early effects: an overview // Med. Lav. – 2002. -Vol. 93, N 3. – P. 139-147.

11 Driscoll C.T., Mason R.P., Chan H.M., Jacob D.J., Pirrone N. Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects // Environ. Sci. Technol. – 2013. – Vol. 47, No 10. – P. 4967-4983.

12 Magos L., Clarkson TW. Overview of the clinical toxicity of mercury // Ann. Clin. Biochem. – 2006. – Vol. 43(Pt 4). – P.257-268.

13 Guzzi G., La Porta CA.Molecular mechanisms triggered by mercury // Toxicology. – 2008. – Vol. 244, No 1. – P. 1-12.

14 Bernhoft R.A. Mercury toxicity and treatment: a review of the literature // J. Environ. Public Health.- 2012. – Vol. 2012. – 460508.

15 Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress // Curr. Med. Chem.-2005. – Vol.12, No 10. – P. 1161-1208.

16 Ercal N, Gurer-Orhan H, Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage // Curr Top Med Chem. -2001. -Vol.1, No 6. – P.529-539.

17 Valko M., Jomova K., Rhodes C. J., Kucˇa K., Musнlek K. Redox and non redox metal induced formation of free radicals and their role in human disease // Arch. Toxicol. – 2016. – Vol. 90. – P. 1–37.

18 Karai I., Fukumoto K., Kageyama K., Horiguchi S. Effect of lead in vitro on water metabolism and osmotic fragility of human erythrocytes // Br. J. Ind..Med. – 1982. – Vol. 39, No 3. – P.295-296.

19 Ahmad S., Mahmood R. Mercury chloride toxicity in human erythrocytes: enhanced generation of ROS and RNS, hemoglobin oxidation, impaired antioxidant power, and inhibition of plasma membrane redox system // Environ. Sci. Pollut. Res. Int.- 2019. – Vol. 26, No 6. P.5645-5657.

20 Фурдуй Ф.И., Хайдарлиу С.Х., Мамалыга Л.М. Комбинированное воздействие на организм экстремальных факторов. Кишинев: Штиина, 1985 – 140 с.

21 Lin X., Gu Y., Zhou Q., Mao G., Zou B. and Zhao J.Combined toxicity of heavy metal mixtures in liver cells // J. Appl. Toxicol. – 2016. – Vol. 36. – P.1163-1172.

22 Venter C., Oberholzer H.M., Cummings F.R., Bester M.J. Effects of metals cadmium and chromium alone and in combination on the liver and kidney tissue of male Spraque-Dawley rats: An ultrastructural and electron-energy-loss spectroscopy investigation // Microsc. Res. Tech. – 2017. – Vol. 80, No 8. – P. 878-888.

23 Покровский А.А., Абрарова А.А. К вопросу о перекисной резистентности эритроцитов // Вопр. Питания. – 1964. – № 16. – С. 44-49.

24 Мирошина Т.Н., Мурзахметова М.К., Утегалиева Р.С., Шайхынбекова Р.М., Михалкина Н.И. Корригирующее влияние индоламинов на состояние мембран эритроцитов при действии тяжелых металлов // Вестник КазНУ им. аль-Фараби. Серия биол. – 2002. – № 3. – С. 80-86.

25 Колмаков В.Н., Радченко В.Г. Значение определения проницаемости эритроцитарных мембран (ПЭМ) в диагностике хронических заболеваний // Терапевтический архив. – 1982. – Т.54, № 2. – С. 59-62.

26 Ribarov S.R., Benov L.C. Relationship between the hemolytic action of heavy metals and lipid peroxidation // Biochim. Biophys. Acta. – 1981. – Vol. 640, No 3. – P. 721 – 726.

27 Fernandes A., Mira M.L., Azevedo M.S., Manso C. Mechanisms of hemolysis induced by copper // Free Radic. Res. Commun. – 1988. – Vol. 4, No 5. – P. 291-298

28 Nikolić R., Krstić N., Jovanović J., Kocić G., Cvetković T.P., Radosavljević-Stevanović N. Monitoring the toxic effects of Pb, Cd and Cu on hematological parameters of Wistar rats and potential protective role of lipoic acid and glutathione // Toxicol. Ind. Health. – 2015. – Vol. 31, No 3. – P. 239-246.

29 Carpenter D.O., Arcaro K.F., Bush B., Niemi W.D., Pang S., Vakharia D.D. Human health and chemical mixtures: an overview // Environ. Health Perspect. – 1998. – Vol. 106, No 6. – P. 1263-1270.

References

1 Ahmad S., Mahmood R. (2019) Mercury chloride toxicity in human erythrocytes: enhanced generation of ROS and RNS, hemoglobin oxidation, impaired antioxidant power, and inhibition of plasma membrane redox system. Environ. Sci. Pollut .Res. Int., vol. 26, no 6, pp.5645-5657.

2 Bernhoft R.A. (2012) Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. J. Environ. Public. Health, vol. 2012:460508.

3 Carpenter D.O., Arcaro K.F., Bush B., Niemi W.D., Pang S., Vakharia D.D. (1998) Human health and chemical mixtures: an overview. Environ. Health Perspect., vol. 106, no 6. pp. 1263-1270.

4 Driscoll C.T., Mason R.P., Chan H.M., Jacob D.J., Pirrone N. (2013) Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. Environ. Sci. Technol., vol. 47, no 10, pp. 4967-4983.

5 Ercal N, Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. (2001) Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. Curr. Top. Med. Chem., vol.1, no 6, pp. 529-539.

6 Ershov Yu.A., Pleteneva T.V. (1989) Mehanizmyi toksicheskogo deystviya neorganicheskih soedineniy [Mechanisms of toxic action of inorganic compounds]. M.: Meditsina, 272 p.

7 Fernandes A., Mira M.L., Azevedo M.S., Manso C. (1988) Mechanisms of hemolysis induced by copper. Free Radic. Res. Commun. vol. 4, no 5, pp. 291-298.

8 Flora G., Gupta D. and Tiwari A. (2012) Toxicity of lead: A review with recent updates. Interdiscip. Toxicol., vol. 5, no 2, pp. 47–58.

9 Furduy F.I., Haydarliu S.H., Mamalyiga L.M. (1985) Kombinirovannoe vozdeystvie na organizm ekstremalnyih faktorov [Combined effects on the body of extreme factors]. Kishinev: Shtiina, 140 p.

10 Guzzi G., La Porta CA. (2008) Molecular mechanisms triggered by mercury. Toxicology, vol. 244, no 1, pp. 1-12.

11 Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K. N. (2014) Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. Interdisci.p Toxicol., vol. 7, no 2, pp. 60–72.

12 Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K.N. (2014) Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. Interdiscip. Toxicol., vol. 7, no 2 pp. 60-72.

13 Jomova K., Valko M. (2011) Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. Toxicology, vol. 283, pp. 65–87.

14 Karai I., Fukumoto K., Kageyama K., Horiguchi S. (1982) Effect of lead in vitro on water metabolism and osmotic fragility of human erythrocytes. Br. J. Ind. Med. vol. 39, no 3. pp. 295-296.

15 Kazantzis G. (2002) Mercury exposure and early effects: an overview. Med. Lav., vol. 93, no 3, pp. 139-147.

16 Kolmakov V.N., Radchenko V.G. (1982) Znachenie opredeleniya pronitsaemosti eritrotsitarnyih membran (PEM) v diagnostike hronicheskih zabolevaniy [The value of determining the permeability of erythrocyte membranes (PEM) in the diagnosis of chronic diseases]. Terapevticheskiy arhiv. vol.54, no 2, pp. 59-62.

17 Lin X., Gu Y., Zhou Q., Mao G., Zou B. and Zhao J. (2016) Combined toxicity of heavy metal mixtures in liver cells. J. Appl. Toxicol., vol. 36, pp. 1163-1172.

18 Magos L., Clarkson TW. (2006) Overview of the clinical toxicity of mercury. Ann. Clin. Biochem., vol. 43(Pt 4), pp. 257-268.

19 Miroshina T.N., Murzahmetova M.K., Utegalieva R.S., Shajhynbekova R.M., Mihalkina N.I. (2002) Korrigiruyuschee vliyanie indolaminov na sostoyanie membran eritrotsitov pri deystvii tyazhelyih metallov [Corrective effect of indoleamines on the state of erythrocyte membranes under the action of heavy metals]. Vestnik KazNU im. Al-Farabi. Seriya biol. no 3, pp. 80-86.

20 Nikolić R., Krstić N., Jovanović J., Kocić G., Cvetković T.P., Radosavljević-Stevanović N. (2015) Monitoring the toxic effects of Pb, Cd and Cu on hematological parameters of Wistar rats and potential protective role of lipoic acid and glutathione. Toxicol. Ind. Health, vol. 31, no 3, pp.239-46.

21 Pokrovskiy A.A., Abrarova A.A. (1964) K voprosu o perekisnoy rezistentnosti eritrotsitov [To the question about peroxide resistance of erythrocytes]. Vopr. Pitaniya, vol. 16, pp. 44-49.

22 Ribarov S.R., Benov L.C. (1981) Relationship between the hemolytic action of heavy metals and lipid peroxidation . Biochim. Biophys. Acta, vol. 640, no 3. pp. 721 – 726.

23 Sandhir R., Gill K.D. (1995) Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats. Biol. Trace. Elem. Res., vol.48, no 1. – pp. 91-97.

24 Sandhir R., Julka D., Gill K.D. (1994) Lipoperoxidative damage on lead exposure in rat brain and its implications on membrane bound enzymes. Pharmacol. Toxicol., vol.74, no 2, pp. 66-71.

25 Valko M., Jomova K., Rhodes C. J., Kucˇa K., Musнlek K. (2016) Redox and non redox metal induced formation of free radicals and their role in human disease. Arch. Toxicol., vol. 90, pp. 1–37.

26 Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress (2005) Curr Med Chem., vol.12, no 10, pp.1161-1208.

27 Venter C., Oberholzer H.M., Cummings F.R., Bester M.J. (2017) Effects of metals cadmium and chromium alone and in combination on the liver and kidney tissue of male Spraque-Dawley rats: An ultrastructural and electron-energy-loss spectroscopy investigation. Microsc. Res. Tech., vol. 80, no 8, pp. 878-888.

28 Wani A.L., Ara A., Usmani J.A. (2015) Lead toxicity: a review. Interdiscip. Toxicol., vol. 8, no 2, pp. 55–64.

29 Wu X., Cobbina S. J., Mao G., Xu H., Zhang Z., Yang L. (2016) A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. Environ. Sci. Pollut. Res., vol. 23, pp. 8244–8259.

FTAMP 34.39.27 DOI: https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b17

Әбдірешов С.Н.[2], Атанбаева Г.Қ.[1*], Төлеуханов С.Т.[1], Долқын М.[1], Рагипова Ф.К.[1], Зиядаева А.О.[3]

[1]әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.,
[*]e-mail: gulshat.atanbaeva@kaznu.kz; SNABDRESHOV@mail.ru
[2]ҚР БҒМ ҒК Адам және жануарлар физиологиясы институты, Қазақстан, Алматы қ.
[3]Алматы технологиялық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

ЖАНУАРЛАРДЫҢ МЫРЫШ ТҰЗДАРЫМЕН УЛАНҒАННАН КЕЙІНГІ ҚАН МЕН ЛИМФАДАҒЫ БИОХИМИЯЛЫҚ ӨЗГЕРІСТЕРІН АНЫҚТАУ

Бұл мақалада мырыш сульфатының әсері кезінде егеуқұйрықтар лимфасындағы клеткалық және биохимиялық көрсеткіштері зерттелінген. Мырыш тұздарымен улану кезіндегі гемоглобин концентрациясының 12,61%-ға артуы, салыстырмалы түрдегі эритроцитоз және созылмалы гипоксияның дамуының көрінісі болатындығы анықталған. Егеуқұйрықтарды мырыш тұздарымен уландырудан кейін олардың лимфаларында осмостық қысымның жоғарылауы байқалады, сонымен бірге лимфадағы жалпы белок мөлшері 19%-ға төмендеуі байқалады. Сондай-ақ мырыш тұздары лимфадағы, онымен тасымалданатын ақуыздардың, лимфа түйіндерінің, бауырдың, ішек қабырғасының протеолиздік белсенділігін төмендетеді. Уланудан кейін жалпы белок мөлшері 32,03%-ға төмендеуі, қан және лимфа айналу жүйесіне белоктық тасымалданудың төмендеуі жайлы, сонымен бірге лимфа тамырлары мен түйіндерінің жиырылу белсенділігінің төмендеуі жайлы ақпарат береді.

Биохимиялық зерттеулердің нәтижесінде лимфаның клеткалық және биохимиялық көрсеткіштерінің өзгерістерге ұшырайтындығы анықталды, әрі жекелеген мүшелерде жинақталып және біртұтас организм қызметтерінде ауқымды өзгерістер тудыратындығы анықталды. Улану кезінде сілтілі фасфотаза мөлшері 22-65%-ға дейін жоғарылағаны, сонымен бірге аминотрансфераза ферменттерінің деңгейінің артқандығы байқалды, мұның барлығы бауыр қызметінің бұзылып, бауырдың цитологиялық үдерістерінің күшейгенін, белок синтезінің төмендегенін білдіреді және зат алмасудың тасымалдануының бұзылғандығын көрсетеді. Егеуқұйрықтарды мырыш тұздарымен уландырудан кейін мойын және шажырқай лимфа түйіндерінің көлемдері ұлғайғандығы байқалады. Лимфа тамырларындағы лимфа арнасының баяулағаны байқалды, уланудан кейін 21,2%-ға төмендеді. Алынған мәліметтер мырыш тұздарының организмге кері әсері туралы кешенді мәліметтерді қалыптастыруға мүмкіндік берді және шешудің ғылыми негізі бола алады.

Түйін сөздер: гемоглобин, егеуқұйрықтар, лимфа, лимфа ағысы, мырыш сульфаты, эритроцит.

Abdreshov S.N.[2], Atanbaeva G.K.[1*], Tuleuhanov S.T.[1], Dolkyn M.[1],Ragipova F.K.[1], Ziadayeva A.O.[3]

[1]Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty,
*e-mail: gulshat.atanbaeva@kaznu.kz; SNABDRESHOV@mail.ru
[2]Institute of Human and Animal Physiology SK MES RK, Kazakhstan, Almaty
[3]Almaty Technological University, Kazakhstan, Almaty

Determination of biochemical changes in the blood and lymph after poisoning zinc salts animals

This article studies the cellular and biochemical parameters of rat lymph after exposure to zinc sulfate. It was found that an increase in hemoglobin concentration by 12.61% after administration of zinc salts is an indicator of the development of relative erythrocytosis and chronic hypoxia. After the administration of zinc salts in rats, there is an increase in osmotic pressure in the lymph, as well as the overall level of proteins in the lymph is reduced by 19%. Zinc salts also reduce proteolytic activity in lymph, proteins, lymph nodes, liver, intestinal wall. The decrease in the total amount of protein after poisoning by 32.03% informs about the decrease in protein transportation to the blood system and lymphatic system, as well as about the decrease in the activity of reduction of lymphatic vessels and nodes. As a

 © 2019 Al-Farabi Kazakh National University

result of biochemical studies, it was found that lymph is subject to changes in cellular and biochemical parameters that accumulate in individual organs and cause significant changes in the function of a single organism. In case of poisoning, there was an increase in the content of alkaline phosphotase to 22-65%, as well as an increase in the level of aminotransferase enzymes, which indicates a violation of liver function, an increase in liver cytological processes, a decrease in protein synthesis and a violation of metabolic transport. After poisoning rats with zinc salts, there is an increase in the size of the cervical and spotty lymph nodes. There is a slowdown of the lymphatic channel in the lymphatic vessels, a decrease after poisoning by 21.2%. The data obtained made it possible to form a set of data on the negative impact of zinc salts on the body and can serve as a scientific basis for the solution.

Key words: hemoglobin, rats, lymph, lymphatic flow, zinc sulfate, erythrocyte.

Абдрешов С.Н.[2], Атанбаева Г.К.[1*], Тулеуханов С.Т.[1],
Долкын М.[1], Рагипова Ф.К.[1], Зиядаева А.О.[3]

[1]Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казакстан, г. Алматы,
*e-mail: gulshat.atanbaeva@kaznu.kz; SNABDRESHOV@mail.ru
[2]Институт физиологии человека и животных КН МОН РК, Казакстан, г. Алматы
[3]Алматинский технологический университет, Казакстан, г. Алматы

Определение биохимических изменений в крови и лимфе после отравления цинковыми солями животных

В данной статье изучаются клеточные и биохимические показатели лимфы крысы после воздействия сульфата цинка. Выявлено, что увеличение концентрации гемоглобина на 12,61% после отправления солями цинка является показателем развития относительного эритроцитоза и хронической гипоксии. После отправления крыс солями цинка наблюдается увеличение осмотического давления в лимфе, а также общий уровень белков в лимфе снижается на 19%. Соли цинка также снижают протеолитическую активность в лимфе, переносимых им белков, лимфатических узлов, печени, кишечной стенки. Снижение общего количества белка после отравления на 32,03% информирует о снижении белковой транспортировки в систему крови и лимфатическую систему, а также о снижении активности сокращения лимфатических сосудов и узлов. В результате биохимических исследований выяснилось, что лимфа подвержена изменениям клеточных и биохимических показателей, которые накапливаются в отдельных органах и вызывают значительные изменения в функции единого организма. При отравлении наблюдалось повышение содержания щелочной фасфотазы до 22-65%, а также повышение уровня ферментов аминотрансферазы, что свидетельствует о нарушении функции печени, усилении цитологических процессов печени, снижении синтеза белка и нарушении транспорта обмена веществ. После отравления крыс цинковыми солями наблюдается увеличение размеров шейных и пятнистых лимфатических узлов. Отмечается замедление лимфатического канала в лимфатических сосудах, снижение после отравления на 21,2%. Полученные данные позволили сформировать комплекс данных о негативном воздействии солей цинка на организм и могут служить научной основой решения.

Ключевые слова: гемоглобин, крысы, лимфа, лимфатический поток, сульфат цинка, эритроцит.

Кіріспе

Адам организміне мырыш өсімдік және жануарлар суық түлігімен бірге түсіп отырады. Мырыш қосындылары тұрмыстық жағдайда кең таралғанын айтып өту керек: мысалы мырыш тотығы резеңке өнімдерінің және бояудың құрамына, Мырыш батареяларда, автомобиль бөлшектерінде, мырыш оксиді кремдерін, дәрменді және минералды қоспаларда, найзағай ілгектерінде, ойын автоматтарының тақтайларында, үй жануарларына арналған бұрандалар мен гайкаларда және құбырлар мен ыдыстардың кейбір түрлерінде болуы мүмкін. Өткен кезеңдерде мырыштың жетіспеушілігі Орталық Еуропа халықтарында ергежейліктің пайда болуына себепші болды. Мырыш бірнеше ферменттердің, мысалы пептидазалы және эстеразалы белсенділікке ие. Мырышты кадмийге немесе сынапқа ауыстырғанда пептидазалық белсенділік жоғалады, ал эстеразалық күшейеді [1]. Иммунологиялық үрдісте мырыштың рөлін айта отырып, оның басқада қасиетін сипаттауымыз қажет [2].

Мырыш организмдегіде белоктармен қосылып 2 г мөлшерінде кездеседі. Бірақ оны «өмір металы» деп бекер атамайды. Түрлі ферменттердің құрамына кіретін 100-ден аса мырыш-протеиндердің бар екені белгілі: дегидрогенеза, ДНҚ- және РНҚ полимераза. Со-

нымен қатар мырыш клеткалық органеллалар мембранасының құрамында кезедеседі: лизосома және митохондрия. Мырыш гемоглобин молекуласының функциональдық күшін өзгерте отырып организмдегі мырыштың 85% карбоангидраза тыныс алу ферментінің құрамына кіреді, сондықтан оның антисептикалық маңызы зор [3, 4].

Инсулин құрамына кіре отырып мырыш көмірсутекті алмасудың регуляциясы үшін қажет. Организмдегі мырыштың жетіспеушілігі қант диабетінің болуымен жиі сипатталмайды. Тағамда қанттың көп болуы организмнің мырышты қортыуына бөгет жасайды. Мырыш организмде А дәруменінің қорытылуына аса қажет және көздің көру өткірлігін сақтайды [5, 6].

Көп жағдайда интелект организмде мырыштың жетіспеушілік күйімен анықталады. Үлгерімі жақсы студенттерде мырыш нашар оқитындармен салыстырғанда шаштарында көп кездесті [7]. Стресс жағдайында организмде ұлпаның «бос радикальды жарақат» себебі болып табылатын бос радикальдардың мөлшері көбейетіні белгілі. Мырыш бос радикалдардың тотығуы кезінде ұлпаның протекторы болып табылады [8].

Мырыш гипофиздің алдыңғы бөлігіндегі хроматофильді клетка құрамында болатын гормондардың әсеріне қатысады. Мырышқа бай мүшелерден гипофиз және қуық асты безінің ұлпаларын айтуға болады. Қуық асты безінде мырыштың жетіспеушілігі простатиттің дамуына алып келеді [9]. Гипофиздің алдыңғы бөлігінде, лимфоидты ұлпаның жетілуі үрдісіне, түрлі ұлпаның өсуіне әсерін тигізетін соматотропинді гормон продуцирленеді. Сондықтан балалардың физиологиялық дамуында және иммунды биологиялық резистентіліктің жетілмей қалу аралығындағы параллелизм болады. Мырыш тек соматропин арқылы иммунитетке әсер етіп қана қоймайды. Мырыш эритроцитке қарағанда 25 есе көп ликоциттер құрамында кезедеседі. Гранулоцитте мырыш мононуклеткаларға қарғанда көп болып келеді [10-12].

IgG түріндегі антидене өнімі мырышты биотикалық мөлшерде (тәулігіне 1 кг дене массасына 0,5 мг мырыш хлориді) ұзақ енгізуде реттелінеді. Керісінше организмде мырыштың жетіспеушілігі тимус-лимфатикалық жүйенің артрофиясына, Т клетканың азаюына, сонымен қатар Т-киллердің төмендеуіне, ЕК қызметінің бұзылуына алып келеді. Параллельді тимикалық гормон концентрациясының, иммунды глобулин сары су деңгейінің азаюына әкеліп соғады. Макрофаг қызметтеріде нашарлайды. Дақылдық клеткаларға мырыштың әсері ДНҚ, РНҚ, белок синтездеріне қысым түсіреді. Сонымен қатар организмдегі мырыштың жетіспеушілігінен нейтрофильді гранулоциттердің қызметтері нашарлайды [13].

Балаларда мырышты тағамды қабылдау олардың өсу мөлшеріне байланысты. Мырыш ағзадағы гормондар синтезіне араласатын маңыздыэлемент. Жүкті әйелдің қанында мырыштың төмендеуі ауыр нефропатин формасының болуымен сипатталады (экласмпсия). Мырыштың жетіспеушілігі нәресте организмінде, сонымен қатар нерв жүйесі зақымдалған балаларда кездеседі. Мырыш мөлшерінің төмендеуі қанның сары суында және формалы элементтерінде байқалады [14]. Мырыштың алиментарлық жеткіліксіздігі, бой өсуінің шұғыл баяулауына, гепатоспленомегалияға, бойының өспеуіне, жыныстық жеткіліксіз даму жағдайына әкеп соғады. Жасушалық иммунитет бұзылады, жаралардың жазылуы баяулайды, иіс және дәм сезуі төмендейді және бұрмаланады. Жүкті әйелдерде мырыштың жеткіліксіздігі, ұрықтың және жаңа туған балалардың дамуындағы ақауларға: гидроцефалияға, микро- және анофтальмияға, таңдайы бөлінуі, жарық пайда болуына әкеп соғуы мүмкін. [15, 16].

Жоғарыда аталған мәліметтер бойынша ауыр металдардың организмде және келеткалық деңгейде токсикологиялық әсері бар деп қорытындылай аламыз. Қазіргі кезеңде биология мен медицина ғылымдарының алдында тұрған негізгі мақсат, қоршаған орта факторларының әсерінен болған организмдегі өзгерістерді алдын-алу және сол болған өзгерістерді қалпына келтіру жолдарын іздестіру болып табылады. Иммуностимулдаушы белсенділікті және табиғи биологиялық қосылыстардың скринингті тереңдете алғаш рет жүргізді. Осыған байланысты зерттеу жұмыстарымыздың негізгі мақсаты мырыш тұздарымен улану кезіндегі лимфа мен қаннның биохимиялық, клеткалық көрсеткіштерін зерттеу болып табылды.

Зерттеу әдістері мен материалдары

Зерттеу жұмыстары салмағы 230-250 г болатын 30 лабораториялық ақ егеуқұйрықтарға жүргізілді. Олар екі топқа бөлінді: 1-топ бақылау тобы (12 егеуқұйрық), 2-ші топ тәжірибелік топ (18 егеуқұйрық). Мырыш сульфатының ($ZnSO_4$) әсерін зерттеу мақсатында егеуқұйрықтарда 30

күн бойы тәулігіне 1 реттен per 20 мг/кг сумен бірге беріп отырдық. Ауыр металл тұздарымен улану кезінде жануарлардың артериялық қысымы, лимфа ағысы, лимфаның осмостық қысымы, лимфаның жалпы белогы, лимфаның құрғақ қалдағы, лимфаның тұтқырлығы, лимфаның биохимиялық көрсеткіштері зерттелді.

Қан мен лимфаның тұтқырлығын вискозиметр ВК- 4, ал ұю уақытын Сухарев бойынша анықтады. Лимфа мен қан плазмасының осмостық қысымын ОМЦК-01 осмометрінде, құрғақ қалдығын сынамаларды өлшеу жолымен анықтады. Қан плазмасындағы натрий мен калий иондарының және хлоридтердің концентрациясын Vitros ДТ 60 анализаторында ионды-сұрыптау әдісімен анықтады. Қан клеткалары гемотологиялық анализаторларда жүргізілді. Қандағы, бауыр ұлпаларындағы және лимфа түйіндеріндегі ауыр металдар иондары құрамын анықтауды СФАА S3 атомды-абсорбционды спектрофотометрді пайдаланып, эмиссионды спектрлі талдау әдісімен жүргізді.Қан плазмасы мен лимфадағы жалпы белоктің құрамын анықтау биуреттік әдіспен «Bio-Lachema-Test» жинағының көмегімен электрофотокалориметрде КФК-2 жүргізілді. Әдістің принципі белоктар сілтілі ортада екі валентті медио тұз иондарымен 520-561 нм-де фотометрленетін сия түсті кешенді қосылыс түзетіндігіне негізделген. Қан плазмасы мен лимфадағы мочевина мен креатинин құрамын «Bio-Lachema-Test (Чехия) жинағының көмегімен анықтаған. Мочевинаны унифицирленген әдіспен түсті реакция бойынша диацетилмонооксиммен, креатининді Яффе түсті реакциясы бойынша пикринді қышқылмен де анықтаған.

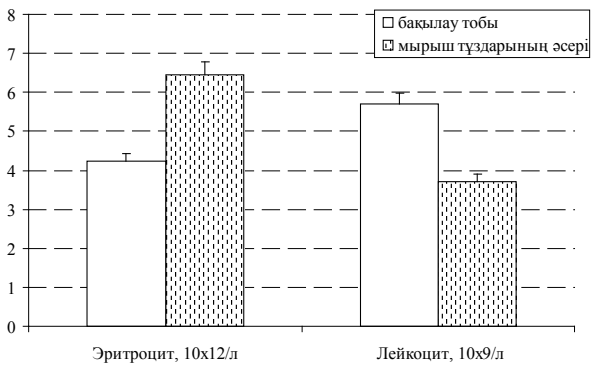
Алынған мәліметтерді Microsoft Excel компьютерлік бағдарламасын пайдаланып статистикалық өңдеп және алынған өзгерістерді – P<0,05 пен P<0,001 аралығын сәйкес деп есептедік.

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Зерттеуге өткір уландырғыш ретінде жаңа қосылыстар алынды. Ол үшін мырыш тұзары, оның ішінде мырыш сульфатының леталдық дозасын таңдауға $ЛД_{50}$ алынған. Егеуқұйрықтардың иммундық жүйесіне мырыштың әсерінен кейінгі шеткі қандағы көрсеткіштерін зерттеу. Келесі кезекте жүргізілген зерттеу жұмыстары мырыш қанның цитологиялық параметрлеріне қалай әсер ететіндігін тексеруге арналды. Әр түрлі патологиялық процестер ағымдағы орташа қан мөлшерінің өзгеруімен және қанның формалық элементтері мен плазма қатынасымен сипатталады.

Эритроциттерағзаныңинтоксикациякезіндегі жауап реакциясын жүзеге асыруға көмектесетін басты функционалды құрылымдардың бірі болып табылады. Оларда болатын өзгерістер арқылы ағзадағы гемодинамикалық ауытқулар жайлы ақпарат алуға болады. Сонымен қатар, әр түрлі әсерлерге ағза клеткаларының жауабын анықтауға мүмкіндік беретін ең қарапайым және дұрыс ақпарат беретін тест болып табылады. Бұл өз кезегінде алғашқы кезеңдерде қанда деструктивті процесстердің механизміне негізделген. Экстремалды жағдайларда эритроциттік мембраналардың зақымдану және қорғану механизмдерін білу, жасушалық деңгейде – ағзаның реттеушілік – компенсаторлық функцияларын қорғаудың бастапқы кезеңінде бұрын зерттелмеген зақымдану және ағзаны қорғау механизмдерін анықтауға мүмкіндік береді.

Организмдегі әртүрлі өзгерістері кезінде қан клеткалары өздерінің қасиеттеріне сәйкес біршама қызметтер атқарады. Біздің зерттеу жұмыстарымыздың нәтижесінде мырыш тұздарымен жедел интоксикация кезінде эритроциттер санының 33,16% (P<0,001) жоғарылағандығы анықталды (1-кесте, 1-сурет).



Белгілеулер: ординат осі бойынша: Эритроцит, $x10^{12}$/г және лейкоцит, $x10^{12}$/л алынған. Абцисс осі бойынша тәжірибеге алынған топтар: 1-бақылау тобы, 2-мырыш тұздармын уланудан кейін.

1-сурет – Бақылау тобы және мырыш сульфаты тұздарымеен уланудан кейінгі қан клеткаларының көрсеткіші

Лейкоцитарлы формуланы зерттеу нәтижесінде келесі өзгерістер анықталды. Екінші зерттеу тобындағы жануарлардың лейкоцитарлы формуласында эозинопения (эозинофилдер санының 42,18% (P<0,001)-ға төмендеуі), моноцитоз (моноциттердің 187,1%-ға (P<0,001) артуы) және аз мөлшердегі лейкопениямен сипатталатын лимфоцитопения (P<0,001) байқалды. Ол сүйек кемігінің қан түзуіне көлемі үлкейген, белсенді қызмет атқаратын көкбауырдың тежегіштік әсерімен, көкбауырлы лейкоцитопенияны тудыратын сүйек кемігінен лейкоциттер шығуының тежелуімен байланысты болуы мүмкін (1-кесте, 1-сурет). Мырыш тұздарымен улану нәтижесінде лейкоцит санының айтарлықтай 37,9%-ға төмендеуі көрініс алды.

Мырышпен жедел интоксикация кезіндегі гемоглобин концентрациясының 12,61% (P<0,05) артуы, сонымен қоса жануарлардың екінші тобындағы түс көрсеткішінің 27,75% (P<0,001) артуы ағзаның сусыздануы нәтижесінде туындаған қанның қоюлануымен байланысты болуы мүмкін салыстырмалы түрдегі эритроцитоз бен созылмалы гипоксияның дамуының көрінісі болып табылады (1-кесте).

Мырыш сульфатының тұздарымен улану кезінде ЭТЖ көрсеткіштері бақылаудан алынған көрсеткіштерден қатты ауытқымайды, ал мырыш тұздарымен жедел интоксикация кезінде ЭТЖ-ның орташа мөлшерде 32,47%-ға (P<0,001) артқандығы байқалынды.

Мырыштың гематологиялық көрсеткіштерге қалай әсер ететінің анықтауға бағытталған біздің зерттеу жұмыстарының нәтижесінде мырыш тұздарымен жедел интоксикация кезінде эритроциттер санының 1/3 –ке артқандығы анықталды. Бұл ағзаның қандағы глюкоза мөлшерінің төмендеуіне компенсаторлық реакция болуы мүмкін. Сонымен қатар, мырыш тұздарымен интоксикация кезінде нәруыздардың орташа көрсетіші төмендеуінің нәтижесінде қанның қоюлануы жүзеге асуы да мүмкін.

1-кесте – Егеуқұйрықтардың мырыш тұздарымен улану кезіндегі қан клеткаларының өзгерісі

Көрсеткіштер	Эритроцит, $x10^{12}$/л	Лейкоцит, $x10^{9}$/л	Тромбоцит, $x10^{9}$/л	Гемоглобин, г/л	Лимфоцит, %
Қалыпты жағдай	4,23±0,02	5,69±0,2	423±12	126,2±0,5	54,8±1,9
Мырыш тұздарымен улану	6,46±0,18**	3,72±0,13**	568±26*	143,9±1,3**	58,6±0,6*
Ескерту: * – бақылау тобымен салыстырған жағдайда, P<0,05, ** – P<0,01					

Мырыш тұздарымен жедел интоксикация нәтижесінде бақылаудағы егеуқұйрықтармен салыстырғанда екінші топтағы жануарлардағы лейкоцит көрсеткіші 36,97%-ға (P<0,001) төмендеді. Гемоглобин концентрациясы мен салыстырмалы эритроцитоздың жоғарылауы қанның қоюлануы мен ағзаның қандағы глюкоза мөлшерінің төмендеуіне компенсаторлық реакциямен байланысты созылмалы гипоксия дамуының көрінісі болуы мүмкін.

Лейкоцитарлы формуланың көрсеткіштерінің нәтижесінде жедел интоксикация кезінде эозинопения, моноцитоз және аздаған лейкопениямен сипатталатын лимфоцитопения орын алды. Созылмалы интоксикация кезінде де көлемі үлкейген, белсенді қызмет атқаратын көкбауырдың тежегіштік әсерімен, көкбауырлы лейкоцитопенияны тудыратын сүйек кемігінен лейкоциттер шығуының тежелуімен байланысты болуы мүмкін эозинопения байқалды. Солға қарай ығысқан нейтрофилды лейкоцитоз жедел интоксикация жайлы ақпарат береді. Эозинопения өткір зақымдлу мен стресстің дамуымен сипатталады. Салыстырмалы моноцитоз токсиканттын түсуіне иммунды жауаптың күшеюімен байланысты болуы мүмкін.

Мырыш иондары басқа да өндірістік поллютанттармен қатар (қорғасын, сынап, сурьма және т.б.) күшті әсер ететін агенттердің бірі болып танылып, соңғы кездері биология мен медицина саласындағы мамандарды өзіне назар аудартып келеді. Ғалымдар тәжірибесінде мырыш иондарымен улану кезінде қандағы гемоглобин, эритроцит көрсеткіштерінің едәуір артуы, мочевина, жалпы белок, альбумин мен трииодтиронин мөлшерінің қалыпты жағдайдан айтарлықтай ауытқу белгілерін тіркеген. Бүйрек пен бауырда патологиялық өзгерістермен қатар, осы мүшелердің жұмысын қалыпты жағдайдан ауытқытып, нашарлататындығы бірқатар деректерде көрсетілген. Лимфадағы азоттық алмасу өнімдерінің алмасу анализі бақылау тобымен

салыстырғанда кадмий тұздарымен уланудан кейін мочевина, креатинин және азот қалдығы көлемінің жоғарылағаны көрсетілді (2-кесте).

Мырыш иондарының тұздарымен уланудан кейін санаулы азоттық алмасу өнімдерінің құрамы лимфада мочевина – 36%, креатинин – 15%, азот қалдығы – 21% бақылау тобының көрсеткіштерімен салыстырғанда жоғарылаған (2-кесте).

Электорлиттік анализатор көмегімен лимфа мен қан плазмасындағы иондар алмасыуның көрсеткіштері мынандай өзгерістерді көрсетті. Тәжірибелік зерттеулерден көріп отырғанымыздай, 2-топтағы егеуқұйрықтарды мырыш тұздарынмен уландыру кезінде қан плазмасы мен лимфада натрий иондары құрамы 1-топпен салыстырғанда аздап өзгеріске түсенін байқаймыз.

2-кесте – Бақылау тобындағы және кадмий иондары тұздарымен улану кезіндегі егеуқұйрықтардың лимфасындағы азоттық алмасу өнімдері көрсеткіштерінің өзгерісі

Аталуы	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л	Азот қалдығы, мг/100мл
Бақылау	7,5±0,6	63,4±1,4	12,3±1,9
Мырыш тұздарымен улану	10,2±0,8**	72,91±3,7*	14,9±1,7**
Ескерту: * – бақылау тобымен салыстырған жағдайда, P<0,05, ** – P<0,01			

Мырыш иондары адам ағзасында әр түрлі аурулардың пайда болып және олардың қозуына басты себебін тигізеді. Егеуқұйрықтарды мырыш тұздарымен уландырудан кейін олардың лимфаларында осмостық қысым 276±7-ден 283±9 мосм/л-ге дейін (3-кесте), қан плазмасында 280±4-тен 303±5 мосм/л-ге дейін жоғарылаған. 2-топтағы егеуқұйрықтардың лимфасындағы жалпы белок мөлшері 1-топпен салыстырғанда 19%-ға, ал қан плазмасында 28%-ға төмендеген. Сондай–ақ мырыш тұздары лимфадағы, оныменен тасымалданатын ақуыздардың, лимфа түйіндерінің, бауырдың, ішек қабырғасының протеолиздік белсенділігін төмендетеді.

3-кесте – Мырыш иондарымен уландыру кезіндегі лимфа ағысы мен лимфаның көрсеткіштері

Көрсеткіштер	1-топ	2-топ
АҚ,мм сын.бағ	100±7	92±4*
Лимфа ағысы, мл/сағ	0,32±0,004	0,25±0,004*
Лимфаның осмостық қысымы, мосл/л	276±7	283±9*
Лимфаның жалпы белогы, г/л	43,2±0,3	35,3±0,4*
Лимфаның ұю жылдамдығы, сек	3,3±0,4	2,7±0,3*
Лимфаның тұтқырлығы, СП	1,7±0,04	1,2±0,02*
Ескерту: – *бақылаумен тобымен салыстырған жағдайда, P<0,05		

Егеуқұйрықтарды 30 күн бойы мырыш тұздарымен уландырудан кейін (2-топ) мойын және шажырқай лимфа түйіндерінің көлемдері ұлғайған. Шажырқай лимфа түйіндерінің мөлшерлері де 2-2,5 есе үлкейген. Олар ісінген және түйін капсулаларының үстіңгі қан тамырлары кеңейген. Ішек лимфа тамырларындағы лимфа арнасының кішіреюі байқалды, бұл бақылау кезінде 0,33±0,003 мл/сағ. құраса, уландырудан кейін, бұл көрсеткіш 0,26±0,002 мл/ сағ тең болды, артериялық қысым деңгейі бақылау тобындағы егеуқұйрықтармен салысатырғанда 7,5%- ға төмендеген. Мырыш иондары бауыр функциясын бұзады және өт қышқылдары мен өт пигменттерінің құрамын өзгертеді, оснымен қатар, оның ұлпаларға тез таралатындығы және баяу бөлініп шығатындығы байқалды. Гистохимиялық микроскопиялық зерттеулер жүргізгенде егеуқұйрықтарда тамырлар қабырғасында жүйке ұштарының деструк-

циясы және оларды қоршап жатқан ұлпаларда диффузиялануы байқалды.

Уланған жануарларда байқалған аз мөлшердегі нейтрофиллезбен сипатталатын лейкоцитоз және ядролы оңға қарай ауытқу сүйек кемігінен лейкоциттердің түзілуі мен қанға шығуының белсендірілуі нәтижесінде қантамырлардағы лейкоцит санының артуына негізделген лейкемоидті реакциямен сипатталады. Бұл топта байқалған эозинофилия ағзаның сенсибилизациясы мен аллергияның баяу формасының дамуы нәтижесінде жүзеге асуы мүмкін, салыстырмалы лимфоцитопения артып келе жатқан нейтрофилиямен байланысты болуы мүмкін. Осы топтың қанында көрініс алған моноцитоз ағзадағы иммундық процестердің күшейгендігін білдіреді.

Шамасы, мырыш тұздарымен әсер еткенде қантамырлардың нәруыз үшін өткізгіштігі артады, оны қан плазмасындағы нәруыздардың орташа мөлшерінің азаюы мен жедел интоксикация кезіндегі эритроциттердің 1/3 – ке артуын анықтау арқылы тұжырымдауға болады. Мұндай эритроциттер санының айтарлықтай артуы қанның қоюлануы нәтижесінде болуы мүмкін, яғни ол плазмадағы нәруыздар санының азаюы мен оның интерстициясының артуына байланысты. Екінші топта плазмадағы нәруыз мөлшері 32,03%.-ға төмендеді. Қан айналу жүйесіне нәруыздардың қайта өтуінің төмендеуі жайлы лимфа тамрларының жиырылу белсенділігінің төмендеуі де ақпарат береді. Осылайша, кеуде лимфа ағынының кездейсоқ жиырылу амплитудасы жедел интоксикация кезінде бәсеңдеді. Мырыш сульфаты әсері кезінде қанның иондық құрамда шөгуі зәр шығару жүйесінде ауытқулар болғанын көрсетеді. Егеуқұйрықтар мырыш иондарын қабылдағаннан кейін қан плазмасында мырыш иондарының азаюы бүйректегі калийдің реабсорбциясының бұзылуымен байланысты. Қан плазмасындағы натрий иондарының көбеюі ұлпаларда судың жиналуына және оның қан мен лимфа арналарына келіп құйылуына алып келеді. Осыдан гидремиямен тікелей байланысты тұтқырлықтың, ұю жылдамдығының, лимфа мен қан плазмасындағы белок құрамының төмендеуі байқалды.

Әдебиеттер

1 Абдрешов С.Н. Демченко Г.А. Влияние хлорида кадмия и энтеросорбента на лимфодинамику и состав лимфу // Известия НАН РК, сер. биол. и мед., - 2004. - С. 27-32.

2 Абдрешов С.Н. Экологическая физиология человека // учебное пособие. Алматы. «Экономика», - 2009. - С. 27-32.

3 Абдрешов С.Н., Сатпаева Х.К., Ахметбаева Н.А., Койбасова Л.У. Способ коррекции сдвигов в лимфатической системы при отравление тяжелыми металлами // Сб. тез. междунар. симпозиума «Физиология и патология лимфатической системы», - Алматы, -2006, - С.17-18.

4 Banner K.H., Page C. P. Immunomodulatory actions of xanthines and isoenzyme selective phosphodiesterase inhibitors // Monaldi Arch. Chest. Dis. - 1995. –Vol. 50. No 9. -P. 286–292.

5 Berger J., Ninh N.X., Khan N.C., Nhien N.V., Lien D.K., Trung N.Q., Khoi H.H. Efficacy of combined iron and zinc supplementation on micronutrient status and growth in Vietnamese infants // Eur J Clin Nutr, – 2006. – Vol. 60. No. 4, P. 443–54.

6 Wasantwisut E., Winichagoon P., Chitchumroonchokchai C., Yamborisut U., Boonpraderm A., Pongcharoen T., Sranacharoenpong K., Russameesopaphorn W. Iron and zinc supplementation improved iron and zinc status, but not physical growth, of apparently healthy, breast-fed infants in rural communities of northeast Thailand // J Nutr, – 2006. –Vol. 136. No. 9, P. 2405–2411.

7 Wieringa F.T. Combined iron and zinc supplementation in infants improved iron and zinc status, but interactions reduced efficacy in a multicountry trial in Southeast Asia // J. Nutr, – 2007. –Vol. 137. No. 2, P. 466–471.

8 Думбрава В.А., Цуркан С.И., Лупашко Ю.А., Москалу Ю.В., Гельмич Т.Э. Показателей иммуного статуса как критерий оценки экологической ситуации // Перспективные информационные технологии и проблемы управления рисками на пороге нового тысячелетия: Материалы Между.народного экологического симпозимуа. – Санкт–Петербург, 2000. – С. 243-246.

9 Мазо В.К., Гмошинский И.В., Скальный А.В. и др. Цинк в питании человека: физиологические потребности и биодоступность // Вопросы питания, 2002. –Т. 71, №3. –С. 46–51.

10 Нефедова В.В., Егорова А.Б. Мутагенез, индукция клеточной гибели и окислительного стресса при цинковой интоксикации // Гигиена и санитария, – 2002. – Т. 4, № 1.- С. 35-38.

11 Olivares M., Pizarro F., Ruz M. New insights about iron bioavailability inhibition by zinc // Nutrition, – 2007. – Vol. 23. No. 4, P. 292–295.

12 Olivares M., Pizarro F., Ruz M. Zinc inhibits nonheme iron bioavailability in humans // Biol Trace Elem Res. – 2007, – Vol.117. No. 3, P.7–14.

13 Peres J.M., Bureau F., Neuville D., Arhan P., Bougle D. Inhibition of zinc absorption by iron depends on their ratio // J Trace Elem Med Biol, – 2001. – Vol.15. No. 4, P. 237–41.

14 Rink L., Gabriel P. Zinc and the immune system // Proc Nutr Soc. – 2000. – Vol. 59. No. 4, P. 541–552.

15 Стежка В.А., Дмитруха Н.Н., Покровская Т.Н., Александров Л.Г., Андрусишина И.Н., Дудко И.А. Влияние соединении тяжелых металлов из окружающей среды на состояние иммуной системы у механизаторов сельского хозяства // Довкілля та здоров'я. – 2002. – Т.1, № 20. - С 6 –11.

16 Сидаренко Г.И., Можаев Е.А. Санитарное состояние окружающей среды и здоровья населения. / М.: Медицина, 1987- С. 128-131.

17 Синдирева А.В., Трубина Н.К. Поступление тяжелых металов в организм животных и их влияние на изменение биохимических покозателей, характеризующих функциональное состояние печени кроликов // Матер. конф. «Актуальные проблемы экологии». - Караганда, - 2002. – С. 280-282.

18 Solomons N.W., Cousins R.J. Zinc. In Solomons N.W., Rosenberg I.H. (eds). Absorption and malabsorption of mineral nutrients. // Alan R Liss. New York, – 2004. – P. 125-127.

19 Stoltzfus R.J. New evidence of iron and zinc interplay at the enterocyte and neural tissues // J. Nutr. - 2004. – Vol.134. No. 6, P. 1295–1298.

20 Тулеуханов С.Т., Бактыбаева Л.К., Свамбаев Е.А., Гумарова Л.Ж. Иммунные показатели периферической крови крыс и костного мозга мышей при интоксикации солями тяжелых металлов // IV Конгресс обогатителей стран СНГ. Московский государственный институт стали и сплавов (технологический университет) 28 – 30 марта 2007 г. Сборник материалов. Том 1, – 2007. - Т 1, № 2., С. 229–231.

21 Харкевич Д.А. Фармакология. учебник для вузов // М.:ГЭОТАР-МЕД, 2002.- С. 125–136.

22 Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение. // Иммунология. - 2003. – Т. 4, № 5., С. 196–203.

23 Хаитов Р. М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология // М.:Медицина. - 2000. – 430 с.

24 Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Исматов Х.И. Иммунные механизмы системной деятельности организма // Экологическая иммунология М.: Изд-во. ВНИРО, - 2008. – С. 219.

25 Чередеев А.И. Исследование спонтанных розеткообразюущих клеток периферической крови человека // Лаб. Дело. - 1976. – Т. 6, №3., С. 350–354.

26 Л. А. Щеплягина. Цинк в педиатрической практике // М: Медпрактика, – 2001. – 255 с.

References

1 Abdreshov S.N., Demchenko G.A. (2004) Vliyanie hlorida kadmiya I enterosorbenta na limfodinamiku I sostav limfu [Influence of cadmium chloride and enterosorbent on lymphodynamics and composition of lymph]. News of the National Academy of Sciences of Kazakhstan, ser. biol. and med., pp. 27-32.

2 Abdreshov S.N. (2009) Ecologicheskaya fiziologia cheloveka [Ecological human physiology. Tutorial]. Economy-Almaty, 224 p.

3 Abdreshov S.N., Satpayeva Kh.K., Akhmetbaeva N.A., Koibasova L.U. (2006) Sposob korreksii sdvigov v limfoticheskoi sistemi pri otravlenii tyajelimi metallami [Method of correction of changes in the lymphatic system in case of poisoning with heavy metals]. Sb. mes. international Symposium "Physiology and Pathology of the Lymphatic System" - Almaty, pp.17-18.

4 Banner K.N., Page S.P. (1995) Immunomodulatory actions of xanthines and isoenzyme selective phosphodiesterase inhibitors. Monaldi Arch. Chest. Dis. vol. 50, no. 9, pp. 286–292.

5 Berger J., Ninh N.X., Khan N.C., Nhien N.V., Lien D.K., Trung N.Q., Khoi H.H. (2006) Efficacy of combined iron and zinc supplementation on micronutrient status and growth in Vietnamese infants. Eur J Clin Nutr. vol. 60, no. 4, pp. 443–54.

6 Wasantwisut E., Winichagoon P., Chitchumroonchokchai C., Yamborisut U., Boonpraderm A., Pongcharoen T., Sranacharoenpong K., Russameesopaphorn W. (2006) Iron and zinc supplementation improved iron and zinc status, but not physical growth, of apparently healthy, breast-fed infants in rural communities of northeast Thailand. J Nutr., vol. 136, no. 9, pp. 2405–2411.

7 Wieringa F.T. (2007) Combined iron and zinc supplementation in infants improved iron and zinc status, but interactions reduced efficacy in a multicountry trial in Southeast Asia. J. Nutr., vol. 137, no. 2, pp. 466–471.

8 Dumbrava V.A., Tsurkan S.I., Lupashko Yu.A., Moskalu Yu.V., Gelmich T.E. (2000) Pokazatelei immunogo statusa kak kriterii osenki ecologicheskoi situacii [Immune status indicators as a criterion for assessing the environmental situation]. Perspective information technologies and problems of risk management on the threshold of a new millennium: Materials of the International Ecological Symposium. - St. Petersburg, pp. 243-246.

9 Mazo V.K., Gmoshinsky I.V., Skalny A.V. et al. (2002) Cink v pitanii cheloveka: fiziologicheskie potrebnosti I biodostupnost [Zinc in human nutrition: physiological needs and bioavailability]. Nutrition Issues, vol. 71, no. 3, pp. 46–51.

10 Nefedova V.V., Egorova A.B. (2002) Mutagenez, induksii kletochnoi gibeli I okislitelnogo stressa pri cinkovoi intoksikacii [Mutagenesis, induction of cell death and oxidative stress during zinc intoxication]. Hygiene and Sanitation, vol. 4, no. 1, pp. 35-38.

11 Olivares M., Pizarro F., Ruz M. (2007) New insights about iron bioavailability inhibition by zinc. Nutrition, vol. 23, no. 4, pp. 292–295.

12 Olivares M., Pizarro F., Ruz M. (2007) Zinc inhibits nonheme iron bioavailability in humans. Biol Trace Elem Res. vol.117, no. 3, pp.7–14.

13 Peres J.M., Bureau F., Neuville D., Arhan P., Bougle D. (2001) It depends on their ratio. J Trace Elem Med Biol, vol.15, no. 4, pp. 237–41.

14 Rink L., Gabriel P. (2000) Zinc and the immune system. Proc Nutr Soc. vol. 59, no. 4, pp. 541–552.

15 Stitch V.A., Dmitruha N.N., Pokrovskaya T.N., Aleksandrov L.G., Andrusishina I.N., Dudko I.A. (2002) Vliyanie soedinenie tyajelih metallov iz okruzhauchei sredi [The effect of the combination of heavy metals from the environment on the state of the immune system in agricultural machine operators]. Dovkilya ta zdorovya, vol.1, no. 20, pp. 6 –11.

16 Sidarenko G.I., Mozhaev E.A. (1987) Sanitarnoe sostoyanie okruzhauchei sredi I zdorovia naselenia [Environmental health and public health]. M:Medicine, pp.128-131.

17 Sindireva A.V., Trubina N.K. (2002) Postuplenie tyazhelih metalov v organism zhivotnih I ih vliyanie na izmenenie biohimicheskih pokazatelei, charakterizuuchih funkcionalnoe sostoyanie pecheni krolikov [The intake of heavy metals in the animal organism and their influence on the change in biochemical parameters characterizing the functional state of the rabbit liver]. Mater. conf. "Actual problems of ecology." - Karaganda, pp. 280-282.

18 Solomons N.W., Cousins R.J. Zinc In Solomons N.W., Rosenberg I.H. (2004) Absorption and malabsorption of mineral nutrients. Alan R Liss. New York. pp. 125–197.

19 Stoltzfus R.J. (2004) New evidence of iron and zinc interplay at the enterocyte and neural tissues. J. Nutr. vol.134, no. 6, pp. 1295–1298.

20 Tuleukhanov S.T., Baktybaeva L.K., Svambaev E.A., Gumarova L.Zh. (2007) Immunnie pokazateli perifiricheskie krovi kris I kostnogo mozga mishei pri intoksikacii solyami tyazhelih metallov [Immune indices of peripheral blood of rats and bone marrow of mice when intoxicated with salts of heavy metals]. IV Congress of CIS countries fortifiers. Moscow State Institute of Steel and Alloys (Technological University) March 28 - 30, 2007. Collection of materials, vol. 1, no 2., pp. 229–231.

21 Kharkevich D.A. (2002) Farmakologia uchebnik dlya vuzov [Pharmacology. textbook for universities]. M.: GEOTAR-MED, pp.125–136.

22 Khaitov R.M., Pinegin B.V. (2003) Immunomodulyatori: mehanizm deistvia I klinicheskoe primenenie [Immunomodulators: mechanism of action and clinical application]. Immunology, vol. 4, no 5., pp. 196–203.

23 Khaitov R.M., Ignatieva G.A., Sidorovich I.G. (2000) Immonologia [Immunology]. M.:Medicine, 430 P.

24 Khaitov R.M., Pinegin B.V., Ismatov H.I. (2008) [Immune mechanisms of the systemic activity of an organism]. Ecological immunology-M .: Publishing house. VNIRO, 219 P.

25 Cheredeev A.I. (1976) Issledovanie spontannih rozetkoobrazuichih kletok perifiricheskoi krovi cheloveka [Study of spontaneous rosette-forming cells of human peripheral blood]. Lab. business, vol. 6., no 3., pp. 350–354.

26 Shcheplyagina. L.A. (2001) Cink v pediatricheskih praktike [Zinc in pediatric practice]. M: Medical practice, 255 P.

МАЗМҰНЫ – СОДЕРЖАНИЕ

1-бөлім Ботаника | **Section 1 Botany** | **Раздел 1 Ботаника**

Апушев А.К., Вдовина Т.А., Сулейменов А.Н., Винокуров А.А.
Физиологическое состояние древесных и кустарниковых растений в аридных условиях предгорной зоны юго-востока Казахстана в зависимости от применяемых технологий влагообеспечения 4

Калиев Б.Ш., Ситпаева Г.Т., Иманалинова А.А., Димеева Л.А.
Характеристика ранневесенних растительных сообществ с участием редких видов в Жонгар-Алатауском национальном парке 12

Сатова К.М., Жумадина Ш.М., Абилова Ш.Б., Акшабакова Ж.Е.
Шығыс Қазақстан облысы Бесқарағай орман алқабы ағаш өсімдіктері жапырақтарының ауыр металдарды биоаккумуляциялауы 26

2-бөлім Биотехнология | **Section 2 Biotechnology** | **Раздел 2 Биотехнология**

Бражникова Е.В., Мукашева Т.Д., Игнатова Л.В.
Скрининг штаммов микромицетов, перспективных для стимуляции роста сельскохозяйственных культур 40

Кабылбекова Б.Ж., Чуканова Н.И., Турдиев Т.Т., Рымханова Н., Ковальчук И.Ю.
Оптимизация клонироавния in vitro различных генотипов яблони 48

Толекова Ш.Н., Шарманов Т.Ш., Синявский Ю.А.
Создание нового специализированного продукта на основе кобыльего молока для профилактики обменно-алиментарных нарушений 58

3-бөлім Вирусология | **Section 3 Virology** | **Раздел 3 Вирусология**

Онгарбаева Н.С., Кливлеева Н.Г., Сактаганов Н.Т., Қалқожаева М.Қ., Глебова Т.И., Лукманова Г.В., Баймухаметова А.М., Мустафин М.К., Ерденов Ш.Г., Мустафин Б.М., Оспанов Г.Х., Вебби Р.Дж.
Циркуляция вируса гриппа в популяциях свиней в различных регионах Республики Казахстан (2018 - 2019 гг.) 70

4-бөлім Есептегіш биология | **Section 4 Computational biology** | **Раздел 4 Вычислительная биология**

Мусаева А.С., Костюк Т.П., Всеволодов Э.Б.
Содержание тяжелых металлов в шерсти овец в отличающихся по степени экологического благополучия точках Алматинской области 82

5-бөлім Гистология | **Section 5 Hystology** | **Раздел 5 Гистология**

Досымбекова Р.С., Бгатова Н.П., Таскаева Ю.С., Тунгушбаева З.Б., Шарипов К.О.
Влияние карбоната лития на ультраструктурную организацию клеток гепатокарциномы-29 в динамике культивирования 96

6-бөлім Молекулалық биология және генетика | **Section 6 Molecular biology and genetics** | **Раздел 6 Молекулярная биология и генетика**

Akimniyazova A.N., Ivashchenko A.T.
Characteristics of mirna interaction with mRNA candidate genes of esophageal adenocarcinoma 106

Исабек А.У., Тайлакова Э.Т., Кожабергенов Н.С., Строчков В.М., Султанкулова К.Т., Рсалиев А.С.
Разработка ПЦР тест-системы для выявления Pyrenophora tritici-repensis 117

Станбекова Г.Э., Бейсенов Д.К., Калиева А.А., Искаков Б.К.
Экспрессия гена uidA в транспластомных растениях табака под контролем 5'-нетранслируемой последовательности геномной РНК Y-вируса картофеля 126

7-бөлім Зоология | **Section 7 Zoology** | **Раздел 7 Зоология**

Валиева Б.Г.
Инвазивные виды вредителей и болезней на юго-востоке Казахстана 138

Тарасовская Н.Е., Жумадилов Б.З.
Морфологические особенности нематод Oswaldocruzia filiformis от остромордой лягушки в северных регионах Казахстана как индикатор состояния растительного покрова.....148

8-бөлім Паразитология | **Section 8 Parazitology** | **Раздел 8 Паразитология**

Киян В.С., Смагулова А.М., Катохин А.В.
Меторхоз в Северном Казахстане: состояние изученности и распространение.....170

9-бөлім Адам және жануарлар физиологиясы | **Section 9 Human and animals physiology** | **Раздел 9 Физиология человека и животных**

Аралбаева А.Н., Маматаева А.Т., Утегалиева Р.С., Мурзахметова М.К.
Сравнительное изучение влияния тяжелых металлов на резистентность мембран эритроцитов в условиях *in vitro* 182

Әбдірешов С.Н., Атанбаева Г.Қ., Төлеуханов С.Т., Долқын М., Рагипова Ф.К., Зиядаева А.О.
Жануарлардың мырыш тұздарымен уланғаннан кейінгі қан мен лимфадағы биохимиялық өзгерістерін анықтау 192